

GUÍA DE PATOLOGÍA PULMONAR

DICIEMBRE 2018

INTRODUCCIÓN

Esta guía tiene como objetivo acercar al patólogo general a la práctica de la patología pulmonar.

Consideramos los temas que generan más dificultades en la práctica habitual, sin pretender abarcar la totalidad de las áreas que pueden ser estudiadas en la bibliografía especializada.

La guía comienza con un acercamiento a la patología intersticial, asesorando sobre cómo evaluar e informar una biopsia quirúrgica por intersticiopatía así como la evaluación y consideraciones técnicas del lavado bronquioloalveolar.

Incluimos consideraciones acerca del estudio macroscópico, intraoperatorio, informe de pieza operatoria y algoritmo diagnóstico molecular de carcinoma de pulmón no pequeñas células.

Esperemos pueda ser de utilidad para nuestros colegas.

Con mucha dedicación, Club de patología pulmonar.

Dra. Liliana Dalurzo

Dra. Nora Falcoff

Dra. Gabriela Guman

Dra. Gloria Olmedo

Dra. Claudia Poleri

Dra. Mercedes Raya

Dra. Andrea Werbach

ESTUDIO DE LAS BIOPSIAS PULMONARES

ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS EN LAS INTERSTICIOPATÍAS

Dra. Gloria Olmedo

El estudio de las biopsias pulmonares en las enfermedades del intersticio pulmonar (también llamadas difusas) es complejo, y con excepción de las intersticiopatías de etiología conocida, requiere de un estudio multidisciplinario entre clínico, imagenólogo y patólogo al que muchas veces en nuestro medio el patólogo general no tiene acceso.

Estas entidades constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades pulmonares, algunas de etiología conocida, tales como las secundarias a drogas, las neumoconiosis o las relacionadas con las colagenopatías, pero hay otro grupo de etiología desconocida o idiopáticas cuyo diagnóstico morfológico es más difícil.

Se denominan intersticiales a las enfermedades cuya lesión principal se localiza en el espacio virtual que está en la pared alveolar, entre la membrana basal y el endotelio capilar. Muchas de ellas comprometen no sólo al intersticio alveolar sino también al que rodea vasos, bronquiolos y linfáticos.

Es importante contar con los datos clínicos e imagenológicos. En el momento de evaluar estas biopsias tener en cuenta que el informe está destinado principalmente a un neumonólogo.

PROCEDIMIENTO

Si se recibe más de una muestra identificar cada una de ellas.

Las biopsias deben ser fijadas en formol. Si se realizan los cortes en el pulmón sin fijar se producen artefactos que semejan a una atelectasia.

Determinar la consistencia y observar y describir la superficie pleural.

Retirar los puntos metálicos y seccionar.

Se puede facilitar la distensión del parénquima agitando suavemente la muestra dentro del líquido fijador o inyectando formol en la superficie de corte por medio de una jeringa con aguja muy fina (como para insulina).

Cortar tacos no demasiado finos, de unos 0,3 a 0,5cm. De ser posible y de acuerdo al espesor y tamaño de la muestra es preferible hacer una sección a lo largo de la mayor dimensión. Si los cortes son mas grandes permiten observar mejor la estructura en la microscopía a pequeño aumento.

En la superficie de corte determinar de ser posible si las lesiones son focales o difusas. El examen con lupa puede ayudar.

Observar si hay nódulos, tractos blanquecinos finos o gruesos (indicadores de fibrosis) y pequeñas dilataciones bronquiolares.

TÉCNICAS DE HISTOQUÍMICA

Son muy útiles las técnicas para fibras colágenas, para fibras elásticas y en menor medida el PAS, la tinción de Perls para hierro (asbestos) y pigmento tabáquico.

Realizar polarización en busca de partículas birrefringentes

MICROSCOPIA

Cada muestra debe ser identificada en el informe y debe describirse por separado. Raramente son idénticas. Hay lesiones que predominan en un lóbulo y no en otro.

Esto es importante a fin de permitir al radiólogo correlacionar con sus imágenes.

Se deben analizar sistemáticamente y en forma ordenada los distintos compartimientos histológicos a fin de llegar a establecer un patrón histológico y arribar a un diagnóstico lo más preciso posible.

Hay tener en cuenta que todos los compartimientos del pulmón están relacionados, que puede haber patología en más de uno y que aquel que parece un pulmón con estructura normal puede tener cambios sutiles en bronquiolos y vasos.

En primer término realizar un recorrido del preparado a pequeño aumento a fin de evaluar la arquitectura. Describir si está:

- Conservada
- Modificada: con lesiones uniformes o heterogéneas.
- Determinar:
 - Si es focal o si compromete todo el lobulillo pulmonar.
 - La distribución y ubicación de las lesiones en el lobulillo pulmonar puede ser
 - Subpleural
 - Intralobulillar
 - Centrolobular
 - Septal
 - Paraseptal
 - Linfangítica
 - Si hay alternancia con parénquima preservado (ej: neumonitis intersticial usual)
 - Si hay superposición de lesiones agudas o crónicas o si las lesiones son del mismo tiempo de evolución.
 - Si hay reemplazo adiposo.
 - Si hay panalización

Una vez evaluada la arquitectura analizamos los distintos elementos histológicos:

- Intersticio alveolar
 - Edema
 - Infiltrados inflamatorios o de otro tipo
- Neumonocitos: hiperplasia, discariosis
- Fibrosis (ver más adelante)
- Focos fibroblásticos, localización

- Folículos linfoides o acúmulos linfocitarios. Distribución.
- Nódulos y depósitos: polvillos (intersticio peribroncovascular)
- Infiltrados inflamatorios
 - Localización: focal o difusa
 - Intersticio alveolar o localización centrolobular predominante
 - Tipo celular
 - Severidad
- Granulomas
 - Localización: peribronquial o intersticial
 - Características: compactos, laxos
- Exudado fibrinoso intraalveolar y nódulos de tejido fibroblásticos alveolares (cuerpos de Masson)
- Alvéolos
 - Macrófagos con o sin pigmento, vacuolados o xantomizados
 - Edema y material proteináceo (proteinosis alveolar)
 - Metaplasia bronquiolar: proliferación de epitelio cilíndrico en alveolos vecinos
 - Áreas de adenomatosis
 - Cuerpos ferruginosos, asbestos
- Bronquiolos
 - Trayecto: tortuoso, dilatado
 - Luces libres u obstruidas, contenido
 - Epitelio, metaplasia, etc.
 - Fibroblastos subepiteliales similares a focos fibroblásticos
 - Metaplasia bronquiolar
 - Fibrosis peribronquiolar
- Arterias pulmonares y venas
 - Hipertrofia muscular
 - Fibroelastosis intimal
 - Proliferación muscular subintimal
 - Vasculitis-evaluar infiltrado y tipo de vasos comprometidos
 - Trombos
 - Linfáticos: dilatación en pleura o septos. Presencia de células atípicas.
 - NOTA: no hacer diagnostico de hipertensión pulmonar. Sólo mencionar los cambios arteriales o venosos, si los hay. En las zonas de fibrosis las arterias están alteradas, pero eso no indica hipertensión pulmonar.
- Pleura: las alteraciones son importantes en las fibrosis relacionadas con enfermedades del colágeno.
 - Adherencias
 - Fibrosis
 - Reemplazo adiposo
 - Infiltrados inflamatorios
 - Granulomas

FIBROSIS PULMONAR

La fibrosis pulmonar es la vía final común de muchas enfermedades pulmonares, de tal modo que no todas las fibrosis que se biopsian corresponden a la de una neumonitis intersticial usual.

Se ha convenido en consensos internacionales (ARS, ERS) que el sustrato histológico de la fibrosis intersticial idiopática es la UIP solamente.

Si se estudian en forma sistemática todos los parámetros mencionados se podrá establecer el diagnóstico diferencial entre neumonitis intersticial de tipo usual, neumonitis intersticial inespecífica en etapa fibrótica, neumonitis por hipersensibilidad en etapa crónica y neumonitis asociada a enfermedades del colágeno (IPAF: neumonitis intersticial y fibrosis con características autoinmunes). Estas cuatro enfermedades producen imágenes en las tomografías de alta resolución a veces difíciles de diagnosticar. Es en estos casos en que se recurre a la biopsia por VATS y al diagnóstico histopatológico.

