

**RACCOMANDAZIONI PER LE MODALITÀ DI REFERTAZIONE
ANATOMO-PATOLOGICA PER:**

**TUMORI DEL CAVO ORALE
TUMORI DELLE GHIANDOLE SALIVARI
TUMORI DELLA LARINGE E DELL'IPOFARINGE
TUMORI DEL NASO E DEI SENI PARANASALI
TUMORI DELL'OROFARINGE
TUMORI DEL RINOFARINGE
TUMORE DEL COLONRETTO
TUMORE DEL CORPO DELL'UTERO
TUMORE DEL FEGATO
TUMORI NEUROENDOCRINI
TUMORE DELL'OVAIO
TUMORE DEL PANCREAS
TUMORE DELLA PROSTATA
TUMORE DELLO STOMACO
TUMORE DELLA VESCICA
TUMORE DELLE VIE BILIARI
MELANOMA
DISPLASIA "ESOFAGO DI BARRET"**

TUMORI DEL CAVO ORALE

Tipo di campione: - biopsia incisionale
- biopsia escissionale
- pezzo operatorio

Sede del prelievo:

Per le biopsie:

Istotipo tumorale

Grading se possibile

se vi è solo displasia, specificare se a basso (lieve-moderata) o alto grado (grave, ca in situ)

Per i pezzi operatori

Dimensioni macroscopiche del campione: 3 dimensioni

Sede della lesione:

Dimensioni macroscopiche della lesione: 2 dimensioni

Aspetto macroscopico della lesione:

Multifocalità della lesione (specificare se presente):

Altre lesioni macroscopiche:

Istotipo tumorale:

Profondità di invasione (per la lingua si raccomanda anche la misura dello spessore)

Eventuale invasione della corticale ossea, del nervo alveolare del pavimento della bocca e della cute (labbra)

Eventuale invasione della corticale ossea, della muscolatura estrinseca della lingua, del seno mascellare e della cute (cavo orale)

Invasione perineurale

Invasione vascolare (specificare se linfatica e/o ematica)

Infiammazione intra- e peritumorale: assente, lieve, moderata, intensa

Status dei margini di resezione: indenni – infiltrati – presenza di displasia o CIS – distanza dal margine più vicino se inferiore a mm 5 - specificando quale margine; eventuale distinzione tra margini inviati all'esame intraoperatorio e margini sul pezzo chirurgico definitivo

Eventuali altre lesioni:

Eventuali esiti di terapia:

Status linfonodale : n° linfonodi metastatici/n° linfonodi esaminati.

Eventuale superamento capsulare linfonodale

Eventuale suddivisione per livelli in base agli accordi con il richiedente

Staging TNM sec. UICC 2009

Grading tumorale per i carcinomi di epitelio pavimentoso (basso grado/alto grado)

Grading tumorale per il carcinoma mucoepidermoide (basso/alto grado)

Grading tumorale per le neoplasie neuroendocrine

TUMORI DELLE GHIANDOLE SALIVARI MAGGIORI

Applicare solo ai pezzi operatori

Sede:

Tipo di intervento:

Descrizione macroscopica e dimensioni:

Tipo istologico (tassativamente secondo WHO 2005)

Grading istologico (quando applicabile, es. carcinoma squamoso)

Descrizione dello stato dei margini di resezione (con misura della distanza dal margine più vicino)

Invasione vascolare (specificare se linfatica o ematica)

Invasione perineurale

Estensione a tessuti circostanti la ghiandola

Altri aspetti istologici associati

Status linfonodale : n° linfonodi metastatici/n° linfonodi esaminati.

Eventuale superamento capsulare linfonodale

Eventuale suddivisione per livelli in base agli accordi con il richiedente

Stadiazione pTNM

TUMORI DI LARINGE E IPOFARINGE

- Tipo di campione:**
- biopsia incisionale
 - biopsia escissionale
 - pezzo operatorio:
 - mucosectomia cordale
 - cordectomy
 - laringectomia sovraglottica
 - laringectomia sovracricoidea
 - emilaringectomia
 - altra resezione parziale (Mayer-Piquet, Staffieri, ecc.)
 - laringectomia totale
 - faringolaringectomia totale
 - altri (specificare)

Sede del prelievo:

Per le biopsie:

Istotipo tumorale

Grading se possibile

se vi è solo displasia, specificare se a basso (lieve-moderata) o alto grado (grave, ca in situ)

Per i pezzi operatori:

Dimensioni macroscopiche del campione: 3 dimensioni

Sede della lesione:

Dimensioni macroscopiche della lesione: 2 dimensioni

Aspetto macroscopico della lesione:

Multifocalità della lesione:

Altre lesioni macroscopiche:

Istotipo tumorale:

Grading tumorale (basso e alto grado)

Profondità di invasione:

Strutture anatomiche invase:

Invasione perineurale:

Invasione vascolare:

Infiltrazione infiammatoria peri-intratumorale: 1) presente 2) assente; se 1) specificare se lieve/media/grave

Status dei margini di resezione: indenni – infiltrati – presenza di displasia o CIS – distanza dal margine più vicino se inferiore a mm 5, specificando quale margine (questi ultimi dati sono essenziali nelle cordectomie o comunque negli interventi conservativi); eventuale distinzione tra margini inviati all'esame intraoperatorio e margini sul pezzo chirurgico definitivo

Eventuali altre lesioni:

Eventuali esiti di terapia:

Status linfonodale (raccomandabile la distinzione in livelli eseguita direttamente dal chirurgo): n° linfonodi metastatici/n° linfonodi esaminati.

Eventuale superamento capsulare linfonodale

Staging TNM sec. UICC 2009

TUMORI DEL NASO/SENI PARANASALI

Tipo di campione: - biopsia incisionale
- biopsia escissionale
- pezzo operatorio

Sede del prelievo:

Per le biopsie:

Tipo istologico:

Grading: (solo per i ca. squamosi, gli adenocarcinomi intestinal- e non intestinal-type e le neoplasie neuroendocrine)

Per i pezzi operatori

Tipo di intervento:

Dimensioni macroscopiche del campione maggiore: 3 dimensioni

Sede della lesione (da notizie cliniche):

Istotipo tumorale (secondo WHO 2005)

Profondità di invasione:

Eventuale invasione ossea e di strutture attigue secondo quanto specificato per stadiazione in TNM 2009:

Invasione perineurale:

Invasione vascolare:

Status dei margini di resezione: indenni – infiltrati – distanza dal margine più vicino se inferiore a mm 5 (si raccomanda l'individuazione dei margini collegialmente con i chirurghi)

Eventuali altre lesioni:

Eventuali esiti di terapia:

Status linfonodale : n° linfonodi metastatici/n° linfonodi esaminati.

Eventuale superamento capsulare linfonodale

Eventuale suddivisione per livelli in base agli accordi con il richiedente

Staging TNM sec. UICC 2009

Grading tumorale per i carcinomi di epitelio pavimentoso (basso/alto grado)

Grading tumorale per gli adenocarcinomi (basso/alto grado)

Grading tumorale per il carcinoma mucoepidermoide di ghiandole salivari minori (basso e alto grado)

Grading tumorale per le neoplasie neuroendocrine

TUMORI DELL'OROFARINGE

(INCLUSO IL MELANOMA; ESCLUSI LINFOMI E SARCOMI)

Tipo di campione: - biopsia incisionale
- biopsia escissionale
- pezzo operatorio

Sede del prelievo:

Per le biopsie:

Istotipo tumorale:

Grading se possibile:

se vi è solo displasia, specificare se a basso (lieve-moderata) o alto grado (grave, ca in situ)

p16: sarebbe raccomandabile la valutazione immunoistochimica nei carcinomi squamosi e nelle displasie

Per i pezzi operatori

Tipo di intervento:

Dimensioni macroscopiche del campione: 3 dimensioni

Sede della lesione:

Dimensioni macroscopiche della lesione: 3 dimensioni

Aspetto macroscopico della lesione:

Multifocalità della lesione:

Altre lesioni macroscopiche:

Istotipo tumorale (secondo WHO 2005):

Profondità di invasione

p16: valutazione immunoistochimica se non già fatta sulla biopsia

Invasione perineurale:

Invasione vascolare:

Infiammazione intra- e peritumorale: assente, lieve, moderata, intensa

Status dei margini di resezione: indenni – infiltrati – presenza di displasia o CIS – distanza dal margine più vicino se inferiore a mm 5 - specificando quale margine; eventuale distinzione tra margini inviati all'esame intraoperatorio e margini sul pezzo chirurgico definitivo

Eventuali altre lesioni:

Eventuali esiti di terapia:

Status linfonodale: n° linfonodi metastatici/n° linfonodi esaminati.

Eventuale superamento capsulare linfonodale

Eventuale suddivisione per livelli in base agli accordi con il richiedente (da concordare con i chirurghi l'invio dei linfonodi in livelli già separati)

Staging TNM sec. UICC 2009

Grading (basso grado se G1 o G2 – alto grado se G3 o G4)

Grading tumorale per il carcinoma mucoepidermoide di ghiandole salivari minori (basso o alto grado)

Grading tumorale per le neoplasie neuroendocrine

TUMORI DEL RINOFARINGE

Tipo di campione: - biopsia incisionale
- biopsia escissionale
- pezzo operatorio

Sede del prelievo:

Per le biopsie:

Tipo istologico: è importante utilizzare la classificazione WHO

Grading: (anche per gli adenocarcinomi e le neoplasie neuroendocrine)

Per i pezzi operatori

Tipo di intervento:

Dimensioni macroscopiche del campione maggiore:

Istotipo tumorale: come sopra

Grading istologico:

Profondità di invasione: se valutabile

Eventuale invasione ossea e di strutture attigue:

Invasione perineurale:

Invasione vascolare:

Status linfonodale : n° linfonodi metastatici/n° linfonodi esaminati.

Eventuale superamento capsulare linfonodale:

Eventuale suddivisione per livelli in base agli accordi con il richiedente:

Staging TNM sec. UICC 2009 se applicabile

TUMORE COLORETTALE

- Reperti Chirurgici CRC Avanzato (pT2-pT4).

La refertazione anatomopatologica dei reperti chirurgici di carcinoma colo rettale (CRC) è di fondamentale importanza per determinare la prognosi e pianificare il trattamento del singolo paziente. Inoltre, vi è un ruolo emergente nella identificazione dei tumori ereditari e nella elegibilità a specifici tipi di terapia.

A seguire i parametri patologici irrinunciabili nel referto: siccome vi è chiara evidenza che l'uso di checklists migliora significativamente lo standard di refertazione del CRC, il loro utilizzo è fortemente raccomandato, come già indicato nel PDTA regionale del carcinoma coloretale attualmente in uso (In allegato).

Istotipo. I tipi istologici dovrebbero essere valutati secondo la Classificazione WHO 2010 come segue:

Adenocarcinoma

Adenocarcinoma Mucinoso (>50% della lesione)

Adenocarcinoma a Cellule ad Anello con Castone (>50% delle cellule)

Carcinoma a Cellule Squamose

Carcinoma Adenosquamoso

Carcinoma Midollare

Adenocarcinoma Serrato

Adenocarcinoma cribriforme, tipo comedonico

Adenocarcinoma Micropapillare

Carcinoma Indifferenziato

Carcinoma a cellule Fusate

Grado di Differenziazione. Sebbene diversi sistemi di grading siano applicabili (ben differenziato, moderatamente differenziato, scarsamente differenziato, indifferenziato; grado 1-4) è raccomandabile la distinzione bicategoriale in “Basso” (ben e moderatamente differenziato) ed “alto” (scarsamente differenziato, indifferenziato) grado.

Il grading dovrebbe essere basato sulla valutazione dell'area peggiorativa, indipendentemente dalla sua estensione, escludendo dalla valutazione il margine di avanzamento tumorale.

Il grading si applica esclusivamente per gli istotipi Adenocarcinoma NAS e mucinoso, essendo le altre varianti morfologiche associate ad un loro specifico comportamento prognostico, correttamente precisabile soprattutto se associato alla determinazione dello stato di instabilità micro satellitare (Carcinoma midollare).

Profondità di invasione e stadiazione. La profondità di invasione è valutata come componente pT del sistema TNM e come misura in mm del superamento del bordo esterno della tonaca muscolare propria nel caso di infiltrazione sottosierosa (come già indicato nel PDTA regionale del carcinoma coloretale).

La classificazione TNM include in pTis sia il carcinoma in situ che quello intramucoso: siccome entrambe queste lesioni non hanno potenziale metastatico, è preferibile evitare sia il termine carcinoma che la stadiazione pTis, ed includerle sotto la dizione di neoplasia mucosa oppure di displasia di alto grado, eventualmente precisando la loro categorizzazione secondo la Classificazione di Vienna rivisitata.

Stante le significative differenze tra le varie edizioni del TNM, che possono determinare la migrazione di stadio di una lesione, è mandatorio che l'edizione a cui si fa riferimento venga indicata nel referto: a fini pratici, è tuttavia auspicabile l'adozione della versione più aggiornata (7^)

Margini di Resezione. Devono essere valutati i margini di resezione prossimale, distale, circonfenziale, mesocolico, tenendo conto che:

- **i margini distale e prossimale** sono eccezionalmente interessati quando il bordo tumorale giunga a più di 2 cm, a meno che il carcinoma non sia scarsamente differenziato
- **il margine radiale** (circonferenziale) è il fattore predittivo di ricorrenza più efficace nel carcinoma rettale ed è considerato positivo se tessuto tumorale (anche in forma di emboli intravascolari, metastasi linfonodali, depositi secondari) è ad 1mm o meno dalla superficie non peritonealizzata. Deve essere valutato macro- (completo, quasi completo, incompleto) e microscopicamente (e categorizzato in R1 / R2 se interessato) anche per i segmenti colici incompletamente peritonealizzati: cieco, colon ascendente e discendente. Per la corretta valutazione, la sezione del reperto deve avvenire secondo tagli paralleli e trasversali, condotti ortogonalmente al maggior asse del segmento intestinale attraverso la superficie non peritonealizzata e previamente inchiostrata. E' previsto un campionamento limitato alle aree macroscopicamente sospette della superficie non peritonealizzata ed a quelle (generalmente coincidenti con le prime) di maggiore prossimità del tessuto neoplastico ad essa.

Linfonodi Regionali. Vengono riportati il numero di linfonodi metastatici ed il numero totale di linfonodi esaminati. L'esame istologico di un reperto di linfadenectomia comprende, consuetamente, almeno 12 linfonodi: se i linfonodi sono negativi, anche se < 12, il tumore viene classificato N0.

Il numero medio di linfonodi reperiti in una serie di dissezioni è considerato, ed utilizzato, come indicatore di qualità del trattamento del CRC e dovrebbe essere compreso tra 12 e 15, escludendo i reperti da pazienti trattati con terapia neoadiuvante.

Allo stato attuale delle conoscenze non vi sono evidenze per considerare e categorizzare e separatamente micrometastasi (pN+) ed ITC (pN-) nel CRC: la loro esplicitazione nel referto è pertanto opzionale.

Invasione Vascolare. Deve essere segnalato nel referto istopatologico il rilievo di invasione linfovascolare intramurale ed è obbligatorio il riconoscimento dell'invasione dei grossi vasi venosi extramurali.

“Budding” Tumorale. Può essere riportato come negativo/positivo o Basso/alto grado fino a quando non verrà identificato un metodo elettivo di valutazione. Il metodo impiegato deve comunque essere specificato.

Fattori Istologici Prognostici Aggiuntivi. Invasione perineurale, pattern di crescita, infiltrazione linfocitaria al bordo di avanzamento tumorale, TIL, reazione tipo Crohn e superamento della lamina elastica peritoneale (ELI) non sono comunemente impiegati in ambito clinico o in corso di validazione: la loro esplicitazione nel referto è pertanto opzionale.

Risposta alla terapia neoadiuvante. La chemio- e la radioterapia preoperatoria per il cancro del retto inducono regressione tumorale e downstaging del tumore. Quest'ultimo viene descritto utilizzando il prefisso y del sistema TNM considerando le cellule tumorali con caratteri morfologici orientativi per il loro stato vitale ed i casi con Regressione Patologica Completa sono identificati da ypT0.

Numerosi sistemi sono stati adottati per graduare la regressione tumorale: tra questi il metodo di Mandard pare quello più frequentemente utilizzato. Tuttavia il sistema proposto dal Royal College of Pathologists è raccomandato da Associazioni Nazionali ed Internazionali in quanto semplifica in tre livelli (no cellule tumorali residue, minimi residui tumorali, non significativa regressione) la valutazione della regressione, aumentandone la riproducibilità.

Riportare comunque nel referto il sistema di gradazione utilizzato.

Stato del “DNA mismatch repair”

Numerosi studi indicano una eccellente correlazione tra i risultati ottenuti mediante la valutazione immunoistochimica delle proteine del mismatch repair e l'analisi genetica dei microsatelliti al fine di identificare i casi di carcinoma coloretale con instabilità microsatellitare (MSI): solo casi eccezionali di mutazione non senso del gene MLH1 determinano la sintesi di proteina funzionalmente inattiva ma con preservata antigenicità.

E' raccomandabile effettuare il test MSI (per i Centri in cui è disponibile) o l'immunoistochimica delle proteine *hMSH2*, *hMLH1*, *hMSH6*, *hPMS2* sul tessuto tumorale dei pazienti selezionati per alto rischio di Sindrome di Lynch (HNPCC) secondo i criteri delle linee guida di Bethesda che, oltre a criteri anamnestici di competenza clinica, includono anche la presenza di CRC in pazienti di età inferiore ai 60 anni ma con istologia tipica di alto grado di instabilità microsatellitare (istotipo mucinoso, colon destro, reazione tipo Crohn....).

Sebbene vi siano evidenze di più alte percentuali di sopravvivenza per i CRC in stadio II e III con MSI di alto grado e che gli stessi non traggano beneficio dalle chemioterapie adiuvanti basate su 5-fluorouracile, la determinazione dello stato MSI a fini prognostici e predittivi non è ancora compiutamente validata e non è utilizzata nella corrente pratica clinica.

- Reperti Endoscopici CRC iniziale (pT1)

Tutte le lesioni neoplastiche superficiali, polipoidi e non, in cui si identifichi, inequivocabilmente, l'invasione neoplastica della sottomucosa. Il carcinoma intramucoso si comporta come un adenoma benigno, non ha potenziale metastatico e per tale ragione lesioni con carcinoma in situ o intramucoso sono classificabili come displasia, neoplasia mucosa o intramucosa di alto grado (Categorie 4.2-4.4 secondo la Classificazione di Vienna).