Por lo tanto, evaluar:

- La distribución de las lesiones fibróticas (como se mencionó anteriormente)
- Si es homogénea, lineal (sistematizada) y de similar evolución.
- Si reemplaza parénquima y dónde predomina
 - Periferia lobulillar
 - Centrolobular
 - Sin distribución definida
- Si se observan focos fibroblásticos
- Si coexiste con lesiones agudas o inflamatorias en el resto de parénquima
- Si hay micropanalización
- Presencia de signos de reagudización (membranas hialinas)

Nota:

Actualmente la tendencia es no realizar biopsias por VTC en los casos en que la clínica y las imágenes sean diagnósticas de fibrosis intersticial idiopática (sustrato UIP o neumonitis intersticial usual) por la alta morbilidad que producen.

Solamente se realiza en los casos en que la clínica y las imágenes no son concluyentes para neumonía intersticial usual (UIP).

Criobiopsias: actualmente se realizan con mayor frecuencia. En comparación con las biopsias transbronquiales obtenidas por pinzas, las muestras son de mayor tamaño, con mayor cantidad de alvéolos y carecen de artefacto por pinzamiento.

Tanto unas como otras son útiles en las intersticiopatías de causa conocida o enfermedades poco comunes pero con una histopatología definida, por ejemplo, la sarcoidosis. La biopsia transbronquial por fórceps es insuficiente para estudio de las neumopatías fibrosantes. La criobiopsia, al obtener mayor cantidad de tejido, podría mostrar las alteraciones heterogéneas necesarias para el diagnóstico de una neumonitis intersticial usual.

BIBLIOGRAFÍA

1. Travis WD, King TE, Bateman ED et al. ATS/ERS International Multidisciplinary Consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. General principles and recommendations. Am J Resp Crit Care Med 165:277-304, 2002.
2. Leslie K O Pathology of interstitial lung disease Clin Chest Med 25:657, 2004.
3. Larsen B, Colby T. Update for pathologists on idiopathic interstitial pneumonias. Arch Pathol Lab Med 136: 1234, 2012.
4. Smith M L. Update on pulmonary fibrosis. Not all fibrosis are created equally Arch Pathol Lab Med 140:221, 2016.
5. Churg A, Müller N .Cellular vs fibrosing interstitial pneumonias and prognosis –A practical classification of the idiopathic interstitial pneumonias and pathologically/ radiologically similar conditions. Chest 130:1566, 2006.
6. Churg A Bilawich AM and Wright J L Pathology of chronic hypersensitivity pneumonitis. What is it? What are the diagnostic criteria? Why do we care? Arch Path Lab Med doi: 10.5858/arpa.2017-0173-RA
7. Travis W, Costabel U, Hansell M et al. An Official American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: Update of the International Multidisciplinary Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias Am J Resp Crit Care Med 188:733.2013.
8. Tanaka T, Ishida K -Update on rare idiopathic interstitial pneumonias and rare histologic patterns-Arch Path Lab Med 142: 2018.- Kamonpun Ussavarungsi, MD; Ryan M. Kern, MD; Anja C. Ret al-Transbronchial Cryobiopsy in Diffuse Parenchymal Lung Disease Retrospective Analysis of 74 Cases –Chest 151:400, 2017.

LAVADO BRONQUIOLOALVEOLAR (BAL)

Dra. Gabriela Guman y Dra. Mercedes Rayá

DEFINICIÓN: es una técnica sencilla, segura, bien tolerada y que aporta mucha información clínica en el estudio de diversas enfermedades pulmonares parenquimatosas. Diversos estudios han confirmado que la celularidad hallada en el BAL traduce de forma indirecta el tipo de células existentes en el espacio alveolar y en el intersticio.

PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE BAL

Equipo para procedimiento: broncoscopio de fibra óptica

Instilar 100-300 ml de solución fisiológica a temperatura ambiente, debiéndose recuperar el 30% de volumen instilado.

Volumen óptimo: 10-20 ml

Volumen mínimo: 5 ml

Enviar el material a cultivo.

Transporte: si se va a realizar el procesamiento inmediatamente se transporta a temperatura ambiente. De lo contrario se debe transportar a 4°C (hielo o heladera) si el procesamiento se realiza de 30 a 60 minutos después de la recuperación. Se debe remitir junto con un protocolo que incluya datos filiatorios, datos clínicos, volumen instilado y volumen recuperado.

EN EL LABORATORIO DE PATOLOGÍA

Área Técnica

1. Procesar en centrífuga (1500 rpm durante 10 minutos) o citocentrífuga (1500 rpm durante 4-5 minutos).
2. Se efectúan 4 a 6 extendidos. Se colorean 1-2 con coloraciones de rutina (Giemsa, PAP, HE)
3. Según sospecha clínica y hallazgos en las coloraciones de rutina, realizar Perls, PAS, Ziehl Neelsen, mucicarmín, Grocott, Alcian blue pH 2,5. En los pacientes inmunocomprometidos siempre realizar técnicas para búsqueda de bacilos ácido alcohol resistente, hongos y otros gérmenes oportunistas.

ÁREA MICROSCOPÍA

Se utiliza para evaluar

1. Células: recuento celular diferencial
2. Elementos infecciosos
3. Partículas, elementos intracelulares y extracelulares
4. Neoplasias

1. Recuento celular diferencial

Evaluar en forma panorámica y realizar conteo de cada tipo celular (macrófagos, linfocitos, polimorfonucleares neutrófilos o eosinófilos, mastocitos) sobre área más representativa en campos de 40x. La sumatoria de cada tipo celular nos da la celularidad total, que debe contar con un mínimo de 300 a 500 células (mejor con hemocitómetro). El porcentaje de cada tipo celular se obtiene con la siguiente fórmula (por ejemplo, para macrófagos):

$$\text{total de macrófagos} \times 100 / \text{celularidad total} = \% \text{ de macrófagos}$$

Muestra limitada para evaluación (consignar en el reporte):

- La presencia de células epiteliales escamosas indica contaminación de la vía aérea superior.
- Células epiteliales cilíndricas > 5% sugiere una muestra subóptima (los resultados del recuento celular diferencial deben interpretarse con precaución).
- Muestra muy hemática.

Población celular del BAL. Valores normales:

ADULTOS NORMALES (NO FUMADORES)	RECuento CELULAR DIFERENCIAL
Macrófagos alveolares (%)	> 85%
Neutrófilos (%)	< 3%
Linfocitos (%) (CD4+/CD8+ = 0.9–2.5)	10–15%
Eosinófilos (%)	< 1%
Células ciliadas (%)*	< 1%
Células escamosas (%)*	< 1%

Utilidad Clínica

EL recuento y la fórmula celular en el BAL son útiles en la orientación hacia un tipo específico de enfermedad pulmonar difusa:

ENFERMEDADES PULMONARES INTERSTICIALES		
Enfermedades asociadas con un mayor porcentaje de tipos celulares específicos en el recuento celular diferencial		
Patrón celular linfocítico	Patrón celular eosinófilo	Patrón celular neutrofílico
> 15% de linfocitos	>1 % de eosinófilos	> 3 % de neutrófilos
Sarcoidosis Neumonía intersticial inespecífica (NSIP) Neumonitis por hipersensibilidad Neumonitis inducida por Drogas Enfermedades del tejido conectivo Neumonitis por radiación Neumonía organizativa criptogámica (COP) Trastornos linfoproliferativos	Neumonías eosinofílicas Neumonitis inducida por Drogas Trasplante de médula ósea Asma, bronquitis Síndrome de Churg-Strauss Aspergilosis broncopulmonar alérgica) Infección bacteriana, fúngica, helmíntica, Pneumocystis Enfermedad de Hodgkin	Enfermedades del tejido conectivo Fibrosis pulmonar idiopática Neumonía por aspiración Infección: bacteriana, fúngica Bronquitis Asbestosis Síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) Daño alveolar difuso (DAD)

PATRONES DE RECUENTO CELULAR DIFERENCIAL ANORMALES QUE SUGIEREN TIPOS ESPECÍFICOS DE ILD
Un recuento diferencial de linfocitos $\geq$ al 25% sugiere una enfermedad granulomatosa (sarcoidosis, neumonitis por hipersensibilidad o enfermedad crónica por berilio), neumonía intersticial celular inespecífica, reacción a drogas, neumonía intersticial linfoide, neumonía organizada criptogénica o linfoma.
CD4+ / CD8+ >4 es altamente específico para sarcoidosis en ausencia de una mayor proporción de otros tipos de células inflamatorias. Este estudio no es parte de la rutina
Un recuento diferencial de linfocitos > 50% sugiere neumonitis por hipersensibilidad o neumonía intersticial celular inespecífica.
Un recuento diferencial de neutrófilos > 50% es compatible con lesión pulmonar aguda, neumonía por aspiración o infección supurativa.
Un recuento diferencial de eosinófilos >25% es virtualmente diagnóstico de neumonía eosinofílica aguda o crónica.
Un recuento celular diferencial de mastocitos > 1%, de linfocitos > 50% y de neutrófilos > 3% es sugestivo de neumonitis aguda por hipersensibilidad.