Per gli adenomi cancerizzati (pT1, polipi maligni) devono essere ricercati e refertati i parametri istologici predittivi del loro potenziale metastatico (linfonodale ed ematogeno: grado istologico del carcinoma, G1-G4 o basso vs alto grado); invasione vascolare, assenza, presenza, non definibile; interessamento del piano di exeresi: < 1mm dal piano di exeresi, presenza di carcinoma nella banda di diatermocoagulazione o entro un campo ad alto ingrandimento da essa; budding tumorale, specificando il metodo usato (suggeribile il metodo di Ueno, Gastroenterology 2004); profondità (> o < di 2mm) e ampiezza (> o < di 4mm) della invasione carcinomatosa della sottomucosa.

Sono in corso di validazione, e pertanto non ancora trasferibili alla pratica clinica, i dati relativi alla minima profondità di invasione sottomucosa priva di potenziale metastatico (c.d. *NO Threshold*)

La presenza di tessuto adenomatoso in corrispondenza del piano di exeresi dovrebbe comunque essere segnalata, indipendentemente dalla diffusione del carcinoma, come indicatore di rischio di ricorrenza e di ulteriore trattamento endoscopico.

- Biopsie Endoscopiche

La limitatezza dimensionale del prelievo biotico e la sua superficialità non consentono sempre la conferma istopatologica di carcinoma invasivo per lesioni che, sia endoscopicamente che come imaging, soddisfano tutti caratteri del CRC avanzato. Rilevante soprattutto per i pazienti da sottoporre a terapia neoadiuvante per carcinoma rettale, la diagnosi istopatologica di adenocarcinoma invasivo che è refertabile quando si evidenzia chiara infiltrazione stromale da parte di cellule singole o in piccoli gruppi o in forma di ghiandole molto irregolari. Istotipi inusuali (cellule a castone, endocrino...) predittivi di storie naturali e risposte terapeutiche diversificate rispetto al tradizionale istotipo intestinale dovranno essere specificati.

Stante la scarsa corrispondenza della valutazione del grado di differenziazione nella biopsia endoscopica e nel reperto chirurgico non esistono oggettive indicazioni alla esplicitazione del grado nel referto relativo alla biopsia.

TUMORE DELL'ENDOMETRIO

L'adenocarcinoma dell'endometrio è la seconda neoplasia più comune del tratto genitale femminile, e comprende gruppi di neoplasie biologicamente ed istologicamente differenti.

Neoplasie estrogeno dipendenti (tipo 1), di basso grado associate ad iperplasia spesso atipica in pazienti con fattori di rischio (obesità, diabete, terapia con tamoxifene).

Neoplasie non estrogeno dipendente (tipo 2), compaiono in età più avanzata, insorgono su endometrio atrofico, spesso di alto grado associate ad istotipi come carcinoma sieroso o carcinoma a cellule chiare. Sono caratterizzate da un comportamento più aggressivo.

Le modalità di presentazione della neoplasia endometriale possono essere rappresentate da un sanguinamento anomalo in menopausa AUB (5-15% carcinoma e polipi), dall'aumento di spessore della rima endometriale riscontrata in corso di ecografia (cut off 4 mm) o dal riscontro di anomalie di cellule ghiandolari AGUS in citologia cervicovaginale.

La diagnosi iniziale viene fatta con il campionamento di tessuto endometriale prelevato mediante curettage o biopsie.

ITER DIAGNOSTICO

Biopsia endometriale-modalità di prelievo

La caratterizzazione istologica da biopsia endometriale (con o senza curettage endocervicale) dovrebbe essere sufficiente per pianificare il trattamento definitivo. Tasso di falso negativo 10%.

- *Curettage* (anestesia generale con dilatazione del collo). Complicanze 1-2%, falsi negativi 10-20%
- *Minicurettage "VABRA" o biopsia endometriale con Pipelle* (problema superficie di campionamento 41% vabra, 4% per Pipelle). Diagnosi di carcinoma 80%, falsi negativi 15% dovuto alla focalità delle lesioni
- *Isteroscopia* (senza anestesia e dilatazione del collo, < complicanze): visualizzazione cavità uterina e la descrizione delle lesioni. Prelievi mirati.

Isteroscopia consente la valutazione della cavità endometriale in tutte le parti, delle pareti e degli osti tubarici. La sede delle eventuali formazioni (anteriore, posteriore) la focalità ed estensione, la distanza dal canale cervicale (falsi negativi dell'interessamento cervicale 7,9%).

La metodica combinata: isteroscopia con biopsia endometriale permette una visualizzazione diretta della cavità endometriale e prelievi mirati.

Non è applicabile come esame di screening di massa, è operatore dipendente con costi elevati ed è applicabile a pazienti selezionate (sanguinamento uterino anomalo, alterazioni della rima endometriale, citologia endometriale positiva e sospetta).

Nel sospetto di neoplasia il campionamento deve essere effettuato su tutta la cavità con prelievi da collo e corpo separati, il prelievo deve comprendere le porzioni basali e i corni tubarici (sede prediletta di carcinomi e polipi).

La biopsia guidata successiva a isteroscopia diagnostica permette di ottenere una quantità di tessuto sufficiente per una diagnosi istologica.

Malgrado alcuni studi riportino una "detection rate" per il carcinoma endometriale variabile dal 86% per il Vabra ed il 97% del Pipelle la problematica di queste metodiche resta la superficie di campionamento. Accuratezza (curettage frazionato - biopsia mirata / reperto chirurgico) 74% curettage e 92% isteroscopia con biopsia.

Sensibilità e specificità (67% e 77% rispettivamente per curettage e 90 e 92% per l'isteroscopia (13,19).

Biopsie endometriale con isteroscopia resettoscopica: multiple resezioni sotto guida isteroscopia, spessore 5 mm, mirate, con alta rappresentatività del campione cavitario per migliorare

l'accuratezza nella valutazione del istotipo e del grading preoperatorio (concordanza dei report finali

del 95 %). Non consente una valutazione dell'invasione miometriale (4)

Materiale diagnostico

La finalità della biopsia-curettaggio endometriale è l'inquadramento diagnostico .

Il materiale deve essere prelevato in quantità adeguata ed è rappresentato da frustoli o frammenti di alcuni mm che vengono fissati in formalina al 4%. Deve essere inviato **tutto** al laboratorio che processerà **tutto** il materiale.

I prelievi se multipli, inviati in contenitori separati, sono descritti e processati singolarmente.

Il referto istologico in presenza di materiale rappresentativo deve riportare:

- Eventuale valutazione fasi maturative (non richiesta in caso di patologia neoplastica)
- Metaplasia ciliata, ossifila, a cellule chiare
- Endometrio atrofico
- Endometrio iperplastico / neoplastico
- Mucosa del canale cervicale
- Valutazione lesioni intramurali (sottomucose, miometriali, dello stroma endometriale)
- presenza di epitelio ghiandolare endocervicale
- Problematiche da contaminazione da sangue e muco (curettaggio)

In caso di **iperplasia** i criteri morfologici sono codificati sec.WHO 1994 (15)

Iperplasia (tipica)

- semplice senza atipia
- complessa senza atipia (adenomatosa)

Iperplasia atipica

- Iperplasia semplice atipica (infrequente)
- Iperplasia complessa atipica (adenomatosa con atipia)

La frammentazione e gli artefatti possono limitare i giudizio e vanno riportati nell'esame istologici.

L'accuratezza della diagnosi dipende dall'adeguatezza del campione e dei passaggi tecnici.

Il patologo deve correlare la diagnosi con il quadro clinico endoscopico.

La diagnosi deve essere formulata seguendo i criteri WHO 2002 (18)

Immunohistochimica

La diagnosi istologica rimane essenzialmente morfologica ma l'utilizzo di metodiche immunohistochimiche con marcatori come P-53 e WT1 possono rivelarsi utili nel discriminare il carcinoma sieroso di tipo 2 rispetto alla variante papillare del carcinoma endometrioide o lesioni benigne come metaplasia superficiale quando mimano una citologia di tipo sieroso.(1)

Conclusioni

In condizioni ottimali il carcinoma può essere diagnosticato con ogni metodica e per lo più in modo agevole. Il tasso di falsi negativi è intorno al 10%.

In caso di biopsia negativa e persistenza della sintomatologia è consigliabile la ripetizione del prelievo con dilatazione e curettaggio in anestesia.

L'isteroscopia può essere utile nel valutare l'endometrio, come nel caso di polipo, specie nelle pazienti con sanguinamenti recorrenti.

La diagnosi di iperplasia comporta un fattore di rischio di sviluppare neoplasia che varia dall'1-2% nell'iperplasia semplice o complessa senza atipie all'11-23% dell'iperplasia atipica (follow up)(18).

Identificare neoplasie di alto grado permette di pianificare in corso di isteroannessiectomia una successiva linfadenectomia.

Per quanto riguarda la concordanza grado tra biopsia endometriale ed isterectomia concordanza è bassa per G1 del 45%, 63,3% per grado 2 e significativamente migliore per i G3 (75,6% circa).

L'accuratezza è indipendente dal dispositivo usato per il campionamento, età della paziente ed intervallo tra biopsia ed intervento chirurgico (12), Grading preoperatorio (da biopsia o curettage è sottostimato nel 15-20% dei casi (14).

WANG concordanza bassa, sottostima da G1-G2 40%, specificità e valore predittivo per G3 90,7% e 89,9%. (17)

Rischio di disseminazione endoperitoneale transtubarica durante l'isteroscopia è assente quando l'isteroscopia viene effettuata mantenendo una pressione intrauterina < 40 mm di Hg. (5).

Valutazione intraoperatoria del pezzo chirurgico

L'accurata distinzione preoperatoria tra gli stadi Ia e Ib permette di selezionare pazienti a rischio che necessitano di trattamento linfadenectomia e trattamento radicale.

L'esame intraoperatorio consente :

- Valutazione invasione miometrio macro-microscopica –misurazione con indicazione alla linfadenectomia lomboaortica se invasione interessa la metà esterna del miometrio
- Valutazione macroscopica cavità con diametro-estensione della neoplasia
- Valutazione dell'interessamento cervicale
- Controllo del grading (specie se di alto grado)

Definizione del rischio di coinvolgimento linfonodale sulla base dell'infiltrazione miometrio (invasione Miometrio <50% N +: 2-9%, basso rischio; invasione M >50% N +: 17-40% alto rischio) Accuratezza infiltrazione miometrio su sezioni criostatiche: 85-88% (7, 9).

La valutazione della estensione miometriale è più accurata nelle lesioni piccole < 2cm e nelle neoplasie G1 (93%) per scendere al 80,4 % per i G2 e 58,6% nei casi G3.

L'accuratezza aumenta con l'uso combinato di una valutazione macroscopica e di sezioni criostatiche. (6,8,15)

E' condizionata dall'esperienza del patologo.

TECNICHE DI CAMPIONAMENTO

Valutazione intraoperatoria del pezzo chirurgico

Dopo l'apertura della cavità uterina si individua la neoplasia, se ne descrivono l'aspetto, dimensioni e la sede. Si eseguono tagli trasversali della stessa valutando il livello di maggior infiltrazione (superiore o inferiore al 50%) si procede a misurazione dello spessore della neoplasia ed dello spessore del miometrio non infiltrato.

Alla valutazione macroscopica segue la valutazione microscopica su sezioni criostatiche.

DEFINIZIONE ANATOMOPATOLOGICHE-TECNICHE DI CAMPIONAMENTO

Pezzo operatorio (a fresco)-isteroannessiectomia (1)

Metodiche di sezione e inclusione

Sezione del pezzo chirurgico a fresco/fissato

- Orientamento utilizzando come riferimenti: il rivestimento peritoneale (si estende inferiormente più sulla faccia posteriore che su quella anteriore), legamenti rotondi (anteriori) e ovaie, se presenti (posteriori).
- Misurazione dell'utero in toto e la cervice, (lunghezza, larghezza e spessore).
- Marcatura con nero di china i tessuti molli paracervicali e parametriali.
- Inserimento di specillo nel canale cervicale e sondaggio della cavità endometriale
- Sezione con coltello a lama lunga sul piano frontale ottenendo due metà anteriore e posteriore.
- Sezione longitudinalmente la cervice sino all'orifizio uterino interno (al segmento uterino inferiore). Sezionare trasversalmente il corpo uterino con sezioni trasversali di 0,5 cm di spessore
- Descrizione dell'aspetto, le dimensioni e la sede del tumore.

Campionamento

- Sezioni di tumore che dimostrino il massimo spessore
- Sezioni anteriori e posteriore dell'istmo
- L'endometrio non coinvolto
- Cervice anteriore e posteriore
- Se gli annessi sono presenti eseguire sezioni trasversali dell'ovaio (almeno due) e della salpinge (almeno tre sezioni comprendenti istmo, ampolla e infundibulo) con i tessuti molli adiacenti.
- Linfonodi, suddivisi per sedi e lato ;descrizione numero, diametro ed aspetto macroscopico.

Valutazione istologica

Il grado di differenziazione della neoplasia, l'invasione miometriale e l'istotipo sono i più importanti fattori prognostici e predittivi di interessamento linfonodale.

Il tasso di interessamento linfonodale pelvico va da 0-5% (in donne con tumore ben differenziato, istotipo endometriode, invasione miometriale < 50%) al 35-40 % (tumore scarsamente differenziato, istotipo aggressivo ed invasione miometriale > 50%.(10,11)

Al fine di consentire il successivo iter terapeutico in base alla categorie di rischio il referto definitivo deve contenere i seguenti dati:

- **Tipo istologico**
- **Grado di differenziazione WHO 2002/FIGO**
- **Profondità di invasione miometriale**
- **Estensione cervicale**
- **Coinvolgimento spazi linfovaskolari**
- **Dimensione del tumore**
- **Estensione ai parametri ed annessi**
- **Stato linfonodale**
- **Stadio/ pTNM/FIGO**
- **Codifica SNOMED**

o Citologia peritoneale (TMN 2009 la citologia positiva non modifica lo stadio).

□ **Tipo istologico:** istotipo più frequente è l'adenocarcinoma endometriode che costituisce l'80% dei casi. Prognosi migliore rispetto alle neoplasie ad istotipo raro

□ **Istotipi speciali** 3-6% adenocarcinoma a cellule chiare e 5% adenocarcinoma sieroso tipo 2 (comparsa più tardiva rispetto al carcinoma endometriode, piccole dimensioni su polipo con crescita extrauterina, comportamento aggressivo e frequente interessamento linfonodale con tassi di recidiva).

Grado di differenziazione

La classificazione istologica del carcinoma endometriale segue la classificazione WHO del 2002/FIGO (15,18).

Il grado di differenziazione del carcinoma endometrioide si basa sul pattern architetturale:

- G1 meno del 5% del tumore è costituito da componente solida (non squamosa, non morulare)
- G2 dal 5 al 50% del tumore è costituito da componente solida (non squamosa, non morulare)
- G3 più del 50% è costituito da componente solida (non squamosa, non morulare)

Sono escluse dalla valutazione del grading le componenti squamose-morulari.

Il polimorfismo cellulare fa aumentare di un grado.

Istotipi di alto grado: carcinoma sieroso a cellule chiare, a piccole cellule ed indifferenziato (3,17).

Stadiazione

Stadiazione TMN e FIGO sec. UICC TNM Classification of malignant Tumors. 7° edizione
Endometrio applicabile ad adenocarcinoma dell'endometrio e carcinosarcomi per le sedi istmo, fondo dell'utero ed endometrio

REFERTO

L'utilizzo di check lists diagnostiche consente una adeguata standardizzazione del referto.(1)

ADENOCARCINOMA DELL'UTERO. pT pN stadio FIGO

- **Sede:**
- **Tipo istologico:**
- **Grado istologico (sec FIGO):**
- **Grado nucleare (solo per tipo endometrioide):**
- **Massimo spessore di infiltrazione miometriale: mm**
- **Spessore del miometrio nell' area di massima invasione tu**
- **morale: mm**
- **Invasione endocervicale:**
- **Invasione vascolare:**
- **Endometrio non neoplastico:**
- **Miometrio non neoplastico:**
- **Annessi:**

BIBLIOGRAFIA

1. Ackerman Rosai Surgical Pathology 10° edizione 2011
2. Bakkum-Gamez J.N.,Gonzalez-Bosquet J,Laack N.M,Mariani A.,Dowdy S.C Current Issue in the management of endometrial cancer Mayo Clinic Proc.Jan 2008;83(1):97-112
3. Clement PB,Young R.H.Adv.Anat.Pathol. Non endometrioid carcinomas of the uterine corpus:a review for their pathology with emphasis on recent avances and problematic aspects.2004;11(3),117 -142.
4. Cutillo G., Cignini P, Visca P.,Vizza E.,Sbiroli C.Endometrial biopsy by means of the hysteroscopic resectoscope for evaluation of tumor differentiation in endometrial cancer: a pilot study.EJSO 33(2007) 907-910.
5. Eltabbakh.G.H., Shamonki J., Mount S.I. Surgical stage, final grade and survival of women with endometrial carcinoma whose preoperative endometrial biopsy shows well-differentiated tumors.Gynecol.Oncol.99(2005)309-312
6. Fotiou S,Vlahos N., Kondiafiti A., Zarganis P.Papakonstantinou K.Creatsas G. Intraoperative gross assessment of miometrial invasion and cervical involvement in endometrial cancer:role of tumor grade and size.Gynecol.Oncol.112 (2009)5171-520.
7. Franchi M.Ghezzi F.,Melpignano M.,Cherchi P.L, Scarabelli C., Apolloni C., Zanabuoni F.Clinical Value of intraoperative gross examination in endometrial cancer. Gynecol.Oncol.76,357-361 (2000)

8. Frumovitz M.,Singh D.K,Meyer L.Smith D.H.,Wertheim I.Resnik E.,Bodurka D.C.Predictors of final Histology in patients with endometrial cancer.
9. Kucera E.,Kainz c,Reinhaller A et al.Accuracy of intraoperative frozensection diagnosis in stage I endometrial adenocarcinoma.Gynecol Obstet nvest 2000;49:62-6.
10. Mariani A, Keeney G.L.Aletti G,Webb MJ, Haddock M.G PodratzKC Endometrial carcinoma: paraortic dissemination.Gynecol.Oncol 2004,92:833-8
11. Mariani A.Dowdy S.C., Cliby W.A., Gostout S., Jones M.B.,Wilson T.O., Podratz K.C.Prospective assessment of lymphatic dissemination in endometrial cancer:a paradigm shift in surgical staging.Gynecol.Oncol 109(2008)11-18
12. Mitchard J., Hirschowitz.Concordance of FIGO grade of endometrial adenocarcinomas in biopsy and hysterectomy specimens.Histopathology 2003 42, 372-378.
13. Narducci.F, Lambaudie E, Sonoda Y, Papageorgiou T.,Taieb S, Cabaret V, Castelain B, Leblanc E.Querlen D.Controverses et nouveautés dans l'adenocarcinome de l'endomètre. Endometrial cancer: what's new?Gynécol.Obstet.Fert.31(2003) 581-596.
14. NCCN Guidelines Version 2.2011Uterine Neoplasms
15. Quinlinvan J A, Petresen RW, Nicklin JL. Accuracy of frozen sections for operative management of endometrial cancer.BJOG 2001;108:798-803
16. Scully RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ, Silverberg SG,Wilkinson EJ 1994.Uterine corpus in: World Health Organization: Hystological Typing o f female tract tumors. Springer-Verlag New York 13-31.
17. Wang X., Pan Z, Chen X, Lu W., Xie X. Accuracy of tumor grade by preoperative curettage and associate clinicopathology factors in clinical stage I endometrioid adenocarcinoma.Chinese Medical J.2009, 122 (16) 1843-1846.
18. WHO classification of tumours. Pathology and genetics.Tumors of the breast and female genital organsIARC Press Lyon 2003.
19. Protocollo "Valutazione preoperatoria dell'infiltrazione miometriale e del grading istologico nell'adenocarcinoma endometriale .R.Maggi, MP Odorizzi, R Tagliabue, E Filippi, C Bertalero, G Quadri, A Tisei. Febbraio 2008

CARCINOMA EPATOCELLULARE

Nella diagnostica attuale vengono sottoposte ad accertamento istopatologico con agobiopsia solo le lesioni nodulari del fegato inferiori ai 2 cm (usualmente quelle comprese fra 0,5 e 1,5 cm) il cui aspetto, alle indagini per diagnostica di immagine, non sia risultato dirimente.

DIAGNOSTICA DIFFERENZIALE ISTOPATOLOGICA dei c.d. NODULI EPATOCELLULARI DI PICCOLE DIMENSIONI

FOCI DISPLASTICI

Gruppi di epatociti radunati in “clusters”, inferiore a un mm, con c. d. modificazioni a piccole o a grandi cellule.

NODULO DISPLASTICO

Nodulo rilevabile con tecniche di immagine o visivamente alla ispezione macroscopica, distinguibile dal parenchima circostante per aspetto, colore, profilo e tendenza a rilevarsi sul piano di sezione.

-differenziazione microscopica: **displasia di basso o alto grado.**

CARCINOMA EPATOCELLULARE DI PICCOLE DIMENSIONI

-di tipo iniziale: lesione vagamente nodulare a margini indistinti ben differenziata (deve essere distinto dal nodulo displastico di alto grado).

-di tipo avanzato: carcinoma (G1, G2 sec. AFIP 2001) agevolmente diagnosticabile con immediatezza.

Vedi: Pathology of Early Hepatocellular Carcinoma: Conventional and Molecular Diagnosis

T. Roskams, M Kojiro

Seminars in Liver Disease v 30, n1 2010 17-25.

Liver precancerous lesions and hepatocellular carcinoma: The histology report

M. Roncalli, L. Terracciano, L Di Tommaso, E. David, M. Colombo.

Digestive and Liver Disease 43S, 2011, S361-372.

Nella pagina seguente è riportata la Classificazione TNM della WHO 2010 utilizzata nella refertazione dei campioni con carcinoma epatocellulare da resezione chirurgica.

☐ TX ☐ T0 ☐ T1 ☐ T2 ☐ T3a ☐ T3b ☐ T4	PRIMARY TUMOR (T) Primary tumor cannot be assessed No evidence of primary tumor Solitary tumor without vascular invasion Solitary tumor with vascular invasion or multiple tumors none more than 5 cm Multiple tumors more than 5 cm Single tumor or multiple tumors of any size involving a major branch of the portal vein or hepatic vein Tumor(s) with direct invasion of adjacent organs other than the gallbladder or with perforation of visceral peritoneum	☐ TX ☐ T0 ☐ T1 ☐ T2 ☐ T3a ☐ T3b ☐ T4
☐ NX ☐ N0 ☐ N1	REGIONAL LYMPH NODES (N) Regional lymph nodes cannot be assessed No regional lymph node metastasis Regional lymph node metastasis	☐ NX ☐ N0 ☐ N1
☐ M0 ☐ M1	DISTANT METASTASIS (M) No distant metastasis (no pathologic M0; use clinical M to complete stage group) Distant metastasis	☐ M1

ANATOMIC STAGE • PROGNOSTIC GROUPS

CLINICAL				PATHOLOGIC			
GROUP	T	N	M	GROUP	T	N	M
☐ I	T1	N0	M0	☐ I	T1	N0	M0
☐ II	T2	N0	M0	☐ II	T2	N0	M0
☐ IIIA	T3a	N0	M0	☐ IIIA	T3a	N0	M0
☐ IIIB	T3b	N0	M0	☐ IIIB	T3b	N0	M0
☐ IIIC	T4	N0	M0	☐ IIIC	T4	N0	M0
☐ IVA	any T	N1	M0	☐ IVA	any T	N1	M0
☐ IVB	any T	any N	M1	☐ IVB	any T	any N	M1
☐ Stage unknown				☐ Stage unknown			

TUMORI NEUROENDOCRINI

La conferma diagnostica isto-citopatologica è necessaria ed è considerata requisito essenziale (gold standard) per le neoplasie neuroendocrine (NEN) [Obergh 2012; Ramage 2012]. I casi di NEN dovrebbero essere rivisti da un panel di esperti patologi all'interno di gruppi multidisciplinari di diagnosi e cura, con speciale riferimento ai tumori con aspetti peculiari o parametri controversi sia morfologici, sia di grading o di staging [Ramage 2012].

Viene qui proposto uno schema riassuntivo dell'approccio diagnostico delle NEN, comprensivo di tutte le sedi gastroenteropancretiche (GEP), secondo la classificazione OMS del 2010 [Bosman 2010] e le recenti evidenze di letteratura. La classificazione OMS del 2010 considera tutte le NEN come potenzialmente maligne e suggerisce che siano classificate in base a sede, tipo di differenziazione, grado e stadio di malattia (oltre alla eventuale caratterizzazione della produzione ormonale), definendo i criteri applicativi per tale iter diagnostico [Bosman 2010; Vinik 2010; Boudreaux 2010; Ramage 2012] (Tabella 1).

La classificazione è specificamente intesa per neoplasie asportate chirurgicamente, ma può venire utilizzata anche in campioni citologici o bioptici, seppur con alcuni limiti applicativi (ad esempio definizione del grading in piccoli campioni di NEN ben differenziate).

Caratterizzazione morfologica

Le sedi in cui si applica la classificazione OMS del 2010 comprendono esofago, stomaco, duodeno, digiuno, ileo, appendice, colon-retto, regione ampollare, pancreas e colecisti.

Le NEN del tratto GEP includono forme ben differenziate (indicate come tumore neuroendocrino, NET) e forme scarsamente differenziate (indicate come carcinoma neuroendocrino, NEC). Le prime presentano una crescita ben differenziata, "organoide" (a nidi, trabecole oppure solida) con minime atipie, mentre le seconde hanno solitamente crescita diffusa, solida, con estesa necrosi e marcate atipie citologiche. Nei NEC sono riconosciuti due gruppi, rispettivamente di piccole e di grandi cellule, con morfologia analoga alle corrispettive controparti polmonari, ma con frequenza inversa (in area GEP fino al 75% dei casi sono NEC di grandi cellule) [Bosman 2010; Vinik 2010; Caplin 2012].

All'interno di tale distinzione dicotomica (NET vs NEC), ulteriori specificazioni derivano dalla successiva definizione del grado (valutazione di mitosi e indice Ki67) e dello stadio TNM (estensione della invasione neoplastica), mentre altri parametri non sono obbligatoriamente valutati. Tuttavia, escludendo quelli impiegati per la stadiazione, una serie di dati viene utilmente riportata in checklist diagnostiche che comprendono: dimensioni del tumore, multicentricità, presenza di invasione vascolare, capsulare o perineurale, necrosi, stato dei margini di resezione chirurgica, distanza del tumore dai margini stessi, presenza di componenti neoplastiche associate (forme miste di carcinomi neuroendocrini ed adenocarcinoma, MANEC) [Kulke 2013].

A queste si aggiunge la ricerca di eventuali lesioni (o precursori) nel tessuto peritumorale. Ciò è raccomandato soprattutto nello stomaco, che può presentare foci di iperplasia lineare o nodulare di cellule ECL nel contesto di gastrite cronica atrofica del corpo gastrico [Bosman 2010; DelleFave 2012].

I carcinoidi mucinosi/ad anello con castone (goblet cell carcinoid), più frequenti in sede appendicolare, sono oggi classificati come adenocarcinomi mucinosi e vengono trattati di conseguenza [Bosman 2010].

Immunoprofilo

L'identificazione del fenotipo neuroendocrino prevede l'impiego di specifici marcatori neuroendocrini. Tra questi, cromogranina A e sinaptofisina appaiono i più attendibili per sensibilità e specificità, unitamente a CD56 (N-CAM), PGP 9.5, NSE e neurofilamenti (Tabella 2).

Le forme tumorali poco differenziate possono mostrare espressione di marcatori neuroendocrini ridotta o assente. In tali casi, è utile la colorazione per citocheratina di alto peso molecolare (tipi CK1,5,10,14), che è classicamente assente nei tumori neuroendocrini, mentre colora i carcinomi di natura non-neuroendocrina [Sturm 2003]. Alternativamente, i carcinomi neuroendocrini poco

differenziati esprimono a livello nucleare il fattore di crescita hASH1 (human achete scute homolog-1), che nel corso dello sviluppo guida la differenziazione neuroendocrina in cellule polmonari, gastroenteriche e di altre sedi, ed è assente in cellule neuroendocrine dell'adulto e solo occasionalmente espresso in NET ben differenziati [LaRosa 2013].

A fini classificativi (definizione del grading) lo schema dell'OMS 2010 [Bosman 2010] impone obbligatoriamente l'immunocolorazione con Ki67 per definire l'indice di proliferazione cellulare (si veda sotto).

Le NEN comprendono tumori funzionanti e non-funzionanti (distinzione valida soprattutto per il pancreas) [Vinik 2010]. La definizione del profilo di produzione ormonale (insulina, glucagone, somatostatina, VIP, gastrina, serotonina, calcitonina) è utile complemento alla diagnosi (soprattutto per NEN pancreatiche e duodenali), ancorché la dimostrazione di prodotti ormonali non sia sinonimo di secrezione ormonale e non rappresenti pertanto prova di funzionalità della NEN, né autorizzi l'utilizzo a fini diagnostici di termini associati a singoli ormoni (ad es insulinoma, gastrinoma, etc) [Bosman 2010, Oberg 2012].

Per definire l'origine di NEN a primitività occulta possono essere utili fattori trascrizionali quali TTF-1 (origine tiroidea o polmonare, specialmente in forme di alto grado), CDX-2 (origine intestinale o colo-rettale), Isl- 1 (origine pancreatica), PDX-1 (origine pancreatica o duodenale) [Pape 2012]. Le informazioni ottenute dall'uso di questi marcatori vanno comunque interpretate in un contesto clinico appropriato, essendovi limiti in termini sia di sensibilità (ad esempio, espressione di TTF-1 solo in una minoranza di carcinoidi polmonari), sia di specificità (ad esempio, espressione aberrante di TTF-1 e CDX-2 in forme scarsamente differenziate di sedi rispettivamente extrapolmonari o extraintestinali).

Fattori predittivi - La ricerca immunoistochimica di recettori per la somatostatina è considerata opzionale, al momento. Ove richiesta, è ristretta soprattutto al tipo 2 (ed eventualmente al 3 e 5), che sono i recettori bersaglio dell'octreotide, e viene eseguita con anticorpi specifici (meglio i monoclonali) ed interpretata come positiva in presenza di un pattern di reattività di membrana [Volante 2007; Pavel 2012; Korner 2012]. In questo caso è consigliabile l'uso di schemi di valutazione, score, secondo proposte pubblicate e dimostrate efficaci [Volante 2007].

Grading

Lo schema dell'OMS prevede la valutazione di conta mitotica e indice di proliferazione con Ki67 (utilizzando l'anticorpo monoclonale MIB1) per definire tre gradi di differenziazione della NEN (Tabella 1). Il cut off proposto per distinguere tumori di grado 1 rispetto a grado 2 è di 2 mitosi /10 campi ad alto ingrandimento (HPF) e 3% di indice Ki67. Una conta mitotica superiore a 20/10HPF e un indice Ki67 superiore a 20% definisce i tumori di grado 3 (solitamente carcinomi neuroendocrini) [Rindi 2006; Bosman 2010]. Si raccomanda di contare le mitosi in 40 HPF in aree di maggiore densità mitotica, e di valutare il Ki67 contando 2000 nuclei in aree di maggiore proliferazione [Caplin 2012].

Mentre il cut-off di Ki67 proposto per i tumori di grado 3 rimane fisso al 20%, recenti evidenze in tumori di basso grado (G1/G2) pancreatici indicano il 5% come più efficace indicatore di incremento di rischio a fini prognostici e per una conseguente più efficace impostazione terapeutica [Scarpa 2010; Rindi et al. 2012].

Staging

La stadiazione delle NENs sottoposte a intervento chirurgico radicale segue lo schema del sistema TNM pubblicato dalla UICC/AJCC (7° edizione) per le singole sedi (ad esempio stomaco, ileo, appendice, colon-retto, pancreas) [Sobin 2009; Kloppel 2010; Araujo 2013]. L'ENETS ha pubblicato un sistema di stadiazione per le NEN delle diverse sedi che è in parte simile a quello dell'UICC, mentre si discosta da questo per le localizzazioni appendicolari e pancreatiche. In queste due ultime sedi, in assenza di evidenze cliniche definitive su quale sia il sistema di stadiazione maggiormente informativo in termini prognostici (si veda sotto: aspetti controversi), è consigliabile applicare entrambi gli schemi ed è raccomandato di indicare da quale schema deriva lo stadio riportato nel referto. Nelle NEN del tratto intestinale inoltre, è raccomandato di indicare comunque la profondità di invasione della parete intestinale (inclusa la superficie sierosa) [Boudreaux 2010].

La valutazione accurata dello stadio è cruciale per le implicazioni terapeutiche. Per tutte le sedi anatomiche esistono parametri di stadio che implicano precise indicazioni terapeutiche ed aree grigie da definire meglio. Per esempio in sede appendicolare, bassi stadi (T1a sec. UICC o T1 sec. ENETS) richiedono la sola appendicectomia, mentre stadi più alti e dimensioni tumorali >2 cm (T2 sec. UICC o T3 sec. ENETS) necessitano di emicolectomia destra (per il rischio di malattia residua o metastasi linfonodali in oltre il 15% dei casi). Gli stadi intermedi, con tumori tra 1 e 2 cm sono utilmente valutati con i due sistemi, identificando sede (base/punta appendice), invasione del meso-appendice (sì/no) o estensione alla sierosa per oltre 3 mm (sec. ENETS) (sì/no). Le prime condizioni di queste tre opzioni suggeriscono emicolectomia destra, per il rischio di malattia residua o metastasi [Bosman 2010; Pape 2012; Grozinsky-Glasberg 2012; Volante 2013].

Aspetti controversi - Recenti evidenze indicano che la stadiazione secondo ENETS in NEN pancreatiche risulta superiore allo schema UICC nella possibilità di stratificare i pazienti in gruppi prognosticamente significativi (Rindi 2012). In sede appendicolare, entrambi gli schemi di stadiazione correlano con la sopravvivenza, e lo schema UICC appare lievemente superiore in termini di significatività statistica [Volante 2013].

Profilo genetico

La Neoplasia Endocrina Multipla di tipo 1 (MEN1) viene riconosciuta dalla presenza di due o più tumori neuroendocrini in sede ipofisaria, pancreatica o paratiroidea (iperplasia). Sedi aggiuntive comprendono il timo e il polmone (carcinoidi) oppure lo stomaco (NET/carcinoidi), nonché la cute (angiomi e lipomi) e la corteccia surrenalica. Il quadro morfologico dei singoli tumori neuroendocrini in pazienti affetti da MEN1 non differisce da quello dei corrispondenti tumori in contesto sporadico. Un'eccezione è rappresentata dalla diversa presentazione macroscopica, in quanto nelle MEN1 sono molto più comuni i tumori multipli [Bosman 2010; Kulke 2013].

In caso di sospetto di MEN1 o di accertata familiarità per MEN1, viene indicato un test genetico per la mutazione del gene della menina, su sangue periferico o su campioni di tessuto tumorale e peritumorale. Ciò è raccomandato specificamente per NEN gastriche (NET di tipo 2, multipli, associati a S. di Zollinger-Ellison, in assenza di gastrite atrofica) e della regione duodenale (ad es gastrinomi) [Bosman 2010; DelleFave 2012].

Altre malattie genetiche che si associano a sviluppo di NEN includono la malattia di von Hippel-Lindau, la sclerosi tuberosa e la neurofibromatosi di tipo 1. Anche nel sospetto di tali casi è opportuno il ricorso a test genetici appropriati per la mutazione del gene responsabile di malattia [Bosman 2010; Ramage 2012].

Bibliografia essenziale.

1. Araujo PB. et al. Evaluation of the WHO 2010 grading and AJCC/UICC staging systems in the prognostic behavior of intestinal neuroendocrine tumors. *PlosOne* 2013;8:e61538(1-8).
2. Bosman FT. et al. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics. Tumors of the Digestive System. IARC Press, Lyon: 2010.
3. Boudreaux JP. et al. The NANETS consensus guideline for the diagnosis and management of neuroendocrine tumors: well-differentiated neuroendocrine tumors of the Jejunum, Ileum, Appendix, and Cecum. *Pancreas* 2010;39:753-766.
4. Caplin M. et al. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine neoplasms: colorectal neuroendocrine neoplasms. *Neuroendocrinology* 2012;95:88-97.
5. Delle Fave G. et al. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with gastroduodenal neoplasms. *Neuroendocrinology* 2012;95:74-87.
6. Grozinsky-Glasberg S. et al. Current size criteria for the management of neuroendocrine tumors of the appendix: are they valid? Clinical experience and review of the literature. *Neuroendocrinology* 2012 Nov 22 [Epub ahead of print].
7. Kloppel G. et al. The ENETS and AJCC/UICC TNM classifications of the neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract and the pancreas: a statement. *Virchows Arch* 2010;456:595-7.
8. Körner M. et al. Somatostatin receptor subtype 2A immunohistochemistry using a new monoclonal antibody selects tumors suitable for in vivo somatostatin receptor targeting. *Am J*

Surg Pathol 2012;36:242-52.

9. Kulke M et al. NCCN clinical practice guidelines in oncology: Neuroendocrine tumors. Version 2013, pp 32-35 and 40-43.

10. LaRosa S. et al. Achaete-scute homolog 1 as a marker of poorly differentiated neuroendocrine carcinomas of different sites: a validation study using immunohistochemistry and quantitative real-time polymerase chain reaction on 335 cases. Hum Pathol 2013;44:1391-9.