2. Elementos infecciosos

Organismos infecciosos del tracto respiratorio bajo:

El BAL es una técnica de elección en el diagnóstico de las infecciones oportunistas del enfermo inmunodeprimido y en el diagnóstico de la neumonía bacteriana, especialmente en el enfermo con ventilación mecánica.

Realizar tinción de Grocott a fin de evaluar presencia de *Actinomyces* o *Nocardia*.

El diagnóstico de las infecciones por virus se basa en la detección citológica de cuerpos de inclusión, (citomegalovirus, herpes, etc.). El estudio de los anticuerpos monoclonales por técnica de inmunohistoquímica puede ser útil.

Para la identificación de hongos es útil la tinción con Grocott y PAS (*Aspergillus*, Mucormicosis, *Cryptococcus* –Mucicarmin-, Candidiasis etc.). Se confirman por cultivo. Tener en cuenta contaminación externa.

El BAL es muy eficaz en el diagnóstico de la infección por *Pneumocystis jirovecii* (inmunocomprometidos), microorganismo identificable con varias técnicas de tinción: Wright-Giemsa, azul de toluidina y Gomori-Grocott.

Examen directo de micobacterias (TBC, Avium, etc.) con técnica Ziehl-Nielsen.

Parásitos según epidemiología (*Strongyloides* en hiperinfección –Equinococo).

3. Partículas y otros

- Inhaladas: neumoconiosis (sílice, cuerpos ferruginosos, talco carbón, polvos mixtos, etc.). Efectuar estudio de birrefringencia con luz polarizada y técnica de hierro.
- Depósitos intracelulares (hemosiderina, lípidos).
- Un recuento de siderofagos $\geq 20\%$ sugiere hemorragia intraalveolar. Valores $\geq 50\%$ son virtualmente diagnósticos de la misma, en contexto clínico radiológico apropiado. Realizar técnica de hierro.
- La presencia de un número aumentado de células de Langerhans en el BAL, identificadas mediante tinción con anticuerpos frente CD1a, es altamente sugestiva de histiocitosis de células de Langerhans. Cuando la proporción es $> 5\%$, el diagnóstico es muy probable. Sin embargo, es frecuente encontrar entre 2-5% de células de Langerhans en el BAL. Incrementos en este rango pueden estar presentes en fumadores importantes o en personas con otras enfermedades intersticiales. Validar la inmunohistoquímica en citología previamente.
- La presencia de líquido lechoso con extendidos hipocelulares, fondo proteináceo PAS positivo y restos amorfos corresponde a Proteinosis alveolar pulmonar.

4. Células neoplásicas

- Primarias:
 - Carcinoma no células pequeñas: adenocarcinoma y carcinoma escamoso
 - Carcinoma de células pequeñas
- Metástasis

BIBLIOGRAFÍA

1. Keith C. Meyer, Ganesh Raghu and col. An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline: The Clinical Utility of Bronchoalveolar Lavage Cellular Analysis in Interstitial Lung Disease. Am J Respir Crit Care Med Vol 185, Iss. 9, pp 1004–1014, May 1, 2012
2. García Bernárdez AM, Álvarez Cuesta CC, Rivas Carmenado ME, Vallina Álvarez E, Arribas Castrillo JM. Histiocitosis pulmonar de células de Langerhans. An Med Interna (Madrid) 2006; 23: 73-76.
3. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG. WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2015
4. Deepali Jain, MD, FIAC; Sinchita Roy-Chowdhuri, MD, PhD Molecular Pathology of Lung Cancer Cytology Specimens Arch Pathol Lab Med. 2018 ;142 (3) 321-346 Doi: 10.5858 / arpa.2017-0444-RA
5. Spencer s Pathology of the Lung, 6th Ed Helton and Flieder.
6. Vandenbussche CJ, Ali S, Cowan M, Wakely P y Johnson j Atlas of Pulmonary Cytopathology with histopatologic correlations.

MACROSCOPIA DE PULMÓN

Dra. Andrea Werbach

CONDICIONES PREANALÍTICAS

Muestras de esputo: debe recolectarse durante 3 días consecutivos el primer esputo de la mañana y se debe fijar en formol al 10%.

Lavado bronquioloalveolar: la muestra se debe remitir al laboratorio inmediatamente en solución fisiológica. En caso contrario, mantener en frío (4°C en heladera).

Muestras citológicas de EBUS: remitir los extendidos fijados en alcohol 96°.

Punción aspiración con aguja fina: extendidos fijados en alcohol 96°. Si hay coágulo hemático, el mismo debe fijarse en formol buffer.

Biopsias quirúrgicas y piezas operatorias: fijar en formol buffer. Disminuir al mínimo el tiempo de isquemia fría sumergiendo la pieza inmediatamente en medio fijador.

TIPOS DE MUESTRAS

1. Biopsia transbronquial
2. Criobiopsia
3. Segmentectomía
4. Lobectomía
5. Biopsias pleurales

Biopsias transbronquiales y criobiopsias: agitarlas en formol de manera que el parénquima pulmonar quede aireado y los alvéolos no queden colapsados por la toma.

Segmentectomía por patología intersticial: pueden insuflarse con formol a través de la pleura con una jeringa (si tiene grapas) y dejar fijando 24 hs. Retirar la sutura mecánica con la tijera curva y hacer cortes perpendiculares a la misma cada 3 mm. Incluir en su totalidad.



Cortesía de la Dra Gabriela Guman

Lobectomía

1. Pesar la pieza en fresco.
2. Insuflar con formol y deje reposar 24 hs.
3. Introducir estilete por vía aérea y cortar en secciones paralelas desde el hilio a la pleura.
4. Dar vuelta la pieza y terminar de cortar desde la pleura al hilio de manera que quede como un libro.

5. Descripción

- A. Especificar el tipo de resección (neumonectomía, lobectomía, resección cuneiforme o segmentaria)
- B. Pleura: describir color y grosor. Especificar si se encuentra engrosada, si tiene retracción, fibrosis o fibrina y si está presente la pleura parietal.
- C. Bronquio: describir diámetro, luz y mucosa.
- D. Características del tumor: tamaño, localización, relación con el bronquio, hemorragia, necrosis, cavitación, extensión a la pleura, distancia al margen de resección y a la pleura.
- E. En caso de lesiones subsólidas (heterogéneas), medir el componente sólido y el área de consolidación circundante.
- F. Apariencia del pulmón no neoplásico.
- G. Número y apariencia de ganglios linfáticos

6. Muestreo

- A. Tumor: si mide hasta 3 cm incluirlo en su totalidad. Tumores mayores a 3 cm: muestrear como mínimo

Cortesía de la Dra Gabriela Guman
--

 un corte con la mayor infiltración ple
- B. Pulmón no neoplásico: incluir áreas que tengan patología.
- C. Margen bronquial de resección: corte transversal que comprenda toda la circunferencia.
- D. Ganglios linfáticos broncopulmonares

Precaución: utilizar con cuidado el cuchillo para los cortes ya que puede contaminar sectores alejados del tumor con células neoplásicas (diseminación aerógena).

Biopsias pleurales

En general se reciben fragmentos laminares. Se debe evaluar la presencia de placas blanquecinas o nódulos.

Distinguir macroscópicamente y separar fragmentos laminares elásticos, fragmentos laminares engrosados y aumentados de consistencia y fragmentos nodulares o noduloides.

Seccionar en forma perpendicular a la superficie mayor.

INFORME DE PIEZA DE RESECCIÓN QUIRÚRGICA DE CÁNCER DE PULMÓN

Dra. Claudia Polleri

El informe anatomopatológico de una pieza de resección quirúrgica de un cáncer de pulmón tiene que ser completo y preciso ya que tiene implicancias en el tratamiento y el pronóstico de cada paciente. También tiene valor epidemiológico, permite la correlación con los hallazgos de imágenes, la evaluación de diferentes técnicas quirúrgicas y respuesta a tratamientos previos a la cirugía.

Puede ser descriptivo o con el llenado de una lista de ítems preestablecidos (*checklist*) y su redacción debe ser clara y comprensible utilizando nomenclatura y clasificaciones vigentes.