11. Oberg K. et al. Neuroendocrine gastro-entero-pancreatic tumors: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2012;23 S7:vii124-30. 12. Pape UF. et al. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with neuroendocrine neoplasms from the jejunum-ileum and the appendix including goblet cell carcinomas. Neuroendocrinology 2012;95:135-156.

13. Pavel M. et al. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with liver and other distant metastases from neuroendocrine neoplasms of foregut, midgut, hindgut, and unknown primary. Neuroendocrinology 2012;95:157-76.

14. Ramage JK. Et al. Guidelines for the management of gastroenteropancreatic neuroendocrine (including carcinoid) tumours (NETs). Gut 2012;61:6-32.

15. Rindi G. et al. TNM staging of foregut (neuro) endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. Virchows Arch 2006;449:395-401.

16. Rindi G. et al. TNM staging of neoplasms of the endocrine pancreas: results from a large international cohort study. J Natl Cancer Inst 2012;104:764-77.

17. Scarpa A. et al. Pancreatic endocrine tumors: improved TNM staging and histopathological grading permit a clinically efficient prognostic stratification of patients. Mod Pathol 2010;23:824-33.

18. Sobin LH. et al. UICC: TNM classification of malignant tumors, 7th edition. Wiley-Blackwell, Oxford, 2009.

19. Sturm N. et al. 34BetaE12 expression along the whole spectrum of neuroendocrine proliferations of the lung, from neuroendocrine cell hyperplasia to small cell carcinoma. Histopathology 2003;42:156-66.

20. Vinik AI. et al. NANETS consensus guidelines for the diagnosis of neuroendocrine tumor. Pancreas 2010;39:713-34.

21. Volante M. et al. Somatostatin receptor type 2A immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: a proposal of scoring system correlated with somatostatin receptor scintigraphy. Mod Pathol 2007;20:1172-82.

22. Volante M. et al. Tumor staging but not grading is associated to adverse clinical outcome in neuroendocrine tumors of the appendix: a retrospective clinical pathological analysis of 138 cases. Am J Surg Pathol 2013;37:606-12.

Classificazione morfologica e grading (secondo l'OMS) [Bosman 2010]

Diagnosi Grado Mitosi Ki67 Differenziazione

1. Tumore neuroendocrino 1 <2/10hpf <3% Ben differenziato
2. Tumore neuroendocrino* 2 2-20/10hpf 3-20% Ben/Moderatamente diff.
3. Carcinoma neuroendocrino 3 >20/10hpf >20% Poco differenziato
4. Carcinoma misto adeno – neuroendocrino (MANEC) Poco differenziato**
5. Lesioni iperplastiche e pre-neoplastiche

*rari NET a differenziazione intermedia hanno alto indice mitotico e/o Ki67, pertanto appartengono al grado 3;

** in rarissimi casi la componente neuroendocrina può corrispondere a forme di NET G1 o G2.

Marcatori per la caratterizzazione di neoplasie neuroendocrine GEP

Ruolo del marcatore Tipo di marcatore

Diagnostico di fenotipo neuroendocrino Cromogranina A, sinaptofisina, CD56

“ (NCAM), NSE, PGP 9.5, neurofilamenti

“ (negativo in tumori neuroendocrini) CK alto peso molecolare (1,5,10,14)

“ (solo per carcinomi NE poco differenziati) hASH1

Diagnostico di organo di origine CDX2, Isl1, PDX1, PAX8

Prognostico (per il grading) Ki67

Predittivo (per terapia con analoghi somatostatina) Recettore somatostatina tipo 2A (SSTR2A)

Genetico Geni di MEN1, VHL, TSC, NF1

TUMORE DELL'OVAIO

PERCORSO DIAGNOSTICO

La diagnosi preoperatoria delle masse ovariche/pelviche è clinico-strumentale-laboratoristica, ma senza una diagnosi istologica vi è sempre un certo grado di incertezza. L'istologia è l'unica in grado di determinare con sicurezza il tipo e grado della neoplasia, importante in quanto sottotipi diversi di carcinoma ovarico richiedono trattamenti diversi (es. il carcinoma mucinoso, a cellule chiare e sieroso di basso grado esibiscono scarsa risposta alla CT/platino). La diagnosi istologica generalmente vien fatta su pezzo operatorio ed in ultima istanza ed in mancanza di quest'ultimo sul materiale fornito da un tru-cut o da una biopsia laparoscopica (1).

Citologia:

- 1) La tecnica di agoaspirazione (FNA) nella diagnosi dei tumori maligni è molto controversa a causa del rischio di disseminazione di cellule neoplastiche lungo il percorso dell'ago e della rottura della capsula tumorale con conseguente disseminazione di cellule maligne nella cavità peritoneale. De Crispigny ed al. (1989) e Greenebaum ed al. (1996) consigliano di limitare l'aspirazione alle cisti di meno di 10 cm di diametro con setti spessi o aree solide agli U.S (2).
- 2) L'analisi del liquido ascitico nelle pazienti in stadio avanzato è in grado di fornire una diagnosi se non di certezza almeno orientativa per iniziare una eventuale chemioterapia preoperatoria (3). I limiti sono rappresentati dalla quantità di liquido prelevato con la paracentesi che dev'essere di almeno 30-40 cc e contenere un minimo di 500.000 cellule in modo da poter allestire un citoincluso ed ottenere anche delle sezioni bianche su cui eseguire dell'immunocitochimica. Quest'ultima aumenta l'accuratezza diagnostica dell'esame citologico (57-87%) (1). Nel processo di diagnosi differenziale è da tenere in conto il carcinoma sieroso ovarico, il mesotelio reattivo, il mesotelioma, altre neoplasie ovariche e le neoplasie da sedi extraovariche (es. gastroenterico) (Tab 1 e Tab 2).

Tab 1 - Immunomarkers usati nella diagnosi differenziale tra cellule di adenocarcinoma e cellule mesoteliali (4) :

Marcatori	Mesotelioma positività %	Adenocarcinoma positività %
CA 19-9	0 - 3	56 - 67
Ber Ep 4	01/09/13	83 - 100
B 72.3	0 - 3	65 - 100
MOC 31	3 - 9	83 - 98
Claudina -4	0	96 - 99
Calretinina	85 - 100	0 - 38
WT1	43 - 93	89 - 93
CK 5/6	53 - 100	22 - 35

Tab 2. Immunomarkers usati nella diagnosi differenziale tra adenocarcinoma a primitività ignota, cellule mesoteliali reattive e mesotelioma:

Organo	EC		CEA		MOC-31		Ber-EP4		HBME-1		CR		Thromb	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Polmone	30	2	31	1	22	10	21	7	25	7	6	26	13	19
Ovaio	12	0	6	6	9	3	11	1	11	1	1	11	2	10
Mammella	4	0	2	2	2	2	2	2	4	0	0	4	2	2
Stomaco	0	3	2	1	2	1	2	1	2	1	0	3	0	3
Colon	3	1	4	0	3	1	3	0	3	1	0	4	0	4
Pancreas	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1
Colecisti	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1
Tiroide	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1
Endometrio	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1
RM	0	35	0	35	3	32	3	29	28	7	29	6	12	23
Mesotelioma	1	17	2	13	1	17	2	4	14	4	15	3	13	5

3) L'esame citologico del fluido proveniente dalla cavità addominale, eseguito in contemporanea all'intervento chirurgico, consente di migliorare la stadiazione del carcinoma ovarico e di altre neoplasie ginecologiche (concetto introdotto per la prima volta dalla classificazione FIGO nel 1986). Il vantaggio di questa procedura sta nel dimostrare una diffusione neoplastica anche in assenza di lesioni visibili, di verificare la presenza di persistenza o recidiva di malattia durante le procedure di II look chirurgico, di scoprire carcinomi occulti durante laparotomie o laparoscopie eseguite per malattia benigna o di scoprire carcinomi metastatici da sede non ginecologica.

Modalità di invio del campione citologico (liquidi di versamento e washing):

Invio dell'intera quantità di liquido prelevato in contenitori a parete rigida a chiusura ermetica. Se è prevista la consegna in laboratorio in tempi brevi conservazione in frigorifero a 4° gradi centigradi; se prevista entro le 24 ore aggiungere etanolo 50 in rapporto 1/1 (per ottenere un buon incluso) (6, 7).

Modalità invio campione istologico (biopsie, pezzi chirurgici):

Il materiale operatorio deve essere inviato integro, senza tagli e dissezioni preliminari, in liquido fissativo, in adeguata quantità e contenitore idoneo, oppure a fresco con invio tempestivo; piccole biopsie inviate a fresco poste su garza imbevuta di soluzione fisiologica.

Notizie cliniche:

Per agevolare la diagnosi cito/istologica il materiale inviato in laboratorio di anatomia patologica dovrebbe essere corredato dalle seguenti informazioni:

- 1) eventuale stato di gravidanza, AUB, precedenti terapie (ormonali, RT, CHT), precedenti interventi chirurgici rilevanti, storia familiare di neoplasia mammaria/ovarica;
- 2) esami radiologici, dati di laboratorio (RMI) e ascite;
- 3) diagnosi clinica;
- 4) tipo di procedura effettuata;
- 5) dati inerenti l'intervento (ad es. rottura preoperatoria, intraoperatoria o postoperatoria)
- 6) tipo di materiale-sede del materiale (8).

Esame estemporaneo intraoperatorio:

Nella gestione della patologia ovarica trova applicazione, più che in qualunque altro campo della ginecopatologia, l'esame estemporaneo intraoperatorio ricordandosi peraltro che esso ha delle indicazioni ben precise:

- 1) essere richiesto solo se impatta effettivamente il comportamento chirurgico ed evitare sovra- e sottotrattamenti (no nelle neoplasie in stadio avanzato);
- 2) evitare di chiederlo per semplice curiosità o per dare in anteprima la diagnosi alla paziente;

3) conferma istologica di un tumore ovarico maligno/borderline ed esclusione di malignità per una lesione sospetta benigna.

Limiti dell'esame intraoperatorio:

- 1) errore di campionamento macroscopico in quanto non è possibile esaminare tutte le aree sospette nei tempi ristretti dell'esame (più comunemente tipico nei tumori mucinosi dovuto alla loro eterogeneità e dimensioni: in tal caso si consigliano 2-3 sezioni in aree non contigue);
- 2) qualità delle sezioni criostatiche che può limitare la valutazione del dettaglio cellulare;
- 3) esperienza del patologo (meglio se ginecopatologo);
- 4) l'incapacità di definire l'istotipo preciso nelle neoplasie solide;
- 5) bassa sensibilità nella diagnosi di tumore borderline e poca accuratezza nel distinguere quest'ultimo dai carcinomi (la difficoltà diagnostica è maggiore nel tipo mucinoso comparato alla controparte sierosa);
- 6) difficoltà nella diagnosi di carcinoma mucinoso ovarico primitivo;
- 7) difficoltà nella diagnosi differenziale tra carcinoma ovarico primitivo e secondario (9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16).

L'esame ha un'alta sensibilità, specificità e VPP (valore predittivo positivo) per le lesioni benigne e maligne primitive dell'ovaio. Ha bassa sensibilità e valore predittivo positivo nella diagnosi di tumore borderline (rischio di sotto e sovradiagnosi, rispettivamente del 10% e del 7%) (Tab 3)

Tab 3.

	Tumore maligno	Tumore benigno	Tumore borderline
Sensibilità	79,6-93%	92,8-100%	44,4-84%
Specificità	97,1-100%	88,6-92,7%	93,8-97,9%
VPP	91,1-100%	89,6-92,2%	63-88,9%

Nonostante le difficoltà l'accuratezza totale è dell' 87,8 - 94% ed è quindi un esame altamente raccomandato (17).

I tempi di refertazione sono circa 20 minuti dal momento in cui il materiale giunge al laboratorio di anatomia patologica e l'invio di fax/diagnosi telefonica con il chirurgo (18).

Classificazione istologica delle neoplasie ovariche (WHO 1998)

Attualmente per la classificazione delle neoplasie ovariche si fa riferimento alla terminologia utilizzata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO 1998).

Tumori dell'epitelio superficiale-stroma con i loro sottotipi istologici:

- sieroso (benigno, borderline, maligno)

- endometrioide (benigno, borderline, maligno)
- a cellule chiare (benigno, borderline, maligno)
- mucinoso (benigno, borderline, maligno)
- epiteliale misto (benigno, borderline, maligno)
- transizionale (benigno, borderline, maligno)
- squamoso
- carcinoma indifferenziato
- tumore mulleriano misto maligno/carcinosarcoma

Tumori a cellule germinali:

- Disgerminoma
- Carcinoma embrionario
- Tumore del seno endodermico (yolk salk)
- Coriocarcinoma
- Teroma (maturo, immaturo, monodermico)
- Tumori germinali misti

Tumori dello stroma dei cordoni sessuali

- Fibroma/fibrotecoma
- Tumore a cellula della granulosa
- Tumore a cellule di Sertoli/Leydig

Attualmente sulla base dell'aspetto istopatologico, immunoistochimico e di genetica molecolare (19) si identificano almeno 5 tipi di carcinoma ovarico (che comprendono circa il 98% delle neoplasie epiteliali maligne):

- 1) Carcinoma sieroso di alto grado (HGSC)
- 2) Carcinoma endometrioide (EC)
- 3) Carcinoma a cellule chiare (CCC)
- 4) Carcinoma mucinoso (MC)
- 5) Carcinoma sieroso di basso grado (LGSC)

Di recente è stata proposta da Kurman (20, 21) una suddivisione delle neoplasie epiteliali maligne in due gruppi basata su aspetti distintivi morfologici e genetici/molecolari:

Tipo I: Sieroso di basso grado, endometrioide di basso grado, mucinoso e a cellule chiare.

Tipo II: Sieroso di alto grado, endometrioide di alto grado, carcinoma indifferenziato, carcinosarcoma.

I tumori di tipo I hanno una crescita lenta, si presentano confinati all'ovaio, raramente hanno mutazioni della p53 e sono relativamente stabili geneticamente; ma ciascun tipo morfologico esibisce un distinto profilo molecolare/genetico. In più evidenziano uno stretto rapporto mutazionale con la corrispondente neoplasia benigna, spesso attraverso uno step intermedio (borderline), supportando il continuum morfologico della progressione tumorale.

I tumori di Tipo II hanno una prognosi infausta per crescita rapida e malattia in stadio avanzato alla diagnosi, un'alta frequenza di mutazioni di p53 ed alterazioni molecolari che influenzano l'espressione di BRCA.

Immunoistochimica:

E' una tecnica ancillare di supporto alla diagnosi morfologica e prevede l'utilizzo di un pannel di marcatori dal momento che nessun anticorpo è totalmente specifico per un dato tumore. Trova applicazione nel tipizzare un tumore ovarico primitivo e differenziare un carcinoma primitivo da uno metastatico.

Seguendo il modello Prat (19):

- HGSC (sieroso di alto grado): p53, BRCA1, WT1+, p16 +, ER (60%)
- LGSC (sieroso di basso grado): come HGSC
- EC (endometrioide) : vimentina +, CK7 (97%), CK 20 (13%), EMA+, ER+, PR+
- CCC (cellule chiare): HNF 1-beta +, ER -, WT1 -
- PMCO (carcinoma ovarico mucinoso primitivo): CK7 + (80%), CK 20 + (65% ma debole e focale), p16 + (focale), racemasi -
- SOMCI (carcinoma ovarico mucinoso secondario intestinale): CA 125 -, WT1 -, CK7 -, CK20 +, CDX2 +, ER-, PR-.

La distinzione del carcinoma sieroso di alto grado dall'endometrioide di alto grado non è sempre facile sia dal punto di vista morfologico che dell'immunoistochimica; comunque questa distinzione generalmente non è importante perché la prognosi stratificata per stadio ed il trattamento sono simili.

Nella distinzione del carcinoma mucinoso secondario versus primitivo è di ausilio l'algoritmo: bilateralità della lesione e diametro inferiore a 13 cm di diametro depongono per la secondarietà della lesione (19, 21, 22, 23, 24).

Biologia molecolare

1) Carcinoma sieroso di alto grado: mutazioni di p53 (60%) e del gene BRCA (ereditario), diffusi ed alti livelli di perdite o acquisizioni di DNA copy number sui loci di CCNE1 (cyclin E1), NOTCH3, AKT2, RSF1 e PIK3CA.

Al contrario di quanto accade in altre neoplasie (tipo colon) non è stata dimostrata la presenza di un modello di mutazioni geniche in sequenza che portano all'accumulo di alterazioni geniche determinanti la progressione della neoplasia. Anche il più piccolo carcinoma sieroso è già di alto grado ed assomiglia morfologicamente alla sua controparte avanzata e già in carcinomi sierosi molto piccoli ed in stadio I sono presenti mutazioni di p53.

2) Carcinoma sieroso di basso grado: mutazioni di BRAF (38%) e KRAS (19%), mutualmente esclusive. Le stesse mutazioni sono state riscontrate in alcuni tumori sierosi borderline (SBTs) del tipo micropapillare e tipico; quelli che acquisiscono delezioni alleliche di 1p36 e 9p21 progrediscono verso il carcinoma.

3) Adenocarcinoma endometrioide: mutazioni attivanti di CTNNB1 (gene che codifica la beta-catenina) sono presenti in circa il 40% dei casi e mutazioni inattivanti di PTEN nel 20%. La mutazione di quest'ultimo sembra essere un evento precoce: è presente anche nelle cisti endometrioidiche adiacenti alla neoplasia. Un'altra mutazione scoperta più di recente è quella del gene ARID1A. I rari casi ereditari sono portatori di mutazioni dei geni di riparo del DNA mismatch (MSH2 e MLH1).

Nel tentativo di delineare meglio il processo di tumorigenesi del carcinoma ovarico, ci si è chiesto se il carcinoma endometrioide di alto grado sia il risultato della progressione di un carcinoma endometrioide di basso grado e non sia invece una variante di carcinoma sieroso di alto grado: la presenza di frequenti mutazioni di p53 e l'assenza di mutazioni del pathway PTEN depongono per la seconda ipotesi.

4) Carcinoma a cellule chiare: mutazioni di ARID1A (50%) e di PIK3CA (50%), delezioni di PTEN (20%), mutazioni di CTNNB1 e del fattore epatocitario-1 beta (HNF-1beta) (upregolato). La mutazione di ARID1A è stata identificata nel tumore e nell'adiacente endometriosi, ma non nell'endometriosi a distanza.

5) Tumori mucinosi di tipo intestinale: mutazioni di KRAS sono presenti in circa il 75% di carcinomi mucinosi primitivi. La stessa mutazione è presente nel carcinoma mucinoso e nell'adiacente cistoadenoma mucinoso e tumore borderline. Un aspetto molecolare che supporta il continuum morfologico della progressione tumorale nelle neoplasie mucinose ovariche (19, 21, 25, 26).

Stadiazione pTNM e FIGO

Stadiazione TNM e FIGO sec UICC TNM Classification of Malignant Tumours VII ed 2009.

La classificazione dei tumori ovarici è applicabile a neoplasie maligne di origine sia epiteliale che stromale includendo le forme borderline o a bassa malignità.

Salpinge classificazione applicabile solo ai carcinomi.
--

Check list di refertazione:

Carcinoma dell'ovaio

- tipo istologico
- grado istologico sec FIGO*
- invasione linfatica e venosa
- pTNM (TNM 2009); stadio FIGO (1988)
- sede
- superficie sierosa

- parenchima ovarico residuo
- salpinge
- impianti

***Per il carcinoma sieroso si usa un sistema di gradazione binario; per l'endometrioide si adopera la gradazione FIGO utilizzata per la controparte endometriale; il carcinoma a cellule chiare è per definizione un alto grado; il carcinoma mucinoso è generalmente di basso grado.**

Bibliografia

- 1) NICE Clinical guidelines. Ovarian cancer: the recognition and initial management of ovarian cancer (Dicembre 2010).
- 2) De Cryspigny et al. The simple ovarian cyst: aspirate or operate? British Journal of Obstetrics and Gynecology 1996; 1035-1039.
- 3) P.E. Schwartz e Wenxin Zheng. Neoadjuvant chemotherapy for advanced ovarian cancer: the role of cytology in pre-treatment diagnosis". Gynecologic Oncology 90 (2003); 644-650.
- 4) Chowdhuri SR, et al. "Adenocarcinoma cells in effusion cytology as a diagnostic pitfall with potential impact on clinical management: a case report with brief review of immunomarkers". Diagn Cytopathol. 2012 Nov 16. doi: 10.1002/dc.22915.
- 5) Su X, et al. "Cytological differential diagnosis among adenocarcinoma, epithelial mesothelioma, and reactive mesothelial cells in serous effusions by immunocytochemistry". Diagn Cytopathol. 2011 Dec;39(12):900-8. doi: 10.1002/dc.21489. Epub 2010 Sep 10.
- 6) S. Daniel, T. Zanin Manuale di tecnica cito-istologica 09/97.
- 7) Koss L.G. Koss' diagnostic cytology and its histopathologic bases. V° ed. 2006.
- 8) Linee guida ovaio CAP (College of American Pathologist), 2012.
- 9) Bige O, et al. Frozen section diagnoses of 578 ovarian tumors made by pathologists with and without expertise on gynecologic pathology. Gynecol Oncol. 2011; 123:43-6
- 10) Baker P, et al. A practical approach to intraoperative consultation in gynecological pathology. Int J Gynecol Pathol. 2008 Jul;27:353-65
- 11) Zannoni GF. The frozen section in ovarian pathology. Congresso Annuale di Anatomia Patologica SIAPEC-IAP, Firenze, 25-27 ottobre 2012
- 12) Kim JH, et al. Clinical analysis of intra-operative frozen section proven borderline tumors of the ovary. J Gynecol Oncol. 2009; 20:176-18
- 13) Li M, et al. Analysis of diagnosis accuracy of frozen sections in 73 cases of borderline tumor of ovary. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. 2009; 38:106-109
- 14) Brun JL, et al. Factors influencing the use and accuracy of frozen section diagnosis of epithelial ovarian tumors. Am J Obstet Gynecol. 2008;199:244
- 15) Storms AA, et al. Mucinous tumors of the ovary: diagnostic challenges at frozen section and clinical implications. Gynecol Oncol. 2012;125:75-9
- 16) Seidman JD, et al. Primary and metastatic mucinous adenocarcinomas in the ovaries. Incidence in routine practice with a new approach to improve intraoperative diagnosis. The American Journal of Surgical Pathology 2003;27:985-993
- 17) W. Pornsawan et al. The accuracy of intraoperative frozen sections in the diagnosis of ovarian tumors. J Med Assoc Thai 2008; 91 (12):1791-5.
- 18) Cross P.A. et al. Intraoperative frozen section analysis for suspected early-stage ovarian cancer: 11 years of Gateshead Cancer Centre experience. Published online 2011.
- 19) Prat J. New insights into ovarian cancer pathology. Annals of Oncology 2012;23:111-117
- 20) Kurman RJ, et al. Molecular Pathogenesis and Extraovarian Origin of Epithelial Ovarian Cancer. Shifting the Paradigm. Hum Pathol. 2011 July; 42(7): 918-931
- 21) Kurman et al. Blustein's Pathology of the female genital tract (sixth edition) 2011.
- 22) McCluggage WG. Morphological subtypes of ovarian carcinoma: a review with emphasis on new developments and pathogenesis. Pathology 2011;43:420-432.
- 23) International journal of gynecological pathology; 2008, 27:161-174.
- 24) Immunohistochemistry in the diagnosis of metastatic carcinoma of unknown primary origin. R.T. Miller. April 30, 2011

- 25) Lalwani N, et al. Histologic, molecular, and cytogenetic features of ovarian cancers: implications for diagnosis and treatment. Radiographics. 2011;31:625-46
- 26) Tavassoli FA, et al. WHO Classification of tumours. Pathology and genetics. Tumours of the breast and female genital organs. IARC Press, Lyon 2003.

TUMORE DEL PANCREAS

- **Identificativo pezzo operatorio:** anagrafica
- **Condizioni di invio:** a fresco/fissato (in quale fissativo?)
- **Sede:** specificare sede anatomica esatta della neoplasia in base alla clinica
- **Tipo di procedura:** biopsia, biopsia escissionale, cefaloduodenopancreasectomia standard, totale, distale, allargata ad altri organi
- **Descrizione e misure:** descrivere e misurare l'intero pezzo operatorio nel suo complesso, e le singole componenti
- **Descrizione macroscopica della neoplasia:** colore, consistenza, dimensioni, sede precisa, relazione con le vie biliari/duodeno/papilla/pancreas. Se cistico: rapporto con le vie duttali pancreatiche, contenuto, uni o multilocularità

Voci da includere nella check list di refertazione:

- Pezzo operatorio:

- Testa del pancreas
- Corpo del pancreas
- Coda del pancreas
- Duodeno
- Stomaco
- Dotto biliare comune
- Colecisti
- Milza
- Grossi vasi adiacenti
- Altro

- Procedure:

- Cefaloduodenopancreasectomia parziale
- Cefaloduodenopancreasectomia totale
- Pancreatectomia parziale corpo/coda
- Altro

- Sede tumorale:

- Testa pancreatico
- Processo uncinato
- Corpo pancreatico
- Coda pancreatico
- Altro

- Dimensioni tumorali:

- Diametro massimo
- Non determinabile

- Tipo istologico:

- Adenocarcinoma duttale

- Carcinoma mucinoso non-cistico
- Carcinoma a cellule con castone
- Carcinoma adenosquamoso
- Carcinoma indifferenziato (anaplastico)
- Carcinoma indifferenziato con cellule giganti osteoclasti-simili
- Carcinoma misto duttale-endocrino

- Cistoadenocarcinoma sieroso

- Neoplasie cistiche mucinose

- Non invasive
- Invasive
- Carcinoma intraduttale papillare mucinoso**

- Non invasivo
- Invasivo

- Carcinoma a cellule aciniche

- Cistoadenocarcinoma a cellule aciniche
- Carcinoma misto acinico-endocrino
- Altro

- Grading:

- GX
- G1
- G2
- G3
- Altro

- Estensione tumorale microscopica:

- Carcinoma in situ
- Tumore confinato al pancreas
- Tumore invade l'ampolla di Vater o lo sfintere di Oddi
- Tumore invade la parete duodenale
- Tumore invade i tessuti molli peripancreatici
- Tumore invade i tessuti molli retroperitoneali
- Tumore invade il tessuto adiposo mesenterico
- Tumore invade il mesocolon
- Tumore invade altri tessuti molli peripancreatici (specificare)
- Tumore invade il dotto biliare comune extrapancreatico
- Tumore invade altri organi o strutture adiacenti (specificare)

- Margini:

- Non specificabili
- Margini indenni da carcinoma
- Distanza minima dal margine (specificare) cm:
- Margini coinvolti da carcinoma
- Carcinoma in situ presente sul margine del dotto biliare comune
- Carcinoma in situ presente sul margine pancreatico
- Margine coinvolto da carcinoma invasivo
- Margine retroperitoneale (lamina posteriore)
- Margine pancreatico distale
- Margine dotto biliare comune
- Margine pancreatico prossimale
- Altro

- Effetti da trattamento neoadiuvante:

- No tumore residuo (risposta completa, grado 0)
- Minimo tumore residuo (marcata risposta, grado 1)
- Moderata risposta (grado 2)
- Scarsa o nessuna risposta (grado 3)

- Invasione linfo-vascolare

- Non identificata sulle sezioni esaminate
- Presente
- Indeterminato

- Invasione perineurale

- Non identificata sulle sezioni esaminate
- Presente
- Indeterminato

- Staging (pTNM)

- pTX
- pTis
- pT1
- pT2
- pT3
- pT4

- pNX
- pN0
- pN1
- Specificare n° esaminato/n° mts

- pMX
- pM0
- pM1
- Specificare sede mts

- Caratteristiche patologiche aggiuntive:

- Neoplasia intraepiteliale pancreatica (PanIN)
- Pancreatite cronica
- Pancreatite acuta
- Altro

- Storia clinica rilevante:

- Terapia neoadiuvante
- Pancreatite famigliare
- Sindrome famigliare carcinoma pancreatico
- Altro

- Altre note tecniche:

- Inclusione dell'intero tumore in caso di lesioni piccole.
- Esteso campionamento in caso di lesioni cistiche, soprattutto se mucinose, ed in caso di IPMN.
- Divisione dei linfonodi (semplificata) in pancreatico-duodenali e altri linfonodi (perigastrici grande e piccola curva e periduodenali distali)
- Necessità di procedura di marcatura in nero di china della lamina posteriore retroportale.
- Necessità di contrassegno con filo di repere della lamina posteriore retroportale DA PARTE DEL CHIRURGO, nei casi di TUMORI SOTTOPOSTI A RT E CT NEOADIUVANTE

Bibliografia

1. AJCC/UICC TNM 7 edizione 2009
2. Capella C, Albarello L, Capelli P, Sessa F, Zamboni G; Gruppo Italiano Patologi Apparato Digerente (GIPAD); Società Italiana di Anatomia Patologica e Citopatologia Diagnostica/International Academy of Pathology, Italian division (SIAPEC/IAP). Carcinoma of the exocrine pancreas: the histology report. Dig Liver Dis. 2011 Mar;43 Suppl 4:S282-92.

LE POSSIBILITÀ DIAGNOSTICHE DELL'ESAME CITOLOGICO: la quantità del materiale occorrente e il problema della presenza del patologo al momento dell'agobiopsia

INTRODUZIONE

La metodica di aspirazione sotto guida ecoendoscopica (EUS-FNA) sta diventando una delle modalità preferite per la diagnosi e stadiazione delle lesioni addominali profonde. Anche la parte citopatologica conseguente a tale procedura si sta affinando sia nella manipolazione del materiale che nell'affidabilità diagnostica.

Al fine di ottimizzare la procedura ed i dati che da essa ne derivano, molti esperti hanno valutato e raccomandato la presenza del citopatologo durante lo svolgimento del prelievo, con la funzione di valutare macroscopicamente il materiale aspirato, esaminare al microscopio estemporaneamente su un preparato allestito e colorato rapidamente in sede **l'adeguatezza del prelievo**, dare una preliminare interpretazione del campione, programmare eventuali altri prelievi mirati in funzione di quesiti specifici (es secondo prelievo per citoflussimetria in caso di sospetto di malattia linfoproliferativa).

MATERIALI E METODI

Le diagnosi citopatologiche sono categorizzate secondo le raccomandazioni delle linee guida della Società di Papanicolaou utilizzando la seguente nomenclatura.:

- a) positivo per cellule tumorali maligne,
- b) sospetto in senso neoplastico,
- c) atipico/ indeterminato
- d) negativo per cellule neoplastiche(benigno).
- e) insufficiente/inadeguato.

Tutte le diagnosi dovrebbero essere formulate dallo stesso gruppo di citopatologi dedicati, con la eventuale supervisione di un secondo citopatologo con la eventuale revisione e collegiale nei casi di maggiore complessità. La manipolazione del materiale dovrebbe essere affidata al citopatologo.

E' necessario allestire e disporre sia di preparati citologici per striscio che di sezioni da materiale citoincluso (cell-block).

Per una valutazione estemporanea alcuni preparati vengono colorati al momento del prelievo.

Le colorazioni (ematossilina-eosina, Papanicolaou, May-Grunwald-Giemsa, Blu di Toluidina, Diff-Quick) sono a discrezione del patologo secondo preferenze ed esperienza.

La restante parte del materiale viene destinata alla preparazione del cell-block previa fissazione (alcool a 95°, formalina, altro)

NOTE E DISCUSSIONE

Il ruolo dell'agoaspirazione sotto guida ecoendoscopica è in continua evoluzione.

Molti sono i lavori in letteratura che dimostrano la sempre maggior accuratezza nella diagnosi e stadiazione di masse addominali.

L'impatto clinico della valutazione estemporanea dei preparati da parte di un citopatologo esperto è molto difficile da definire in campo ecoendoscopico diversamente da altre procedure agoaspirative (agoaspirati percutanei su guida ecografica di mammella, tiroide, linfonodi, polmone, torace).

Recenti studi sono stati condotti sulla valutazione estemporanea dei prelievi eseguiti sotto guida ecoendoscopica.

Chang e coll hanno dimostrato che valutando la citologia agoaspirativa sotto guida ecoendoscopica, tutti i casi seguiti con valutazione estemporanea da parte di un citopatologo hanno avuto una diagnosi citopatologica finale, mentre il 29 % dei prelievi eseguiti senza valutazione estemporanea sono risultati insoddisfacenti. Questa discrepanza ha ultimamente indotto un cambiamento della politica organizzativa dei centri che utilizzano questo tipo di procedura diagnostica, che sempre più richiedono la presenza del citopatologo durante il prelievo.

Si possono, in ultimo, distinguere varie funzioni del citopatologo.

- 1) valutare il caso clinico consultando la cartella clinica con tutti gli accertamenti eseguiti e confrontandosi con le ipotesi diagnostiche poste dall'endoscopista
 - 2) osservare e manipolare il materiale, provvedendo personalmente all'allestimento degli strisci necessari ed al successivo recupero del materiale residuo dalla sonda. E' molto importante eseguire le manovre velocemente, per evitare che il campione, generalmente ematico, si coaguli dentro la sonda, impedendo il recupero dei frustoli. Per fare ciò si può procedere sistematicamente con insufflazione di aria, poi di 1cc di soluzione fisiologica per lavaggio ed infine con rimandrinatura della sonda.
 - 3) valutare estemporaneamente al microscopio l'adeguatezza del preparato. Il preparato va considerato inadeguato quando interamente rappresentato da materiale ematico, da lembi di mucosa contaminante (mucosa gastrica, duodenale, epitelio esofageo) che generalmente è presente nella maggior parte dei prelievi. Quando è rappresentato da elementi infiammatori, da necrosi esclusiva, da elementi benigni, è necessario confrontarsi con l'endoscopista ed essere concordanti sul giudizio. Se i dati clinico strumentali orientano nel senso della malignità della lesione è necessario ripetere il prelievo (errore di centratura, prelievo troppo periferico).
 - 4) se adeguato, formulare un primo giudizio orientativo diagnostico.
 - 5) Triage: la prima impressione può costituire la base decisionale per successivi approfondimenti tecnici che possono risultare determinanti per la accuratezza della diagnosi finale.
- a) se prelevato materiale liquido, parte deve essere inviata per la valutazione laboratoristica di tipo biochimico. La parte restante viene processata nel laboratorio di anatomia patologica per ottenere un cell block. Sulle sezioni seriate si possono eseguire le colorazioni istochimiche per le mucine (Pas Pas Diastase, alcian Blu Mucine) e numerose colorazioni immunoistochimiche.
- b) nel sospetto di una malattia linfoproliferativa, conviene far eseguire un secondo campionamento che viene fissato in specifico buffer separato ed inviato nel laboratorio dedicato alla citoflussimetria. Quando non è possibile ripetere il campionamento, si può comunque utilizzare il materiale incluso in paraffina e procedere con tecniche di biologia molecolare alla valutazione della clonalità (riarrangiamento genico), oppure si possono eseguire reazioni di ibridizzazione in situ per la ricerca del virus di Epstein e Barr in caso di sospetto di Linfoma di Burkitt.
- c) nel sospetto di una patologia infettiva (anche sulla base della storia clinica), quando nello striscio siano presenti elementi infiammatori granulocitari o materiale necrotico, è opportuno prevedere un campione da inviare presso la microbiologia, e programmare sul materiale incluso in paraffina eventuali colorazioni speciali come la Ziehl Neelsen, l'impregnazione argentea, fino alla ricerca del bacillo di Koch con tecniche di Polimerase Chain Reaction (PCR).
- d) se la morfologia delle cellule presenti nel preparato estemporaneo sono morfologicamente compatibili con una differenziazione neuroendocrina (cellule monomorfe , con aspetto plasmocitoide, nucleo regolare con cromatina finemente dispersa a “ sale e pepe”, si può programmare l'allestimento preventivo di sezioni seriate su vetrini dedicati per l'immunocitochimica (reazioni con anticorpi anti Cromogranina A, Synaptofisina, Ki 67 etc).
- e) se il quesito clinico è quello di una lesione metastatica, si può cercare di caratterizzare l'origine della lesione con vari profili di reazioni di immunoistochimica, programmando anche in questo caso un certo numero di sezioni seriate .

L'albero decisionale che deriva da questa schematizzazione, consente di accelerare i tempi della diagnosi e di raggiungere un maggior grado di accuratezza diagnostica.

Alcuni studiosi si sono interrogati sul costo della presenza del citopatologo e della sua consulenza. Nasuti e coll. hanno recentemente rivisto una casistica di 5688 casi in un periodo di 5 anni, in cui era stata eseguita una valutazione on-site da parte del citopatologo ed hanno cercato di quantificarne il costo. La quota di non idonei era dello 0,98%. Basandosi su questi risultati, gli autori hanno calcolato matematicamente, usando come ipotetica quota di non idonei del 20%, quando il citopatologo non è presente (dati della letteratura), che la valutazione estemporanea ha consentito un risparmio di 404.000 \$ per anno, considerando la riduzione dei costi delle procedure

aggiuntive dovute al non raggiungimento della diagnosi finale. Alcuni ecoendoscopisti hanno provato a valutare da soli gli estemporanei dopo un breve training citopatologico, ma il risultato è stato inferiore se comparato alla presenza del citopatologo.