Esta propuesta es a modo de guía, en base a protocolos del *College of American Pathologists* (CAP) y el *Royal College of Pathologists*, la clasificación de tumores de pulmón de la OMS de 2015 y 8ª edición de la clasificación TNM.

En primer lugar se presenta una síntesis de los contenidos requeridos en un informe de pieza de resección oncológica pulmonar y en segundo lugar los fundamentos.

Esta es solamente una guía para considerar el orden y todo lo que debe informarse, pero es preferible que en la redacción se incluyan solamente los datos correspondientes a cada caso en particular para que sea clara la lectura. Son importantes tanto los datos positivos como los negativos (por ejemplo, informar la ausencia de invasión pleural implica que se estudió y está libre, y no mencionarlo crea dudas acerca si fue evaluada).

Sería útil que se completaran estos formularios en una base de datos que generaran los informes (por ej, ACCESS o similar).

Se recomienda incluir:

- A. Datos del paciente y de la cirugía.
- B. Todos los elementos que permitan establecer la extensión de la enfermedad y establecer el pTNM.

- C. El tipo histológico tumoral y la presencia o no de lesiones *in situ* u otras lesiones pre invasivas.
- D. Factores de pronóstico histológicos asociados a mayor agresividad.
- E. Tumor residual.
- F. Estudios predictivos asociados con respuesta a tratamiento.

Detalles del Informe

DATOS DEL PACIENTE Y DEL PROCEDIMIENTO

Nombre	N° de INFORME
Fecha de nacimiento	Sexo
Nombre de cirujano	Fijador y tiempo de fijación (es recomendable)
Fecha de cirugía	Fecha de ingreso a Patología
Quimioterapia y/o radioterapia previa: si no sin datos	
Pulmón: derecho izquierdo	sin datos
Tipo de resección: cuña varias cuñas	segmentectomía lobectomía (o bi)
	resección en manguito neumonectomía otra
Otras estructuras anatómicas: si (especificar)	no

ESTUDIO MACROSCÓPICO (seleccionar los que corresponda en cada caso)

Localización del tumor:

Central/hiliar/endobronquial		
Lóbulo superior derecho	Lóbulo medio derecho	Lóbulo inferior derecho
Lóbulo superior izquierdo	Lóbulo inferior izquierdo	no se puede establecer

Compromete la carina (pT4)

Compromete el bronquio fuente (pT2)

No puede establecerse

Tamaño tumoral:

Diámetro mayor (mm):

(pT1a ≤ 10 mm; pT1b 11–20 mm; pT1c 21–30 mm; pT2a 31–40 mm; pT2b 41–50 mm; pT3 >50–70 mm; pT4 > 70 mm)

no se puede establecer

Si es adenocarcinoma se debe registrar el tamaño total y el de la parte invasora.

ESTUDIO MICROSCÓPICO

Adenocarcinoma (especificar % del patrón predominante y % de los patrones no predominantes):

Lepídico	acinar	papilar	micropapilar	sólido
----------	--------	---------	--------------	--------

Mucinoso invasor

Mínimamente invasor (diámetro mayor hasta 30 mm e invasión < 5 mm)

In situ (diámetro mayor hasta 30 mm, sin invasión)

Variantes: fetal coloide entérico

Carcinoma escamoso

Carcinoma de grandes células

Carcinoma de células pequeñas

Carcinoma neuroendocrino de grandes células

Tumor carcinoide (el recuento de mitosis y presencia o ausencia de necrosis deben estar en el informe):

típico	atípico
--------	---------

Tumores combinados (especificar)
Otros tumores (especificar)

INVASIÓN LOCAL

Invasión pleural:	no	pleura visceral (pT2)	pleura parietal/pared torácica (pT3)
	no se puede establecer		
Pericardio:	si (pT3)	no	no se puede establecer
Mediastino:	si (pT4)	no	no se puede establecer
Diafragma	si (pT4)	no	no se puede establecer
Grandes vasos	si (pT4)	no	no se puede establecer
Aurícula	si (pT4)	no	no se puede establecer

Nódulos tumorales separados

Tumores primarios sincrónicos: si no no se puede establecer
(debe describirse cada uno por separado en forma completa)

Nódulo/s satélites (metástasis intrapulmonar)

En el mismo lóbulo (pT3)	En otro lóbulo del mismo lado (pT4)
En pulmón contralateral (M1a)	

GANGLIOS LINFÁTICOS (estaciones)

Hiliares/intrapulmonares (10-14):	metástasis (N1)	libres de metástasis
	no se puede establecer	no se remitieron
Mediastinales ipsilaterales (1-9):	metástasis (N2)	libres de metástasis
	no se puede establecer	no se remitieron
Mediastinales contralaterales:	metástasis (N3)	libres de metástasis
	no se puede establecer	no se remitieron
Escalenos/supraclaviculares:	metástasis (N3)	libres de metástasis
	no se puede establecer	no se remitieron

MÁRGENES DE RESECCIÓN

Bronquial:	invasión tumoral	no	ca. in situ	no se puede establecer
Mediastinal:	invasión tumoral	no	no se puede establecer	
Vascular:	invasión tumoral	no	no se puede establecer	
Pared torácica :	invasión tumoral	no	no se puede establecer	

OTROS HALLAZGOS HISTOLÓGICOS

Embolias linfáticas (permeación linfática):	presente	ausente
Embolias vasculares (permeación vascular):	presente	ausente
Invasión vascular:	presente	ausente
Necrosis:	presente	ausente
Diseminación por espacios aéreos:	presente	ausente

RESPUESTA A TERAPIA NEOADYUVANTE

Sin datos de tratamiento previo	Hasta 10% de tumor viable	> 10% de tumor viable
Respuesta completa: sin células tumorales viables		

ESTADIFICACIÓN

pT pN pM (si corresponde, ver aclaraciones de tumores múltiples)

ESTUDIOS PREDICTIVOS ASOCIADOS CON RESPUESTA AL TRATAMIENTO

(ver su indicación en aclaraciones)

EGFR	método mutado (especificar)	wild type	no se realizó
ALK	método positivo	negativo	no se realizó
ROS-1	método positivo	negativo	no se realizó
PDL-1	anticuerpo/sistema de detección		kit
	% de células tumorales positivas		no se realizó

OTROS HALLAZGOS NO TUMORALES

Enfisema

Neumonías intersticiales

Infecciones

Hiperplasia adenomatoide atípica

Otras (especificar)

Aclaraciones

A. EXTENSIÓN DE ENFERMEDAD

(la estadificación TNM se hace en carcinomas de células pequeñas y en carcinomas No células pequeñas)

Tumor

Localización: Pulmón, lóbulo/s, segmento/s

Pleura: informar si está libre o si presenta invasión tumoral (PL0, PL1: a través de capa elástica sin alcanzar la superficie, PL2: en la superficie de la pleura visceral, PL3: invasión de la pleura parietal). Informar si se estudió con coloraciones para fibras elásticas.

Tamaño: se debe registrar el diámetro mayor con precisión y sin redondeos y es recomendable informar también las otras dos dimensiones.

En los adenocarcinomas se debe registrar el diámetro total de la parte con apariencia sólida y la de apariencia no invasora y el diámetro de la parte invasora.

Tumores múltiples: Señalar la presencia de tumores satélites o sincrónicos con la medida de los diámetros mayores y la localización de cada uno.

	SEGUNDO PRIMARIO PULMONAR	MULTIFOCAL VIDRIO ESMERILADO / LEPIDICO	TIPO NEUMÓNICO	NÓDULO SEPARADO (MTS intrapulmonar)
PATOLOGÍA	Diferente morfología por evaluación histológica exhaustiva	Adenocarcinomas con componente lepidico	Histología similar (más frecuente mucinoso invasor)	Distintas lesiones con morfología similar por evaluación histológica exhaustiva
TNM	cTNM y pTNM separados para cada lesión	T de la lesión mayor con (#m) indicando multiplicidad; una sola región N y M	* T basado en tamaño * T3 si es en un solo lóbulo * T4 o M1a si es en diferentes lóbulos ipsilaterales o contralaterales; una sola región N y M	Según su localización relativa al tumor primario: T3, T4 o M1a; una sola región N y M

Ganglios linfáticos (N)

Se debe informar cada estación descripta en los mapas anatómicos.