Bibliografia:

1. Rocca R, De Angelis C, Daperno M, Carucci P, Ravarino N, Bruno M, Crocellà L, Lavagna A, Fracchia M, Pacchioni D, Masoero G, Rigazio C, Ercole E, Sostegni R, Motta M, Bussolati G, Torchio B, Rizzetto M, Pera A. Endoscopic ultrasound-fine needle aspiration (EUS-FNA) for pancreatic lesions: effectiveness in clinical practice. Dig Liver Dis. 2007 Aug;39(8):768-74.
2. Campisi P, Accinelli G, De Angelis C, Pacchioni D, Bussolati G. [On-site evaluation and triage for endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration cytology. The Turin experience]. Minerva Med. 2007 Aug;98(4):395-400.

TUMORI DELLA PROSTATA

TIPO DI MATERIALE IN ESAME – PROCEDURA

- Agobiopsia: sede unica (codice tariffario 91.44.1) o multiple (non esiste attualmente nel tariffario un codice) NT gruppo 3
- TURP (resezione transuretrale): NT gruppo 3
- Adenomectomia: NT gruppo 4
- Prostatectomia sovrapubica - Prostatectomia radicale: NT gruppo 5
- NT= Nomenclatore Tariffario

INFORMAZIONI MINIME INDISPENSABILI DA RIPORTARE NEL REFERTO

- Tipo di materiale in esame
- Procedura diagnostica o chirurgica adottata
- PSA, DRE, terapie in atto, con particolare riguardo alla somministrazione di anti-androgeni, LHRH
- analoghi e finasteride
- Precedenti o concomitanti neoplasie.

AGOBIOPSIA PROSTATICA

(MANDATORIO PER IL PROTOCOLLO DI SORVEGLIANZA ATTIVA)

N. prelievi da eseguirsi: non meno di 10 prelievi (almeno un prelievo dalle singole sedi apice, base, transizionale, ecc lobo destro e lobo sin; minimo 5 prelievi per lobo). La modalità usata per il prelievo biotico (trans rettale o trans perineale non influisce sulla validità del prelievo).

Invio del materiale: i prelievi devono essere inviati preferibilmente utilizzando le biocassette e accorpando non più di 2 frustoli in una unica biocassetta. Non si ritiene fondamentale la chinatura del frustolo. Deve invece essere indicata la sede esatta di ciascun prelievo o alternativamente bisogna essere in grado di risalire alla sede del prelievo.

Modalità di allestimento dei preparati: raccomandata la presenza su un unico vetrino di almeno 3 sezioni del materiale incluso in paraffina

Valutazione macroscopica: numero e lunghezza delle biopsie. La misurazione può essere fatta (se le biopsie sono state inviate in contenitori in formalina) al momento dell'allestimento delle biocassette o (se il materiale è già stato inviato nelle biocassette) direttamente sul vetrino. Ogni singolo frustolo deve misurare almeno 1 cm. In assenza di ghiandole si referta in base al tipo di materiale: es: "Frammento di tessuto fibroadiposo", "Frammento di connettivo fibromuscolare", "Frammento di tessuto fibroleiomiomatoso" ecc

Valutazione microscopica: deve essere specificata la diagnosi per ciascun frustolo, sono ammessi sistemi riassuntivi non equivoci e deve riportare:

- **Istotipo** secondo la classificazione W.H.O.
- **Grado di malignità** secondo il sistema di Gleason (indicare sempre quale sistema è stato usato, classico, ISUP 2005, ISUP 2005 modificato come suggerito da SIAPEC Piemonte).
- **Numero di biopsie** in cui è presente la neoplasia. Se il patologo ritiene il materiale esaminato non sufficiente per esprimere un "Gleason Score", il punteggio del Gleason può non essere indicato.
- **Percentuale di interessamento** da parte della neoplasia del frustolo. In caso di foci multipli di carcinoma la percentuale deve essere calcolata considerando anche il tessuto interposto tra i foci neoplastici (sovente la parte periferica di una neoplasia prostatica presenta un aspetto ramificato, è pertanto possibile che un frustolo proveniente dalla periferia del tumore riporti multipli focolai di carcinoma prostatico in realtà parte della stessa massa tumorale ma semplicemente prelevati dalla periferia).
- **Invasione perineurale**, se presente.

Il patologo può dare un giudizio diagnostico di Dubbio di carcinoma prostatico quando non sono applicabili tutti i criteri diagnostici, indipendentemente dalla soglia dimensionale che può anche essere del 5% e solo dopo una revisione del preparato tra pari o ad un patologo “esperto”.

EVENTUALE PRESENZA DI PIN UTILIZZANDO LA CLASSIFICAZIONE: PIN a basso grado e PIN ad alto grado. E' consigliabile segnalare solo la presenza di PIN ad alto grado e la sua estensione (micro focolaio o presenza).

I CRITERI DI ASAP. IPERPLASIA ADENOMATOSA ATIPICA, ADENOCARCINOMA MICROINVASIVO, MICROFOCOLAIO DI ADENOCARCINOMA sono ancora quelli identificati e descritti nella precedente stesura delle linee guida della regione Piemonte per il carcinoma prostatico.

TURP

E' IMPORTANTE CHE SIA SEMPRE INDICATO IL VALORE DEL PSA: con valori di PSA > 4 ng/ml è consigliabile un campionamento per quanto possibile completo per i primi 40 grammi.

E' IMPORTANTE CHE SIA RIPORTATA DA PARTE DELL'UROLOGO L'INDICAZIONE:

- f) **TERAPEUTICA** che richiede una precisazione dettagliata di tutte le analisi fatte per escludere una neoplasia e il campionamento secondo le linee guida dell'American College of Pathology (CAP): processare tutto il materiale sino a 12 gr di peso in 6-8 cassette e allestire una biocassetta per ogni 5 grammi in più di materiale. Se c'è l'indicazione di “carcinoma” si processa tutto.
- g) **DIAGNOSTICO-TERAPEUTICA** che richiede da parte degli urologi la raccolta del materiale separato per sedi come per le biopsie e l'inclusione in toto di tutto il materiale.

DESCRIZIONE MACROSCOPICA

Precisare: peso e/o quantità in cc del materiale (tenuto conto che ogni cassetta di inclusione contiene circa 3 cc di materiale).

DIAGNOSI MICROSCOPICA

Quando è presente il carcinoma, precisare:

- **Istotipo** secondo classificazione W.H.O.
- **Grado secondo Gleason** come per l'agobiopsia.
- **Percentuale** di parenchima neoplastico (in rapporto al parenchima resecato). Opzionale l'indicazione del numero di focolai.
- **Eventuale invasione perineurale**
- **Eventuale presenza di PIN** utilizzando la classificazione : PIN a basso grado e PIN ad alto grado. E' consigliabile segnalare solo la presenza di PIN ad alto grado e la sua estensione (microfocolaio o presente).

ADENOMECTOMIA

Invio del materiale: è preferibile che il materiale giunga orientato (filo o china sul lobo destro; oppure campioni separati per il lobo destro e il lobo sinistro e se c'è un campione separato per il lobo intermedio) da parte dell'urologo perché in caso di carcinoma possa essere indicata la mono o la bilateralità.

PROCEDURA

- Quando l'adenomectomia é unica, indicare la superficie esterna del pezzo operatorio con spennellatura d'inchiostro di china secondo le procedure proprie di ogni servizio di Anatomia Patologica per evitare l'eluizione della china nella formalina.
- E' consigliabile lasciare il pezzo a fissare in formalina per 24 ore. In questo caso é possibile prima iniettare nel pezzo formalina con l'aiuto di una siringa.
- Campionamento: prelevare tutte le aree sospette. In ogni caso effettuare almeno un prelievo per campione pervenuto o più prelievi se il nodulo è molto grande, prediligendo le aree periferiche dove la presenza di un focolaio di carcinoma è maggiormente indicativa di un residuo tumorale.

DESCRIZIONE MACROSCOPICA

- segnalare se il materiale è giunto fissato, fresco, previamente sezionato.
- descrivere diametri, peso, superficie di taglio (noduli, neoplasia, presenza di necrosi).

DESCRIZIONE MICROSCOPICA

Quando è presente il carcinoma, precisare:

- **Istotipo** secondo classificazione W.H.O.
- **Grado secondo Gleason** come già visto per le ago biopsie e per la TURP
- **Numero di focolai** neoplastici (come già visto per le ago biopsie e per la TURP) e **le dimensioni di quello maggiore o la percentuale** di parenchima neoplastico.
- **Eventuale invasione perineurale**
- **Eventuale presenza di PIN** utilizzando la classificazione : PIN a basso grado e PIN ad alto grado. E' consigliabile segnalare solo la presenza di PIN ad alto grado e la sua estensione (microfocolaio o presente).

PROSTATECTOMIA

Invio del campione: è preferibile che il materiale chirurgico giunga contrassegnato da un punto chirurgico lungo sul lobo destro per poter facilitare il patologo ad un orientamento corretto del pezzo operatorio.

PROCEDURA

MANDATORIO il campionamento in toto. FACOLTATIVO l'uso di macrosezioni.

MANDATORIA la chinatura del pezzo operatorio su tutta la superficie esterna.

MIGLIORE FISSAZIONE: iniettare formalina tamponata in entrambi i lobi con l'aiuto di una siringa. Questa procedura risulta molto utile se si effettuano le macrosezioni.

Lasciare poi il pezzo a fissare in formalina per almeno 24 ore.

DESCRIZIONE MACROSCOPICA

- Orientare l'organo
- Descrivere diametri, peso, superficie di taglio (noduli iperplastici, neoplasia, presenza di necrosi).
- Descrivere diametro, sede e aree di infiltrazione di eventuali nodi macroscopicamente neoplastici.

Eseguire campionamenti del pezzo operatorio tenendo conto della stadiazione:

Importante è che (per la stadiazione) siano riconoscibili i seguenti prelievi:

- EMIAPICE DESTRO
- EMIAPICE SIN
- EMIBASE DESTRO
- EMIBASE SIN
- LOBO DESTRO (PORZIONE ANTERIORE E POSTERIORE)
- LOBO SIN (PORZIONE ANTERIORE E POSTERIORE)

DESCRIZIONE MACROSCOPICA:

In caso di neoplasia indicare:

- **Istotipo** secondo classificazione W.H.O.
- **Grado** secondo il sistema di Gleason come già visto per le biopsie (nei casi in cui il paziente ha effettuato terapia preoperatoria è obbligatorio indicare il limite di tale sistema in quanto non attendibile a causa delle alterazioni iatrogene). E' consigliabile indicare il Gleason's pattern in rapporto con il margine positivo.
- **Tutti i dati necessari alla formulazione del pTNM** riguardanti l'estensione della neoplasia: rapporti con la capsula, estensione ad uno o ad entrambi i lobi, rapporti con le vescicole seminali, eventuale invasione delle strutture adiacenti.
- **Rapporti tra neoplasia e margini indicati in inchiostro di china segnalando quali e quanti sono i margini di resezione chirurgica positivi (R).**
- **Estensione del margine interessato dalla neoplasia:** (micro focale, non focale cioè < 3 mm ed estesa > 3 mm) (Portiglia et al, World J Urol 2012 Apr; 30(2):245-50).
- **Numero dei linfonodi metastatici.**
- **Estensione perilinfonodale** delle metastasi, se presente.
- La diagnosi finale deve essere comprensiva di **pTNM**, tranne in quei casi dove per la sua formulazione sono necessari dati clinici non disponibili. Consigliabile indicare l'estensione

extraprostatica del T3a (estensione radiale massima misurata oppure valutazione semiquantitativa focale vs establish. Al momento manca accordo sul cut off focal vs establish. Proposta più accreditata: 0,75 mm).

- **Eventuale invasione perineurale e perivascolare.**

N.B.: Rimane facoltativa la valutazione del volume in quanto esistono molti studi che ne mettono in dubbio l'utilità (nello studio di Bollito et al il volume correla con la ripresa biochimica ma non con l'overall survival). Se si vuole usarlo è consigliabile il protocollo di Stanford con le poche modifiche introdotte da Montironi et al (Pathologica 2001; 93(3):226-32)

FACOLTATIVA LA SEGNALAZIONE DI PRESENZA DI:

- eventuale PIN.
- alterazioni da terapia ormonale o da radioterapia (Mandatorio riportare il suffisso "Y" nel TNM)

CLASSIFICAZIONE TUMORI DELLA PROSTATA (W.H.O. - 2002)

(Morphology code of the International Classification of Diseases for Oncology (ICD-0) (808) and the Systematized Nomenclature of Medicine (<http://snomed.org>))

Tumori epiteliali

Neoplasie di tipo ghiandolare

Adenocarcinoma (acinare)

- Atrofico
- Pseudoiperplastico
- A cellule schiumose
- Mucinoso
- A cellule con castone
- Oncocitico
- Linfoepitelioma-like

Carcinoma con differenziazione a cellule fusate (carcinosarcoma, carcinoma sarcomatoide)

Neoplasia intraepiteliale prostatica (PIN)

Neoplasia intraepiteliale prostatica, grado III (PIN III; PIN DI ALTO GRADO)

Adenocarcinoma duttale

- Cribriforme
- Papillare
- Solido

Neoplasie di tipo uroteliale

- Carcinoma uroteliale

Neoplasie di tipo squamoso

- Carcinoma squamocellulare
- Carcinoma adenosquamoso

Neoplasie a cellule basali

f) Carcinoma a cellule basali

g) Adenoma a cellule basali

Tumori neuroendocrini

- Adenocarcinoma con differenziazione neuroendocrina
- Carcinoide
- Carcinoma a piccole cellule
- Paraganglioma
- Neuroblastoma

Tumori prostatici stromali

- Tumori stromali di incerto potenziale di malignità
- Sarcoma stromale

Tumori mesenchimali

- Leiomiosarcoma
- Rhabdomyosarcoma
- Condrosarcoma
- Angiosarcoma

- Istiocitoma fibroso maligno
- Tumore maligno delle guaine dei nervi periferici
- Emangioma
- Condroma
- Leiomioma
- Tumore a cellule granulose
- Emangiopericitoma
- Tumore fibroso solitario

Tumori del tessuto emolinfopoietico

- Linfoma
- Leucemia

Miscellanea

- Cistoadenoma
- Nefroblastoma (tumore di Wilms)
- Tumore rabdoide
- Tumore a cellule germinali
 - o Tumore del sacco vitellino
 - o Seminoma
 - o Carcinoma Embrionale e teratoma
 - o Coriocarcinoma
- Adenocarcinoma a cellule chiare
- Melanoma

Tumori secondari

SISTEMA DI GLEASON

Il sistema Gleason propone 5 gradi per il carcinoma della prostata. Il patologo deve individuare i due gradi predominanti nel preparato che, sommati tra loro, danno lo score finale che possiede significato prognostico.

Il sistema va applicato con i seguenti criteri:

- Quando ci sono più di due pattern il pattern n 1 è il predominante e il pattern n 2 è il secondo predominante
- Quando la neoplasia si presenta con un solo pattern va duplicato il pattern per arrivare alla formulazione dello score finale (3+3=6).
- Se nella biopsia ci sono più di due pattern e il peggiore non fa parte dei primi due pattern predominanti va scelto quello quantitativamente predominante come primo e quello peggiore come secondo (es: grado 3 = 60%, grado 1 = 30%, grado 4 = 10% lo score sarà 3+4=7).

Bibliografia

Gleason D.: Histologic grading and clinical staging of prostatic carcinoma, in Tannenbaum (ed): Urologic Pathology: The Prostate. Philadelphia, Lea & Febiger, 1977, pp 171-198

pTNM PROSTATA

N.B. E' MANDATORIO UTILIZZARE L'ULTIMA VERSIONE PUBBLICATA.

Si applica solo agli adenocarcinomi.

I carcinomi di tipo uroteliale sono classificati come carcinomi dell'uretra.

È necessaria la conferma istologica della neoplasia.

QUI DI SEGUITO VIENE RIPORTATA LA 7° EDIZIONE.

E' IN CORSO LA REVISIONE E LA REDAZIONE DELL'8° EDIZIONE

pT – Tumore primitivo

- pTX: tumore primitivo che non può essere evidenziato
- pT0: tumore primitivo non evidenziabile

- T1: tumore clinicamente inapparente (applicato su materiale da TURP)
- T1a: < 5% del parenchima resecato;
- T1b: > 5% del parenchima resecato o Gleason score >7.
- pT2: tumore organo confinato
- pT2a: tumore esteso a ½ di un lobo o meno
- pT2b: tumore esteso a > ½ di un lobo
- pT2c: tumore esteso ad entrambi i lobi
- pT3: tumore che supera la capsula
- pT3a: estensione extracapsulare (mono- o bilaterale)
- pT3b: invasione delle vescicole seminali
- pT4: tumore fisso o che invade strutture adiacenti oltre alle vescicole seminali: collo della vescica, sfintere esterno, retto, muscoli elevatori e/o parete pelvica.

pN – Linfonodi regionali

- pNX Linfonodi regionali non valutabili
- pN0 Linfonodi regionali liberi da metastasi
- pN1 Linfonodi regionali con metastasi

pM – Metastasi a distanza

- MX Metastasi a distanza non accertabili
- M0 Metastasi a distanza assenti
- M1 Metastasi a distanza presenti
- M1a Linfonodo(i) non regionale(i)
- M1b Osso(a)
- M1c Altra(e) sede(i)

G – Grading istopatologico

- GX il grading istopatologico non può essere accertato
- G1 ben differenziato (lieve anaplasia) Gleason 2 – 4
- G2 moderatamente differenziato (moderata anaplasia) Gleason 5 – 6
- G3-G4 scarsamente differenziato/indifferenziato (severa anaplasia) Gleason 7 – 10

RAGGRUPPAMENTO IN STADI

Secondo UICC / TNM

Stadio I	T1a	N0	M0	G1
Stadio II	T1a T1b T1c T2	N0	M0	G2, 3-4 ogni G
Stadio III	T3	N0	M0	ogni G
Stadio IV	T4 ogni T	N0 N1 ogni N	M0 M0 M1	ogni G

TUMORI DELLO STOMACO

Applicabile a tutti i carcinomi invasivi dello stomaco, esclusi i tumori della giunzione esofago-gastrica

PRELIEVI BIOPTICI: è opportuno, quando possibile, specificare il tipo istologico (sec. Lauren e/o sec. W.H.O.), il grado di differenziazione e l'eventuale presenza di invasione neoplastica vasculo-linfatica.