Para ello se debe respetar la identificación de cada grupo ganglionar enviada por cirugía, o solicitar que así sea:

1. Derechos o izquierdos: supraclaviculares
2. Derechos o izquierdos: paratraqueales altos
3. Prevasculares y retrotraqueales

4. Derechos o izquierdos: paratraqueales
5. Subaórtico o de la ventana aortopulmonar
6. Paraaórticos
7. Subcarinales
8. Derechos o izquierdos: paraesofágicos por debajo de la carina
9. Del ligamento pulmonary
10. Hiliares
11. Interlobares
12. Lobares
13. Segmentarios
14. Subsegmentarios

N0: ausencia de metástasis ganglionar

N1: metástasis en ganglios 10 a 14

N2: metástasis en ganglios 2 a 9

N3: metástasis en ganglios contralaterales

Es recomendable describir si las metástasis son extracapsulares.

De acuerdo con el número de ganglios con metástasis (uno solo o más de uno), se recomienda la siguiente nomenclatura:

METÁSTASIS EN GANGLIOS LINFÁTICOS	ESTADIFICACIÓN 8° edición
Un solo ganglio con mts en estación N1	N1a
Múltiples ganglios con mts en estaciones N1	N1b
Un solo ganglio con mts en estación N2 sin N1 (<i>skip</i> pN2)	N2a1
Un solo ganglio con mts en estación N2 con N1	N2a2
Múltiples ganglios con mts en estación N2	N2b
Estaciones contralaterales	N3

Metástasis

Dejar al médico tratante la finalización de la estadificación.

B. TIPO HISTOLÓGICO

Utilizar la clasificación vigente de tumores de pulmón de la OMS (2015) y seguir todas sus recomendaciones.

Registrar la presencia de lesiones *in situ* u otras lesiones pre invasivas.

Señalar si se utilizó inmunohistoquímica para realizar el diagnóstico, y en ese caso qué marcadores y con qué resultados.

C. FACTORES DE PRONÓSTICO

Registrar las características histopatológicas que indican mayor agresividad tumoral, pero que no cambian el estadio:

- Embolias linfáticas (permeación linfática)
- Embolias vasculares (permeación vascular)
- Invasión vascular

- Necrosis
 - Recuento de mitosis
 - Diseminación por espacios aéreos

En el caso de los adenocarcinomas, el subtipo histológico tiene valor pronóstico. Por eso es necesario describirlos y registrar el porcentaje de cada uno.

D. TUMOR RESIDUAL

En tumores centrales, consignar la distancia al margen de resección bronquial.

Informar la presencia o no de tumor en todos los márgenes de resección por confirmación microscópica: bronquial, vascular, pleura, y pared torácica.

R0: resección completa

Se clasifica pN0 si todos los ganglios linfáticos resecados son negativos, aunque no se cumpla con el número requerido. Los requeridos son seis del mediastino, incluyendo N°7, y tres hiliares u otros de la estación N1.

R1: resección incompleta microscópica

Evidencia **microscópica** de tumor residual

- En márgenes de resección
- Extensión extracapsular en los márgenes de los ganglios linfáticos
- Lavado pleural o pericárdico positivos [R1 (cy+)]

R2: resección incompleta macroscópica

Evidencia **macroscópica** de tumor residual

- En márgenes de resección
- Extensión extracapsular en los márgenes de los ganglios linfáticos resecados
- Ganglios linfáticos positivos no resecados
- Nódulos pleurales o pericárdicos

R0 (un): resección incierta

No hay evidencia macro ni microscópica de tumor residual, pero se evaluaron menos estaciones ganglionares que las recomendadas para establecer pN, o la estación ganglionar resecada o muestreada más alta es positiva.

- Si el paciente recibió tratamiento previo de quimio, radio o inmunoterapia informar los cambios histológicos asociados a respuesta (necrosis y porcentaje de células viables).

E. ESTUDIOS PREDICTIVOS ASOCIADOS CON RESPUESTA A TRATAMIENTO

La traslocación de ALK y de ROS1 y las alteraciones del gen de EGFR son marcadores de sensibilidad a drogas dirigidas a blancos moleculares que actualmente están indicadas en pacientes con adenocarcinomas en estadios avanzados. Además, la expresión de PD-L1, se encuentra asociada con mayor respuesta a la inmunoterapia (también por carga mutacional y determinación de inestabilidad microsatelital).

Todos estos estudios se realizan con técnicas de inmunohistoquímica, FISH y PCR alelo específica, o secuenciación de siguiente generación (NGS), validados técnica y clínicamente en cada uno de los casos.

No existe consenso acerca del momento de realización de estos estudios. Algunos deciden esperar a realizarlos cuando el paciente presenta progresión de la enfermedad y otros prefieren tener la información ya disponible para ese momento. En este último caso, sus resultados deben estar detallados en el informe de la pieza quirúrgica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG (Editors). WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart, 4th Edition, Volume 7. IARC, Lyon, France, 2015.
2. Nicholson et al. Eighth Edition Staging of Thoracic Malignancies. Implications for the Reporting Pathologist. Arch Pathol Lab Med; 142:645–661, 2018.
3. 8thEditionofthe *TNM Classification of Malignant Tumours*. UICC, AJCC, 2017.
4. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Primary Non-Small Cell Carcinoma, Small Cell Carcinoma, or Carcinoid Tumor of the Lung. College of American Pathologists (CAP) Lung Protocol, Version 4.0.0.2, 2017.
5. Dataset for lung cancer histopathology reports. Royal College of Pathologists, 2016.
6. Appendix B Staging of lung carcinomas (UICC TNM 8). Royal College of Pathologists, 2017.

CONSULTA INTRAOPERATORIA

Dra. Nora Lila Falcoff

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a criterios actuales preferimos utilizar el término de consulta intraoperatoria (CI), en vez de biopsia por congelación, ya que se trata de una interconsulta durante un acto quirúrgico en un tiempo acotado en la que el patólogo decidirá la técnica a implementar. Sus indicaciones están dirigidas exclusivamente a aquellas situaciones en las que el cirujano va a modificar su conducta de acuerdo a nuestro resultado (p.ej. suspender la cirugía, proseguir la cirugía ampliando la muestra o la resección, realizar un muestreo o vaciamiento ganglionar, etc.).

Las indicaciones más comunes en patología torácica son:

1. Diagnóstico
 - de lesión
 - estado de márgenes
 - estado ganglionar linfático (presencia o ausencia de compromiso metastásico)
2. Suficiencia de material

RECOMENDACIONES PREVIAS A REALIZAR EL PROCEDIMIENTO

- Conocer cuáles serán las implicancias de nuestro diagnóstico.
- Interiorizarse con el caso, con la historia clínica y con las imágenes, antecedentes, biopsias previas y demás información relevante.
- Trabajar en conjunto con el cirujano
- Buscar biopsias previas (solicitudes llenadas por clínicos o endoscopistas pueden contener datos importantes) en instituciones cuando la muestra es remitida al servicio y el patólogo no está presente en el quirófano.

TIPOS DE MUESTRA

- Biopsia por Tru-Cut
- Biopsia por VATS (videotoracoscopia)
- Pieza quirúrgica
- PAAF intraoperatoria
- Biopsia pleural
- Biopsia endoscópica
- Ganglios mediastinales

PROCEDIMIENTOS

Depende del tipo de muestra. El patólogo tiene que utilizar aquel procedimiento en el que esté mejor entrenado. Es recomendable que tenga entrenamiento y disponibilidad de recursos para poder realizar todas las técnicas y seleccionar la más apropiada para cada caso.

Recomendaciones:

- Utilizar una hoja nueva de bisturí para cada muestra, aún en el caso de muestras del mismo caso.
- Biopsia por Tru-Cut:
 - Si hay más de 1 cilindro seleccionar el que parezca no necrótico ni exclusivamente fibroso. Trabajar con 1 o 2, dependiendo del número de cilindros con los que se cuente y reservar el resto evitando que se sequen (si está sobre una superficie lisa como tapa de plástico o vidrio o de papel de aluminio colocar una gota de agua sobre cada cilindro y si está en gasa humedecerla).
 - No manipular el cilindro con pinza que lo apriete sino levantándolo con una hoja de bisturí a modo de pala.
 - Hacer impronta delicadamente, no se recomienda realizar *rolling*. Evitar presionar el cilindro para evitar la pérdida de celularidad en la muestra incluida, fijar inmediatamente en alcohol 96° y teñir con azul de toluidina o las coloraciones con las que el patólogo esté habituado.
 - Colocar el cilindro sobre un portaobjetos, teñirlo y montar ejerciendo leve presión sobre el cubreobjetos. Se puede virar con glicerina en lugar de con agua que a su vez sirve como medio de montaje.
- Biopsia por VATS
 - Medir la pieza.
 - Teñir la superficie pleural con tinta china.
 - Retirar la sutura mecánica, medir la distancia a la lesión (tener en cuenta que si el nódulo contacta con la sutura el margen es insuficiente).
 - Si hay nódulo palpable o visible en superficie pleural cortar a ese nivel con hoja de bisturí nueva de modo perpendicular a la pleura. Si no, cortar la pieza completa en forma seriada, evaluar la superficie de corte y seleccionar la superficie más representativa.
 - Hacer impronta, fijar, teñir.
 - Hacer corte histológico si dispone de crióstato o micrótomo, teñir y montar.
- Pieza quirúrgica

Además de las mismas indicaciones que para VATS:

 - **Nodulectomía:** medir 3 diámetros, distancia al margen más cercano y a la pleura
 - En el caso de un nódulo neoplásico menor o igual a 3 cm e imagen en vidrio esmerilado por tomografía computada: tratar de definir sus bordes para poder medirlo correctamente. A veces es difícil verlo y resulta útil la palpación para ayudar a distinguir el área de carcinoma *in situ* del pulmón no neoplásico.
 - Si resulta posible y en el caso de un nódulo neoplásico menor o igual a 3 cm con imagen mixta por tomografía computada (sólido y en vidrio esmerilado): intentar distinguir el área *in situ* del área infiltrante y medir ambos diámetros mayores de

manera diferenciada con el objetivo de poder clasificar correctamente MIA (carcinoma mínimamente invasor) o carcinoma invasor. Tener en cuenta que ésta es una de las situaciones de más difícil diagnóstico en el intraoperatorio.

- **Resección lobar:** además de lo previamente descrito, medir la distancia al borde de resección bronquial.
- PAAF intraoperatoria
 - Tener la precaución de contar con alcohol 96° (tener en cuenta que los quirófanos trabajan en forma habitual con alcohol 70°) y un recipiente con formol buffer para eventual coágulo
 - Tener preparados los portaobjetos con sus clips para separarlos entre sí en el frasco con fijador (alcohol 96°).
 - En lo posible, intentar que el médico que realiza el procedimiento le entregue al patólogo la jeringa y que sea el mismo patólogo quien efectúe los extendidos para asegurarse la debida fijación.
 - Colocar una gota en 1 o 2 portaobjetos y realizar los extendidos sobre los portaobjetos como frotis, fijar inmediatamente, colorear, montar.
 - Una vez que se haya podido expedir acerca del diagnóstico, reservar el resto del material para formar un coágulo y fijar en formol para inclusión en parafina.
 - Si la muestra no alcanzó para formar coágulo solicite más muestra. A veces es necesario explicar que el coágulo será necesario para posteriores técnicas de inmunohistoquímica y moleculares requeridas para tratamiento.
- Biopsia pleural
 - Generalmente obtenida por VATS para pacientes con derrame y por ello sin imagen del parénquima. La mayoría de las veces se trata de pacientes fuera de estadio quirúrgico con derrame a repetición. El objetivo en estos casos es obtener muestra para diagnóstico y si el diagnóstico intraoperatorio fuera de neoplasia en el mismo acto realizar el sellamiento pleural. El patólogo debe tener en cuenta que esa podría ser la única oportunidad para el diagnóstico ya que es muy difícil reoperar y poder diagnosticar una biopsia en una sínfisis pleural.
 - Suele ser muy útil aprovechar la oportunidad para mirar las imágenes en la pantalla de video. Es altamente recomendable trabajar junto con el cirujano y si no le resulta clara la imagen del video pedirle al cirujano que se la muestre.
 - Realizar una exhaustiva macroscopía distinguiendo los fragmentos laminares elásticos de los fragmentos laminares engrosados y aumentados de consistencia y de los nodulares o con aspecto nodular. Elegir para diagnóstico intraoperatorio, en orden de preferencia, primero nódulo y segundo lámina engrosada.
 - Si es nódulo hemiseccionarlo, improntarlo y realizar un corte.
 - Si es lámina cortar varias secciones perpendicularmente en el sector de mayor espesor y consistencia. Raspar la superficie de corte y extender en portaobjetos para citología y hacer corte para histología cuidando que no se pierda la orientación para evitar artefactos que pueden conducir a error.
- Biopsia endoscópica
 - No es una práctica habitual pero el patólogo puede ser convocado por el endoscopista para indicar suficiencia de la muestra cuando un procedimiento previo con imagen endoscópica

de lesión resultó no diagnóstico.

- Intentar estar en la sala de procedimiento para poder ver la imagen endoscópica.
 - Intentar que la muestra sea presentada en superficie no absorbente, evitar el uso de gasa seca, elegir superficies no absorbentes disponibles en el quirófano (papel de aluminio, envoltorio de hoja de bisturí o portaobjetos).
 - Improntar suavemente para citología y colocar un fragmento sobre portaobjetos, colorear, virar en lo posible con glicerina y comprimir suavemente con cubreobjetos.
 - Una vez hecho el diagnóstico, asegurarse que reste material para posteriores técnicas de inmunohistoquímica y moleculares. Solicitar más muestra si fuera necesario o ante la duda.
- Ganglios mediastinales
- Seccionar en fetas de 2 mm de espesor e improntar sus caras, siguiendo el mismo procedimiento que el protocolizado para ganglio centinela.

RECOMENDACIONES DIAGNÓSTICAS

- **Lesión no tumoral:** asegurarse de la suficiencia de la muestra, que la patología esté representada y si fuera necesario recomendar la realización de cultivo.
- **Lesión tumoral:**
 - En el caso de carcinoma, discriminar si se trata del de células pequeñas o no de células pequeñas.
 - En el caso de informar: “carcinoma no de células pequeñas” asegurarse de que la muestra sea suficiente y aclarar con una nota que se continúa estudio en diferido para tipificar.
 - En biopsias pleurales ante la presencia de una proliferación neoplásica de aspecto epitelial siempre debe tenerse en cuenta el diagnóstico diferencial entre infiltración por carcinoma y mesotelioma epitelioide. La mayoría de las veces el diagnóstico se definirá con inmunohistoquímica por lo cual es recomendable ser cauto y diagnosticar en el estudio intraoperatorio “neoplasia maligna epitelioide” y agregar una nota que informe que se continúa estudio en diferido para evaluar diagnósticos diferenciales con inmunohistoquímica. Asegurarse de que la muestra sea suficiente para inmunomarcación y aprovechar la oportunidad para conocer antecedentes oncológicos.
 - En el caso de presunción diagnóstica de lesiones tempranas (carcinoma *in situ* o mínimamente invasor) su identificación macroscópica puede ser dificultosa. Realizar el esfuerzo en identificar en la superficie de corte cambios de coloración, de brillo u opacidad, de textura y mínimos cambios de consistencia. Puede ser útil lavar la superficie de corte e iluminarla en diferentes incidencias. Solicitar la imagen de tomografía computada para poder comparar forma y tamaño.

BIBLIOGRAFÍA

1. Borczuk, Alain C. MD. Challenges of Frozen Section in Thoracic Pathology Lepidic Lesions, Limited Resections, and Margins. Arch Pathol Lab Med. 2017;141:932–939
2. [Yi-ChenYeh](#), [Jun-ichiNitadori](#), Kyuichi Kadota, Akihiko Yoshizawa, Natasha Rekhtman, Andre L. Moreira, [Camelia S. Sima](#), Valerie W. Rusch, Prasad S. Adusumilli and [William D. Travis](#). Using Frozen Section to Identify Histologic Patterns in Stage I Lung Adenocarcinoma ≤ 3 cm: Accuracy and Interobserver Agreement. [Histopathology](#). 2015 Jun; 66(7): 922–938.

ALGORITMO DIAGNÓSTICO EN CARCINOMA DE PULMÓN EN ESTADIO AVANZADO

Dra. Liliana Dalurzo

Frente al diagnóstico de cáncer de pulmón en estadio avanzado la especificidad diagnóstica que se debe tratar de obtener es mayor que frente al diagnóstico de carcinoma de pulmón en estadio temprano. En el carcinoma en estadio temprano deberemos confirmar que el origen es primitivo pulmonar y mediante estudios por imágenes y estudio histológico de las estaciones ganglionares mediastinales se deberá confirmar el estadio temprano. En estos casos el tratamiento es la resección quirúrgica independientemente del tipo histológico de carcinoma.