ESAME MACROSCOPICO

Resezioni endoscopiche (EMR-ESD)

Il campione va fissato in formalina su supporto rigido (es. sughero) con superficie mucosa rivolta verso l'alto. L'endoscopista deve contrassegnare con punto di repere il margine prossimale e quello distale. Bisogna tatuare i margini di resezione con inchiostro di china ed eseguire sezioni seriate a distanza di 2 mm, lungo l'asse trasversale.

Occorre descrivere:

- dimensioni del campione (lunghezza, larghezza e spessore)
- dimensioni del tumore
- distanza del tumore dai margini
- tipo di tumore (usare la classificazione della J.S.G.E.)

Pezzo operatorio da resezione chirurgica (early gastric cancer)

Occorre descrivere:

- tipo di campione (gastrectomia sub-totale o totale, altro)
- sede del tumore
- dimensioni del tumore
- distanza del tumore dai margini
- tipo di tumore (usare la classificazione della J.S.G.E.)

Pezzo operatorio da resezione chirurgica (carcinoma gastrico avanzato)

Occorre descrivere:

- tipo di campione (gastrectomia sub-totale o totale, altro)
- sede del tumore
- dimensioni del tumore
- distanza del tumore dai margini
- tipo di tumore (usare la classificazione di Borrmann)

ESAME MICROSCOPICO

Resezioni endoscopiche (EMR-ESD) e pezzo operatorio da resezione chirurgica (early gastric cancer)

Occorre descrivere:

- tipo istologico (sec. W.H.O. e classificazione di Lauren)
- grado istologico (sec. W.H.O.)
- massima infiltrazione tumorale della parete
- pattern di infiltrazione tumorale secondo Kodama (vedi allegato)
- invasioni vasculo-linfatiche
- stato dei margini
- numero di linfonodi e numero di metastasi linfonodali
- stadiazione sec. TNM

Pezzo operatorio da resezione chirurgica (carcinoma gastrico avanzato)

Occorre descrivere:

- tipo istologico (sec. W.H.O. e classificazione di Lauren)
- grado istologico (sec. W.H.O.)
- massima infiltrazione tumorale della parete
- invasioni vasculo-linfatiche
- stato dei margini
- numero di linfonodi totali e numero di metastasi linfonodali
- stadiazione sec. TNM

TIPO DI INTERVENTO

Resezione endoscopica

Gastrectomia parziale (prossimale, distale, altro)

Gastrectomia totale

SEDE DEL TUMORE

- Fondo (specificare se parete anteriore o posteriore)
- Corpo (specificare se parete anteriore, posteriore, piccola o grande curva)
- Antro (specificare se parete anteriore, posteriore, piccola o grande curva)
- Altra sede (specificare quale)

DIMENSIONI DEL TUMORE

Diametro maggiore: cm

DESCRIZIONE MACROSCOPICA DEL TUMORE

(Early Gastric Cancer)

- **Tipo I Esofitico (polipoide):** Il tumore protrude al di sopra della superficie della mucosa per più di 0,5 cm in spessore
Tipo II Superficiale
IIa Elevato: Elevazione piatta che ispessisce la mucosa, per meno di 0,5 cm in spessore
IIb Piatto: Minima o nessuna alterazione dello spessore della mucosa
IIc Depresso: Erosione superficiale e leggermente depressa
- **Tipo III Escavato:** Depressione prominente, caratterizzata da una escavazione simile ad ulcera.

Carcinoma gastrico avanzato:

- Polipoide (tipo 1 sec. Borrmann)
- Fungoide (tipo 2 sec. Borrmann)
- Ulcerato (tipo 3 sec. Borrmann)
- Diffusamente infiltrante (tipo 4 sec. Borrmann)

TIPO ISTOLOGICO

Classificazione WHO

Adenocarcinoma

- Adenocarcinoma papillare
- Adenocarcinoma tubulare
- Adenocarcinoma mucinoso
- Carcinoma scarsamente coesivo (incluso il carcinoma a cellule ad anello con castone e altre varianti)
- Adenocarcinoma misto
- Carcinoma adenosquamoso
- Carcinoma con stroma linfoide (carcinoma midollare)
- Adenocarcinoma epatoide
- Carcinoma squamoso
- Carcinoma indifferenziato

Neoplasie neuroendocrine

- Tumori neuroendocrini (NET)
- NET G1 (carcinoide)
- NET G2
- Carcinoma neuroendocrino (NEC)
- Carcinoma neuroendocrino a grandi cellule
- Carcinoma neuroendocrino a piccole cellule
- Adenocarcinoma misto a carcinoma neuroendocrino

Si può associare la classificazione di Laurén (tipo intestinale e tipo diffuso).

GRADO ISTOLOGICO

- Non applicabile
- GX: non attribuibile
- G1: ben differenziato

- G2: moderatamente differenziato
- G3: scarsamente differenziato
- G4: indifferenziato
- Altro (specificare)

ESTENSIONE MICROSCOPICA DEL TUMORE

- Displasia di alto grado/carcinoma in situ (neoplasia intraepiteliale)
- Tumore invade la lamina propria
- Tumore invade la muscularis mucosae
- Tumore invade la sottomucosa
- Tumore invade la muscolaris propria
- Tumore invade la tessuto connettivo sottosieroso
- Tumore perfora la sierosa (peritoneo viscerale)
- Tumore invade direttamente struttura adiacenti: specificare quali
- Tumore perfora la superficie del peritoneo viscerale e invade direttamente le strutture adiacenti: specificare quali

MARGINI DI RESEZIONE

Margine prossimale:

- non è valutabile
- non è interessato dal carcinoma invasivo o da carcinoma in situ
- interessato dal carcinoma invasivo
- interessato dal carcinoma in situ
- interessato dalla displasia ghiandolare di basso o alto grado

Margine distale:

- non è valutabile
- non è interessato dal carcinoma invasivo o da carcinoma in situ
- interessato dal carcinoma invasivo
- interessato dal carcinoma in situ
- interessato dalla displasia ghiandolare di basso o alto grado

Margine radiale (omentale):

- non è valutabile
- non è interessato dal carcinoma invasivo
- il margine del piccolo omento è interessato dal carcinoma invasivo
- il margine del grande omento è interessato dal carcinoma invasivo

Margine profondo (si applica alle resezioni endoscopiche):

- non è valutabile
- non è interessato dal carcinoma invasivo o da carcinoma in situ
- interessato dal carcinoma invasivo
- interessato dal carcinoma in situ
- interessato da displasia di basso o alto grado
- non applicabile

Se tutti i margini non sono interessati da tumore indicare:

- distanza minima dal carcinoma invasivo del margine più vicino (specificare quale): mm

Margine mucoso laterale (si applica alle resezioni endoscopiche):

- non è valutabile
- non è interessato dal carcinoma invasivo o da carcinoma in situ
- interessato dal carcinoma invasivo
- interessato dal carcinoma in situ
- interessato da displasia di basso o alto grado
- non applicabile

Invasioni vasculo-linfatiche:

- presenti
- assenti

Invasioni perineurali:

- presenti

- assenti

Valutazione della risposta alla terapia neoadiuvante:

- assenza di cellule tumorali (grado 0)
- singole cellule o piccoli gruppi di cellule tumorali (grado 1)
- residuo tumorale associato a fibrosi (grade 2)
- esteso residuo tumorale (grade3)

Stadiazione patologica (pTNM)

Tumore primitivo:

- pTX: non determinabile
- pT0: non evidenza di tumore
- pTis: displasia di alto grado / carcinoma in situ
- pT1: tumore che invade la lamina propria, muscularis mucosae o sottomucosa
- pT1a: tumore che invade la lamina propria, muscularis mucosae
- pT1b: tumore che invade la sottomucosa
- pT2: tumore che invade la muscularis propria
- pT3: tumore che invade il connettivo sottosieroso, senza coinvolgimento del peritoneo viscerale o delle strutture adiacenti
- pT4: tumore che invade la sierosa (peritoneo viscerale) o strutture adiacenti
- pT4a: tumore che invade la sierosa (peritoneo viscerale)
- pT4b: tumore che invade le strutture adiacenti

Linfonodi regionali:

- pNX: non valutabili
- pN0: assenza di metastasi nei linfonodi regionali
- pN1: metastasi in 1-2 linfonodi perigastrici
- pN2: metastasi in 3-6 linfonodi perigastrici
- pN3: metastasi in 7 o più linfonodi perigastrici
- pN3a: metastasi in 7-15 linfonodi perigastrici
- pN3b: metastasi in 16 o più linfonodi perigastrici

Metastasi a distanza:

- non valutabili
- pM1: metastasi a distanza (specificare la sede)

Caratteristiche patologiche aggiuntive:

- metaplasia intestinale
- displasia
- gastrite
- Helicobacter pylori
- Polipi
- Altro (specificare)

Indagini immunoistochimiche e di biologia molecolare:

- Valutazione di HER 2 (fare riferimento alle raccomandazioni AIOM-SIAPEC)
- Altro (specificare)

Bibliografia

- h) Bosman FT, Carreiro F, Ralph H. Hruban, Teise N, eds. World Health Organization Classification of Tumours of the digestive System, 2010.
- i) Borrmann R. Geschwulste des Magens und Duodenums. In: Henke F, Lubarch O, editors. Handbuch der speziellen pathologischen anatomie und histologie. Berlin: Springer Verlag; 1926.
- j) The Paris endoscopic classificatin of superficial neoplastic lesions: esophagus, stomach and colon: Nov 30 to Dec 1,2002. Gastrointest Endosc 2003 Dec; 58 (6 suppl): S3-43.
- k) Muakami T. Early cancer of the stomach. World J Surg vol.3, n°6,1979; 685-692.
- l) Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma. Acta Pathol Microbiol Scand. 1965,64:31-49.
- m) Tsujitani S, et al. Less invasive surgery for early gastric cancer based on the low probability

of lymph node metastasis. Surgery 1999; 125 (2):148-54 (59).

n) Ryan R, Gibbons D, Hyland JMP, et al. Pathological response following long-course neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. Histopathology. 2005; 47:141-146.

o) Talamonti MS, Kim SP, Yao KA, et al. Surgical outcomes of patients with gastric carcinoma: the importance of primary tumor location and microvessel invasion. Surgery. Oct 2003; 134(4):720-729.

p) Mansour JC, Tang L, Shah M, et al. Does graded histologic response after neoadjuvant chemotherapy predict survival for completely resected gastric cancer? Ann Surg Oncol. 2007;14:3412-3418.

q) Fotia G, Marrelli D, De Stefano A, Pinto E, Roviello F. Factors influencing outcome in gastric cancer involving muscularis and subserosal layer. Eur J Surg Oncol. 2004; 30(9):930-934.

r) An jy, Baik YH, Choi MG, Noh JH, Sohn TS, Kim S. Predictive factors for lymphnode metastasis in early gastric cancer with submucosal invasion: analysis of a single institutional experience. Ann Surg. 2007; 246 (5):749-753.

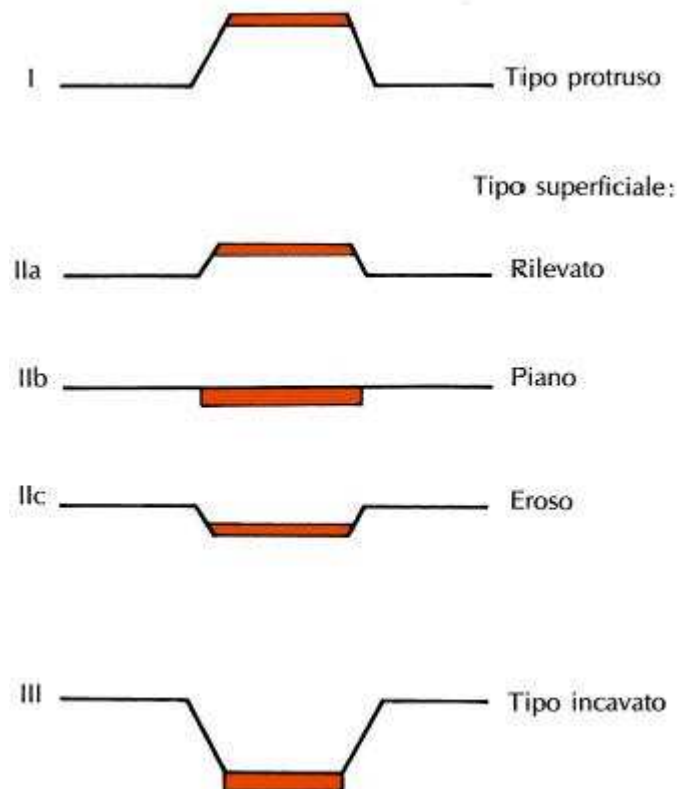
s) Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open label, randomised controlled trial. Lancet.2010; 376(9742):687-697.

t) Hofman M, Stoss O, Shi D, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. Histopathology.2008;52(7):797-805.

u) Albarello L, Pecciarini L, Doglioni C. HER2 testing in gastric cancer. Adv Anat Pathol.2011; 18(1):53-59.

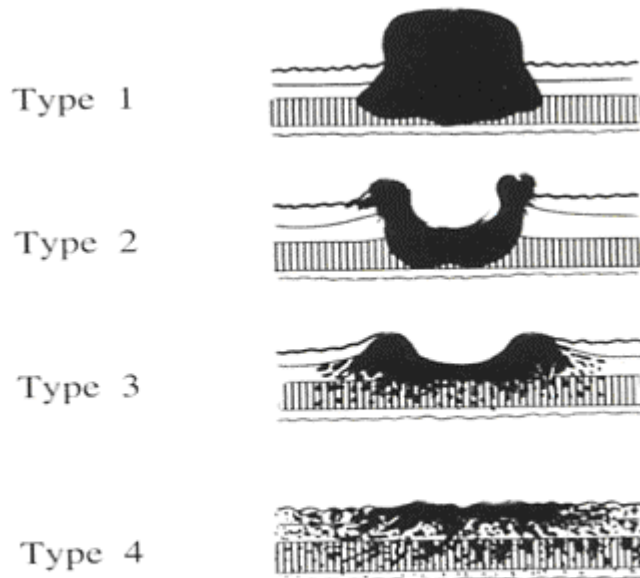
v) Kodama et al. Growth patterns and prognosis in early gastric cancer. Superficially spreading and penetrating growth types. Cancer 1983;51:320-326.

CLASSIFICAZIONE SEC. J.S.G.E.



<i>Tipo</i>	<i>Definizione</i>	<i>Macroscopia</i>
I	Protrudente	Lesione vegetante polipoide.
II a	Superficiale rilevato	Lesione piatta che ispessisce la mucosa, per meno di 0.5 cm.
II b	Superficiale piatto	Lesione senza rilievo della mucosa.
II c	Superficiale depresso	Lesione simil-ulcerosa, la cui base è costituita da neoplasia.
III	Ulcerato	Lesione ulcerata, neoplasia limitata dai bordi dell'ulcerazione.

CLASSIFICAZIONE DI BORRMANN



CLASSIFICAZIONE SEC. KODAMA

	<i>Tipo EGC</i>		
	<i>Small mucosal (≤ 4 cm)</i>	<i>Pen A</i>	<i>Pen B</i>
	<i>Super (> 4 cm)</i>		
Invasione sottomucosa	assente/lieve	profonda	profonda
Modalità di crescita	=	espansivo	infiltrante
<i>Muscularis mucosae</i>	=	distrutta	fenestrata
Tipo istologico	intestinale o diffuso	intestinale	diffuso
Invasione venosa	no	frequente	no
Metastasi linfonodi	rare	frequenti	rare
Metastasi epatiche	no	entro 3 anni	no

TUMORE MUSCOLO INVASIVO DELLA VESCICA

1.1 NOTIZIE CLINICO-ANAMNESTICHE

Devono essere fornite dall'urologo all'anatomo-patologo ed accompagnare l'invio del materiale per l'esame istologico. Sono indispensabili all'anatomo-patologo per l'inquadramento diagnostico.

- Patologie urologiche concomitanti: ostruzioni, calcolosi, procedure invasive tratto urinario ==> utili nella valutazione di mapping biottico
- Referto cistoscopico: informazioni su sede, estensione e caratteristiche morfologiche della lesione (biopsie e TURB)
- Precedente diagnosi di neoplasia: tipo istologico, grado, sede.
- Riportare eventuali terapie antineoplastiche (intravesicali, sistemiche, immunoterapia, radioterapia) e loro durata

CLASSIFICAZIONE TNM E GRADING

Viene raccomandato l'utilizzo dell'ultimo TNM (attualmente quello della 7° edizione; versione italiana 2010)

T - TUMORE PRIMARIO

Tx	Tumore primitivo non accertato
T0	Non evidenza di tumore
Ta	Carcinoma papillare non invasivo
Tis	Carcinoma "in situ"
T1	Tumore che invade il connettivo sub-epiteliale
T2	Tumore che invade il muscolo
T2a	Tumore invade il muscolo ½ interna
T2b	Tumore invade il muscolo ½ esterna
T3	Tumore che invade il grasso perivescicale
T3a	Microscopicamente
T3b	Macroscopicamente (massa extravesicale)
T4	Tumore che invade le seguenti strutture: prostata, utero vagina, parete pelvica, parete addominale
T4a	Invasione di prostata, utero o vagina
T4b	Invasione di parete pelvica o addominale

N- LINFONODI

Nx	Linfonodi regionali non valutabili
N0	Non metastasi
N1	Metastasi in un singolo linfonodo nella pelvi vera (ipogastico, otturatorio, iliaco esterno o pre-sacrale)
N2	Metastasi in più di un linfonodo nella pelvi vera (ipogastico, otturatorio, iliaco esterno o pre- sacrale)
N3	Metastasi nel/nei linfonodo/i iliaco/i comune/i

M-METASTASI A DISTANZA

M0	Non metastasi
M1	Metastasi a distanza

GRADING

(<http://www.iss.it/igac/docu/cont.php?id=122&tipo=32&lang=1>)

Il grado di queste neoplasie rappresenta da oltre 30 anni argomento di dibattito serrato, in ragione della scarsa riproducibilità delle classificazioni adottate.

Il dibattito diagnostico nell'ambito del grado, protrattosi fino ad oggi nonostante il

contributo della biologia molecolare, si incentra soprattutto sulle neoplasie uroteliali papillari con scarsissime atipie citoistologiche.

Nel 2004 è stata ufficializzata la nuova classificazione WHO delle neoplasie vescicali (Eble et al., 2004) che integra con modificazioni e semplificazioni, le precedenti classificazioni e proposte di gradazione (Bergqvist mod. by Malstrom 1987; ISUP/WHO 1998; WHO 1999). Il suo avvento rinnova i concetti esposti nella classificazione WHO 1973 (Mostofi et al, 1973). Siccome la WHO 2004 (secondo le linee nazionali e internazionali) ha una maggiore riproducibilità (se pur modesta e ancora da verificare completamente) rispetto alla WHO 1973 è consigliabile usare quest'ultima o usarle entrambe.