En el carcinoma en estadio avanzado las terapéuticas sistémicas varían de acuerdo a la subtipificación tumoral y se deben poder completar todos los estudios que permitirán la elección del tratamiento más adecuado para el paciente. Dado que el tratamiento no es quirúrgico, la mayor parte de las veces el diagnóstico se realizará sobre una muestra quirúrgica de metástasis (ganglionar, cerebral, etc.) o más frecuentemente sobre una muestra pequeña obtenida por punción o por broncoscopia de la lesión primaria o metastásica. Se debe ser muy cuidadoso en el tratamiento de estas muestra pequeñas más allá de los cuidados preanalíticos que debemos tener, que nos permitirán realizar todos los estudios necesarios. También debemos cuidar el desgaste del material recibido para poder realizar todas las técnicas necesarias.

El algoritmo de estudio a seguir en estas muestras es el siguiente:

➤ **Primer paso: diferenciar carcinoma de células pequeñas de carcinoma no de células pequeñas (CNCP).**

Para esto utilizamos características citológicas e inmunohistoquímica:

- Características citológicas de carcinoma de células pequeñas: células de pequeño tamaño, redondeadas o de contorno irregular, cromatina granular gruesa, densa, no se observa nucléolo, citoplasma *muy* escaso (casi no se ve), amoldamiento nuclear. Frecuentes cuerpos apoptóticos y necrosis.
- Inmunohistoquímica: CK AE1/AE3 u otra panqueratina, con marcación granular citoplasmática, gota paranuclear, no de membrana. Marcadores neuroendocrinos: sinaptofisina, cromogranina A y/o CD56. También se puede utilizar INSM1 (*insulinoma associated protein 1*), un marcador nuclear recientemente descrito con muy buena sensibilidad en carcinoma de células pequeñas. No es necesario utilizar TTF-1, pero si lo utilizamos hay que tener en cuenta que un alto porcentaje de casos son positivos con este marcador.

➤ **Segundo paso: si se trata de un CNCP, diferenciar adenocarcinoma de carcinoma escamoso.**

Se utilizan características citológicas y arquitecturales. Sólo si éstas no son concluyentes se utiliza inmunohistoquímica.

- **Características citológicas y arquitecturales:** deben ser claras y precisas para definir el tipo histológico adecuado dado que los tratamientos sistémicos son diferentes.
Adenocarcinoma: formación de estructuras glandulares o secreción de moco citoplasmática. Pueden estar acompañadas de formaciones papilares, micropapilares o secreción de moco extracelular.

Carcinoma escamoso: queratinización citoplasmática y/o extracelular y presencia de puentes intercelulares.

- **Inmunohistoquímica:**

Adenocarcinoma: TTF-1 y Napsina A positivos

Carcinoma escamoso: p40 (o p63) y CK 5/6 positivos

Se deben usar dos marcadores (TTF1 y p40 o p63). Si estos no son concluyentes y sólo si el material y celularidad son abundantes utilizamos dos marcadores más.

Datos a tener en cuenta:

p40 es preferible a p63 dado que es más específico. p63 con más frecuencia puede dar positivo en adenocarcinoma pero nunca en todas las células (un 30% de las células pueden ser positivas, con intensidad variable).

TTF-1: hay diferentes clones que varían en sensibilidad y especificidad. Por ejemplo, los clones SPT24 y SP141 son muy sensibles (pero pierden algo de especificidad), y 8G7G3/1 es más específico, pero menos sensible.

Una alternativa diagnóstica que se puede presentar ante un CNCP es la de un carcinoma neuroendocrino de células grandes. Se debe descartar esta posibilidad sólo si las características morfológicas (sobre todo cromáticas) hacen pensar en ese tipo de diferenciación. En estos casos se agregan al menos dos marcadores neuroendocrinos (cromogranina A y sinaptofisina, preferentemente).

➤ **Tercer paso: estudio de sensibilidad a inmunoterapia.**

1. En los casos de **carcinoma escamoso** existe la posibilidad de inmunoterapia en primera línea de tratamiento. Para determinar si el tumor será sensible a la misma se debe realizar inmunohistoquímica para PD-L1.

Inmunohistoquímica para PD-L1: existen varios anticuerpos y plataformas automatizadas con las que se puede realizar la determinación. Para tratamiento en primera línea la droga utilizada actualmente es Pembrolizumab. Fue aprobado con un *companion diagnostic* con el anticuerpo 22C3 kit de DAKO y la plataforma automática de DAKO. El informe debe referir el porcentaje de células tumorales con marcación de membrana positiva (cualquier intensidad, completa o

incompleta). Múltiples estudios han demostrado la necesidad de entrenamiento de quien interpreta el estudio antes de aplicarlo al diagnóstico de rutina.

Varios estudios comparativos han demostrado muy buena correlación entre este anticuerpo y los anticuerpos DAKO 28-8 y Ventana SP263 y del anticuerpo 22C3 de DAKO o 28-8 aplicados en la plataforma Ventana. Es de suma relevancia que si se usa un anticuerpo o plataforma alternativa estos se deben validar adecuadamente. El resultado determina la posibilidad de éxito o fracaso del tratamiento. Las normas de validación establecidas son las que corresponden a las de factores pronósticos: 20 casos positivos y 20 casos negativos. Para la utilización de Pembrolizomab en primera línea durante la validación los resultados de nuestro anticuerpo se deben comparar con el resultado de las mismas muestras testeadas con el anticuerpo 22C3 en plataforma DAKO.

2. En los casos de **adenocarcinoma** (aunque sea focal, o que al menos se haya descartado diferenciación escamosa o neuroendócrina) se debe seguir con estudios moleculares para determinar la posibilidad de recibir terapias blanco con inhibidores de tirosina quinasa. Si no es sensible a terapias blanco se debe realizar el mismo estudio de inmunohistoquímica de PD-L1 descrito en el carcinoma escamoso para determinar la sensibilidad a inmunoterapia en primera línea (con las mismas normas descriptas en el carcinoma escamoso).

Estudios moleculares para terapias blanco con inhibidores de tirosina quinasa: actualmente en la Argentina están aprobados tratamientos que hacen blanco en mutaciones del gen de EGFR, rearrreglos de los genes de ALK y ROS1 y mutaciones del gen BRAF. Para determinar la presencia de estas alteraciones moleculares se deben usar técnicas validadas para este fin:

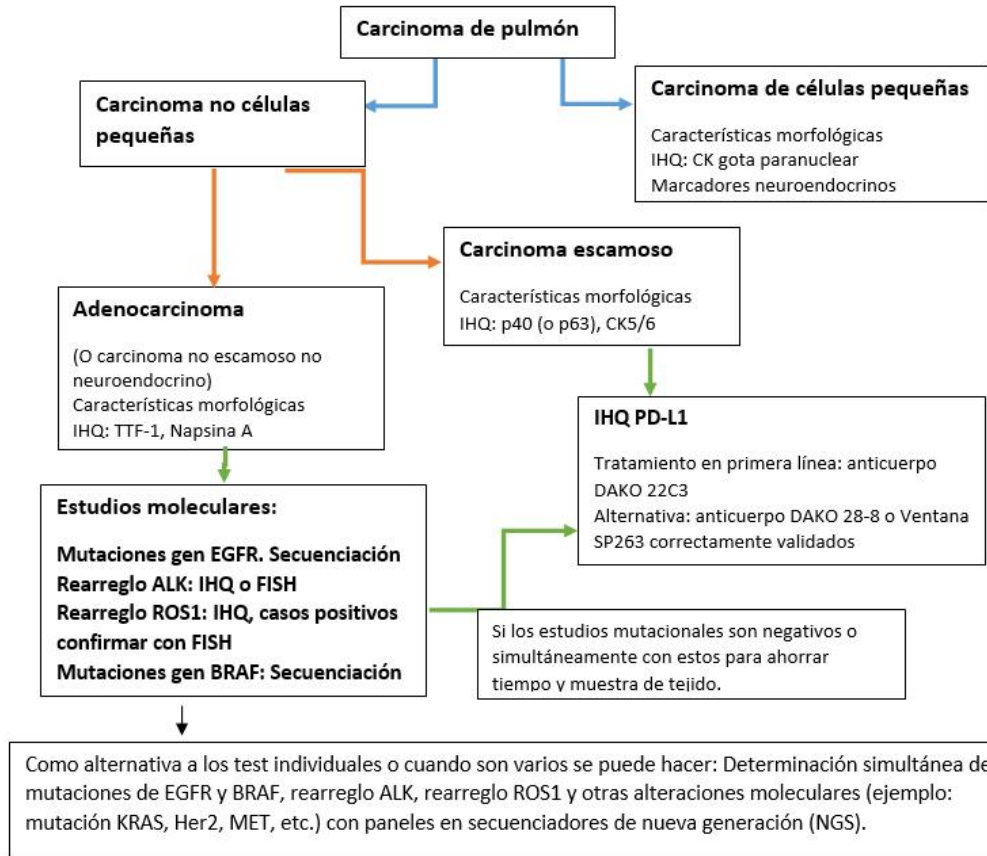
- **Mutaciones de EGFR.** Se debe utilizar una técnica que permita determinar tanto las mutaciones de sensibilidad como las de resistencia a la droga blanco. Dentro de las técnicas accesibles en nuestro país están:
 - a) Secuenciación Sanger: es un método que permite determinar todas las mutaciones existentes entre los exones 18 y 21 del gen de EGFR (que son los exones con mutaciones accionables). Requiere buena cantidad total y porcentual de células tumorales. Es más laboriosa y lleva un poco más de tiempo de análisis.
 - b) Secuenciación con técnica de PCR alelo específica: se utiliza un kit con las mutaciones más frecuentes tanto de sensibilidad como de resistencia; de estas últimas debe incluir la mutación T790M. Esta es la técnica que con más frecuencia se usa en nuestro medio. Es más sensible, requiere menor porcentaje de células tumorales, el resultado es más rápido. Existen dos plataformas: COBAS y Therascreen.
 - c) Técnica automatizada basada en qPCR (Idylla): correctamente validada es una alternativa diagnóstica rápida.
 - d) Secuenciación de nueva generación (NGS): existen algunas plataformas disponibles de NGS. En ellas se pueden usar paneles para determinar simultáneamente las alteraciones moleculares accionables más frecuentes de cáncer de pulmón (EGFR, ALK, ROS1, BRAF entre otras). Deben validarse cuidadosamente, sobre todo para la determinación de rearrreglos, dado que es más dificultosa la obtención de resultados con la utilización de ARN procedentes de muestras fijadas en formol e incluidas en parafina.

- **Rearreglo de ALK (gen de fusión de ALK).** Existen dos técnicas validadas para su uso clínico: FISH con la utilización de la sonda *break apart* de Vysis e inmunohistoquímica con el kit Ventana CDx (*companion diagnostic*) que utiliza el clon ALK D5F3 con kit de detección y amplificación Optiview. Ambos están disponibles en nuestro medio. Cada una puede utilizarse como único método de detección. Si se utilizara algunos de los anticuerpos D5F3 Cell Signaling (fuera del kit de Ventana) o el anticuerpo 5A4 (ambos con buenos resultados demostrados), estos se deben utilizar con un sistema de detección y amplificación y deben ser validados correctamente con FISH o con ALK D5F3 Ventana. El anticuerpo ALK1 utilizado en linfomas no se debe utilizar para la detección de rearreglo de ALK en cáncer de pulmón ya que ha demostrado baja sensibilidad.
- **Rearreglo de ROS1 (gen de fusión ROS1):** las guías internacionales recomiendan utilizar inmunohistoquímica para tamizaje pero todos los casos positivos se deben confirmar con FISH. El anticuerpo utilizado es el clon D4D6 Cell Signaling, correctamente validado en cualquier plataforma automática. Con respecto al FISH hay sondas *break apart* disponibles de Vysis y de ZytoVision, ambas con muy buenos resultados.
- **NGS para determinación de ALK y ROS1:** se puede utilizar en un mismo panel con el que se determina mutación de EGFR y otras mutaciones. Tener en cuenta la adecuada validación para la determinación de rearreglos (es más dificultoso obtener buenos resultados).
- **Mutaciones de gen BRAF:** las técnicas que se pueden utilizar son las mismas que mencionamos para mutaciones de EGFR. En el caso de BRAF existe un kit para la detección por PCR alelo específica que se utiliza en melanoma y detecta la mutación V600E. Tener en cuenta que como las muestras de tejido disponibles son muy pequeñas, en ocasiones y de acuerdo a la disponibilidad es preferible incluir el estudio de BRAF en un panel que incluya las mutaciones de EGFR, rearreglos de ALK y ROS1. La actualización de la guía de estudios moleculares publicada en marzo 2018 no hace recomendaciones acerca del tratamiento y testeo de BRAF por falta de publicación de evidencia suficiente, pero menciona que de incluir el estudio de BRAF es importante incluir en la búsqueda otras mutaciones además de V600E dado que en cáncer de pulmón podemos encontrar otras mutaciones en el exón 15 y en el exón 11. No se conoce con precisión el significado terapéutico de estas últimas.

Otros genes: HER2, MET, KRAS, RET, etc.: de acuerdo a las guías internacionales, cuando se busquen más alteraciones moleculares, la utilización de paneles mediante secuenciación de nueva generación (NGS) es más recomendable que la determinación de cada una de ellas por separado.

Si bien podemos utilizar técnicas de IHQ, FISH y técnicas de secuenciación en muestras citológicas para la determinación de alteraciones moleculares en cáncer de pulmón, estas deben validarse por separado de la validación en tejido, utilizando los mismos criterios de validación que se mencionaron para PD-L1. No está validada hasta la actualidad la utilización de IHQ para PD-L1 en extendidos citológicos.

Algoritmo diagnóstico en cáncer de pulmón. Carcinoma avanzado.



BIBLIOGRAFÍA

- Travis, W.D.; Brambilla, E.; Burke, A.P.; Marx, A.; Nicholson, A.G. WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart, 4th ed.; International Agency for Research on Cancer (IARC): Lyon, France, 201
- Thunnissen, E.; Allen, T.C.; Adam, J.; Aisner, D.L.; Beasley, M.B.; Borczuk, A.C.; Cagle, P.T.; Capelozzi, V.L.; Cooper, W.; Hariri, L.P.; et al. Immunohistochemistry of pulmonary biomarkers: A perspective from members of the pulmonary pathology society. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2018, 142
- Cagle, P.T.; Allen, T.C.; Bernicker, E.H.; Ge, Y.; Haque, A.; Barrios, R. Impact of recent developments in lung cancer on the practice of pathology. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2016;140:322–32
- Bishop, J.A.; Teruya-Feldstein, J.; Westra, W.H.; Pelosi, G.; Travis, W.D.; Rekhtman, N. p40 (DeltaNp63) is superior to p63 for the diagnosis of pulmonary squamous cell carcinoma. *Mod. Pathol.* 2012; 25:405–415
- Matoso, A.; Singh, K.; Jacob, R.; Greaves, W.O.; Tavares, R.; Noble, L.; Resnick, M.B.; Delellis, R.A.; Wang, L.J. Comparison of thyroid transcription factor-1 expression by 2 monoclonal antibodies in pulmonary and nonpulmonary primary tumors. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* 2010;18:142–149
- Sholl LM. The molecular Pathology of lung cancer. *Surg Pathol* 2016;9:353-378
- Linderman N et al. Lung Cancer Molecular Testing Guidelines. Update. *Arch Pathol Lab Med./ J of Thorac Oncol./ J Mol Diagn* March 2018
- IASLC Atlas of EGFR testing in lung cancer. 2017. Mok T., Carbone D. Hirsch F. [www.iaslc.org/ publications](http://www.iaslc.org/publications)
- *IASLC Atlas of ALK and ROS1 Testing in lung cancer 2016. 2nd edition.* Tsao. Hirsch, Yatabe. [www.iaslc.org/ publications](http://www.iaslc.org/publications)
- Sholl L. Molecular diagnostics of lung cancer in clinic. *Transl Lung Cancer Res* 2017; 6 (5): 560-569
- IASLC Atlas of PD-L1 testing in lung cancer. 2017. Tsao M, Kerr K., Dacic S, Yatabe Y, Hirsch F. www.iaslc.org/publications
- Adam J. et al. Multicenter French harmonization study for PD-L1 testing in non-small cell lung cancer. *Ann Oncol* 2018; Jan 16 (Epub ahead of print)
- Hirsch, F. R., McElhinny, A. & Stanforth, D. et al. PD-L1 Immunohistochemistry Assays for Lung Cancer: Results from Phase 1 of the Blueprint PD-L1 IHC Assay Comparison Project. *J Thorac Oncol.* 12, 208–222 (2017)
- Rimm, D. L., Han, G. & Taube, J. M. et al. A Prospective, Multi-institutional, Pathologist-Based Assessment of 4 Immunohistochemistry Assays for PD-L1 Expression in Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol* 3, 1051–1058 (2017).
- Principles of analytic validation of immunohistochemistry assays.
<http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/ihc-summary-of-recommendations.pdf>