Estratto da basi scientifiche: linee guida 2.0 Anatomia patologica (ISS) pag. 5/22

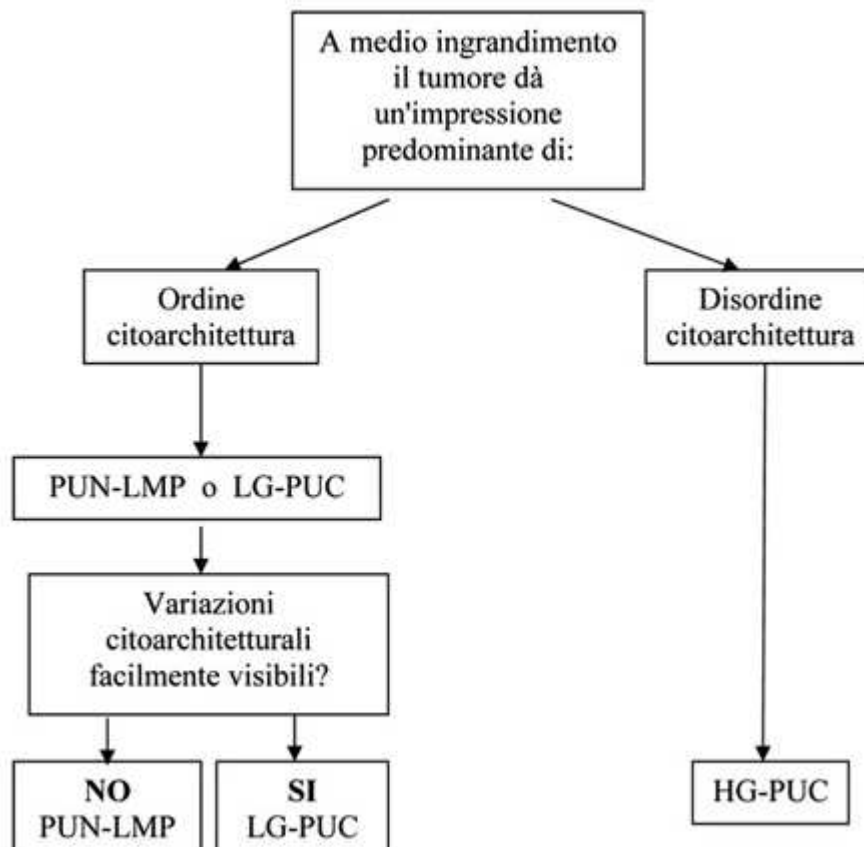
1973 WHO	2004 WHO
Papilloma	Papilloma
Grado 1	PUNLMP
Grado 2	Basso Grado
Grado 3	Alto Grado

(Lopez-Beltran e Montironi, 2004)

GRADO (WHO 2004)

- Papilloma uroteliale
- Neoplasia uroteliale papillare di basso potenziale maligno (PUNLMP)
- Carcinoma uroteliale papillare di basso grado
- Carcinoma uroteliale papillare di alto grado

Estratto da basi scientifiche: linee guida 2.0 Anatomia patologica (ISS) pag. 4/22



GESTIONE DEL MATERIALE DA PARTE DELL'UROLOGO

- Biopsie random: inviare separatamente ciascuna biopsia con indicazione della sede
- Biopsie di diverticolo vescicale: inviare separatamente biopsie di colletto e fondo diverticolare
- TURV: identificazione delle parti superficiale e profonda del tumore inviate in contenitori separati; minimizzare la cauterizzazione dei frammenti durante le manovre di prelievo
- Cistectomia: inviare sempre l'atto operatorio; ove possibile inviare il campione "a fresco"

1.4 GESTIONE DEL MATERIALE DA PARTE DEL PATOLOGO

- TURV: includere fino ad un massimo di 10 blocchetti (un blocchetto per ogni cm di tumore). Qualora si tratti di tumore muscolo-invasivo non si rendono necessari ulteriori blocchetti.
- Cistectomia: fissare i campioni con Formalina Neutra Tamponata il prima possibile dopo apertura della vescica e misurare la lunghezza dell'uretra (femminile)
- Includere almeno 3 sezioni dell'area tumorale
- Includere l'intera sezione dei margini ureterali e del margine uretrale
- Se non evidente macroscopicamente la neoplasia (per pregresse TURV o chemioterapie) prelevare tutta l'area retratta/ulcerata eventualmente evidente
- Isolare tutti i linfonodi; qualora non ben evidenti, includere l'intero materiale
- Se evidente nodulo neoplastico perivescicale, senza evidente linfonodo, considerare questo come N+
- I linfonodi vanno misurati sul vetrino

REFERTAZIONE

1.5.1 Indicare l'adeguatezza del materiale se tumore invasivo (in caso di TURV)

- Muscularis propria (muscolo detrusore) non identificata
- Muscularis propria (muscolo detrusore) presente
- Presenza di tonaca muscolare "indeterminata" (non distinguibile sicuramente se muscularis mucosae o propria)

1.5.2 Tipo istologico

- Carcinoma uroteliale
- Carcinoma uroteliale con differenziazione squamosa
- Carcinoma uroteliale con differenziazione ghiandolare
- Carcinoma uroteliale, variante istologica (specificare): _____
- Carcinoma squamoso, variante istologica (specificare): _____
- Adenocarcinoma, variante istologica (specificare): _____
- Carcinoma a piccole cellule
- Carcinoma indifferenziato (specificare): _____
- Misto (specificare): _____
- Altro (specificare): _____
- Carcinoma, istotipo non valutabile

1.5.3 Configurazione del tumore (opzionale)

- + Papillare
- + Solido/nodulo
- + Piatto

- + Ulcerato
- + Indeterminato
- + Altro (specificare): _____

1.5.4 Grado istologico

- Non applicabile
- Carcinoma uroteliale:
 - Basso grado
 - Alto grado
 - Carcinoma squamocellulare o adenocarcinoma
 - GX: grado non applicabile
 - G1: ben differenziato
 - G2: moderatamente differenziato
 - G3: poco differenziato
- Altri carcinomi (specificare): _____

Basso grado

Alto grado

1.5.5 Invasione Linfo-Vascolare

- Non identificata
- Presente
- Indeterminata

1.5.6 Categorie TNM

Suffisso “m”: presenza di tumori multipli; (pT(m)NM)

Suffisso “y”: casi in cui la classificazione è eseguita dopo o durante una terapia multimodale (neo-adiuvante, radioterapia, chemio+radioterapia) (ypTNM)

Suffisso “r”: indica un tumore ricorrente dopo documentato periodo di intervallo libero da malattia (rTNM)

1.5.7 Aspetti patologici addizionali (opzionali)

- + Aspetti infiammatori/rigenerativi
- + Modificazioni terapia-correlate
- + Cistite cistica e ghiandolare
- + Metaplasia squamosa
- + Metaplasia Intestinale
- + Altro (specificare): _____

1.5.8 Margini

- Margini non valutabili
- Margini interessati dal carcinoma invasivo
- Margine ureterale
- Margine uretrale
- Margine profondo su tessuti molli
- Margini interessati dal carcinoma “in situ”/carcinoma uroteliale di alto grado non invasivo
- Margine ureterale
- Margine uretrale
- Margini non interessati da carcinoma invasivo/in situ/ non invasivo di alto grado
- Distanza del carcinoma dal margine più vicino (specificare il margine)
- Altri aspetti sul margine
- Displasia di basso grado
- Carcinoma uroteliale di basso grado non invasivo

1.5.9 Bibliografia

- M. Babjuk , et al European Association of urology 2012. Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (TaT1 and CIS) (http://www.uroweb.org/gls/pdf/05_TaT1_Bladder_Cancer.pdf)
- Eble JN Young RH Carcinoma of the urinary bladder: a review of its diverse morphology. Semin Diagn Pathol 1997; 14(2): 98-108
- Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn JA. Tumours of the Urinary System and male Genital organs, chapter 2. WHO Lyon 2004. IARC Press.
- Lopez-Beltram A, Bollito E., Luque RJ, Vicioso L, Anglada R, A practical approach to bladder sampling and diagnostic reporting of pathological findings. Pathologica 2001a; 93 (6): 688-92
- UICC TNM Classificazione dei tumori maligni settima edizione a cura di Leslie Sobin, Mary Gospodarowicz, Christian Wittekind.(7° ed 2009) Pubblicato da Raffaello Cortina editore, Milano 2010.

TUMORI DELLE VIE BILIARI

La sensibilità e specificità della diagnosi citologica tramite Brushing in ERCP è altamente dipendente dalla localizzazione del tumore (dotto biliare comune o dotto pancreatico), dal campionamento e qualità del materiale ottenuto dall'endoscopista ed in ultimo anche dal grading del tumore.

Il materiale citologico proveniente dallo spazzolino può essere:

1) strisciato adeguatamente su vetrini e **fissato** ed opportunamente **colorato**.

Le cellule si distendono in monostrato, quando lo striscio è allestito da personale esperto, per evitare artefatti da sovrapposizione che possono limitare gravemente la lettura dei preparati.

2) **staccato** meccanicamente dalle setole con una spatolina o lametta, raccolto in un fondello, fissato ed incluso in cell block, da cui si ricavano sezioni seriate che vengono poi colorate opportunamente.

3) **incluso** completamente insieme allo spazzolino, che viene poi sezionato come una biopsia istologica, prima da una parte poi dall'altra (180°), "rasando le setole" secondo la metodica di Asioli et all.

4) **fissato** in sospensione liquida e processato tramite Thin Prep, come dal lavoro di Selvaggi SM.

Quando la lesione è estrinseca e fa massa intorno al dotto, è possibile fare un prelievo agoaspirato ecoendoguidato (eus-fna) secondo le modalità note.

In tutti i casi è assolutamente mandatoria una stretta collaborazione tra gastroenterologo e citopatologo per la valutazione dei dati clinici e l'interpretazione dei risultati citologici.

Bibliografia

1. Selvaggi SM: Cytopathology 2004; 15, 74-79.
2. Kocjan G: Diagnostic Cytopathology 1996; 16, 358-363
3. Asioli S: Am J Gastroenterol 2008; 103, 1274-1281.
4. Meara RS: Cytopathology 2006; 17, 42-49.

MELANOMA CUTANEO

A. COMPILAZIONE DELLA RICHIESTA DI ESAME ISTOLOGICO

La richiesta di esame istologico deve essere compilata dal medico che effettua l'intervento chirurgico e deve contenere le seguenti informazioni cliniche, indispensabili per un corretto esame del materiale inviato:

Età e sesso del paziente

Sede della lesione

Durata della lesione ed eventuali variazioni di forma, dimensione, superficie e colore della lesione

Tipo di prelievo: se prelievo bioptico (incisionale¹) o lesione intera (prelievo escissionale)

Precedenti anamnestici, in particolare quelli correlati con la lesione (precedenti interventi per lesioni analoghe, familiarità, malattie o alterazioni genetiche dimostrate).

Eventuale fotografia macroscopica e/o dermatoscopica della lesione²

Diagnosi clinica

Il pezzo operatorio deve pervenire al patologo intatto e immerso in liquido fissativo (formalina neutra tamponata).

B. DESCRIZIONE MACROSCOPICA

La descrizione macroscopica deve comprendere:

- Dimensioni del pezzo operatorio (lunghezza, larghezza, profondità)
- Dimensioni della lesione
- Distanza della lesione dal margine più vicino
- Aspetto dei margini (regolari, irregolari) e limiti (netti, sfumati) della lesione
- Profilo della lesione (piana, cupoliforme, polipoide)
- Colore della lesione (specificare se non uniforme)
- Eventuale presenza e dimensioni di ulcerazione

C. CAMPIONAMENTO

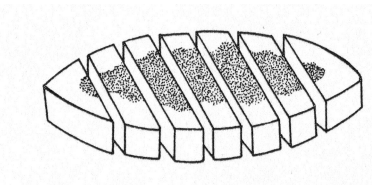
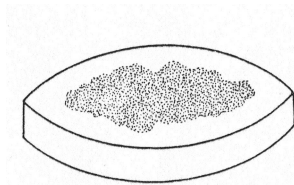
Prima di procedere al campionamento, colorare tutti i margini di resezione con inchiostro di china. E' opzionale eseguire la fotografia della lesione o la fotocopia del pezzo operatorio, che può essere utile in particolare nei casi con margini di resezione dubbi e per l'orientamento del campione.

Si consiglia inoltre di porre il pezzo operatorio su una tavoletta di sughero, fissarlo con spilli in modo da renderlo piano e lasciarlo fino a 12 ore in formalina neutra tamponata prima di eseguire taglio e prelievi.

¹ La biopsia incisionale di una lesione pigmentata è da evitare tranne in casi particolari quando permane il dubbio clinico e la biopsia escissionale comporterebbe interventi complessi e ampiamente demolitivi per lesioni di grandi dimensioni ad esempio nevi congeniti giganti, grandi lesioni del volto, melanosi genitali, lesioni pigmentate subungueali, ecc.

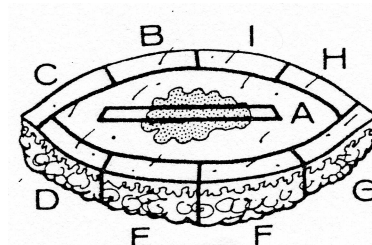
² Per quanto non strettamente indispensabili, eventuali immagini allegate alla richiesta sarebbero auspicabili in quanto il liquido fissativo tende ad alterare anche notevolmente i colori della lesione.

a) Se la massima dimensione del pezzo operatorio è ≤ 3 cm, sezionare l'intero prelievo con tagli paralleli lungo l'asse minore distanziati tra loro di circa 2-3 mm. E' utile



identificare i diversi prelievi con una lettera (a,b,c,d,..) in modo da poter ricostruire la topografia delle differenti aree della lesione. Includere non più di 2 prelievi adiacenti insieme nello stesso blocchetto e tenere separate le due estremità del lembo cutaneo.

a) Se la massima dimensione del pezzo operatorio è ≥ 3 cm, procedere a tagli paralleli lungo l'asse minore distanziati tra loro di circa 2-3 mm della sola lesione, e prelevare l'intera circonferenza del pezzo operatorio dividendolo in varie sezioni e includendo tali sezioni in modo tale che la faccia esterna coincida con la superficie di taglio al microtomo.



D. DESCRIZIONE MICROSCOPICA

La descrizione microscopica della lesione deve comprendere tutti i seguenti parametri:

- ISTOTIPO (sec. WHO, 2006; modificata)
 - Melanoma in situ (o melanosi premaligna)
 - Lentigo maligna (intraepiteliale)
 - Melanoma a diffusione superficiale
 - Melanoma nodulare
 - Melanoma tipo lentigo maligna, invasivo
 - Melanoma acrale-lentiginoso
 - Melanoma desmoplastico
 - Melanoma insorto su nevo blu
 - Melanoma insorto su nevo congenito
 - Melanoma nevoide
 - Melanoma, forme rare (ad es. melanoma spitzoide, condroide, a cellule ad anello con castone, plasmocitoide, ecc.)
- Melanoma maligno, NAS
 - PROFONDITA' DI INVASIONE (spessore secondo Breslow)³
 - LIVELLO DI CLARK
 - I – limitato all'epidermide (melanoma “in situ”)
 - II – invasione del derma papillare
 - III – invasione dell'interfaccia tra il derma papillare e il derma reticolare
 - IV – invasione del derma reticolare
 - V – invasione del sottocute
 - ULCERAZIONE
 - Assente
 - Presente

³ E' la misura mediante oculare micrometrico, espressa in mm, della profondità di invasione del melanoma. La misura viene effettuata, nella sezione che mostra la maggiore estensione di infiltrazione, a partire dallo strato granuloso (escludendo il corneo che ha spessore variabile nelle varie sedi), in direzione verticale, perpendicolare alla superficie epidermica, fino al punto più profondo del tumore. Se il tumore è ulcerato la misura viene dalla sommità dell'ulcera fino al punto di maggior infiltrazione. Noduli tumorali separati dal tumore (noduli satelliti) sono inclusi nella misurazione. Sono da evitare le misurazioni in corrispondenza dei follicoli piliferi, che falsano in eccesso il valore finale.

- FASE DI CRESCITA ORIZZONTALE
- Assente
- Presente
- FASE DI CRESCITA VERTICALE
- Assente
- Presente
- INFILTRAZIONE LINFOCITARIA INTRA- E PERITUMORALE
- Assente
- Presente, “non-brisk”
- Presente, “brisk”
- MITOSI PER MMQ
- <1
- ≥1
- INVASIONE VASCOLARE
- Assente
- Presente
- INVASIONE PERINEURALE
- Assente
- Presente
- SATELLITOSI⁴
- Assente
- Presente
- REGRESSIONE⁵
- Assente
- Presente
- PIGMENTAZIONE
- Assente
- Presente
- NEVO ASSOCIATO AL MELANOMA
- Assente
- Presente (specificare il tipo)
- MARGINI LATERALI
- Liberi da neoplasia (specificare distanza minima)
- Interessati da neoplasia
- MARGINI PROFONDI
- Liberi da neoplasia (specificare distanza minima)
- Interessati da neoplasia
- CLASSIFICAZIONE pTNM

Tis neoplasia in situ

T1a ≤ 1mm, senza ulcerazione, mitosi < 1 mmq

T1b ≤ 1mm, con ulcerazione, mitosi ≥ 1 mmq

T2a 1.01-2.0 mm, senza ulcerazione

T2b 1.01-2.0 mm, con ulcerazione

T3a 2.01-4.0 mm, senza ulcerazione

T3b 2.01-4.0 mm, con ulcerazione

T4a > 4mm, senza ulcerazione

T4b >4mm, con ulcerazione

Nx linf. non valutabili

N0 no metastasi regionali

⁴ Focolaio neoplastico separato dalla componente infiltrante del melanoma, ma non distante oltre cm.2 da essa.

⁵ Aree di apparente assenza di tumore invasivo associate a fibrosi comprendente linfociti, melanofagi e ipervascolarizzazione, con appiattimento degli sproni epiteliali dell’epidermide sovrastante.

N1a 1 linf. con micro metastasi/cellule tumorali isolate diagnosticate con tecnica sentinella (linee guida nazionali Luglio 2012)

N1b 1 linf. con macrometastasi

N2a 2-3 linf. con micrometastasi

N2b 2-3 linf. con macrometastasi

N2c 2-3 linf. con metastasi in transito*/satellite

N3 4 o più linf. con metastasi in transito/ satellite

*Nidi o nodi tumorali coinvolgenti cute o tessuto sottocutaneo posti a più di cm.2 dalla neoplasia primitiva, ma non oltre i linfonodi regionali

Mx metastasi non valutabili

M0 non mts a distanza

M1a mts in cute, tessuto sottocutaneo o noduli metastatici LDH normale

M1b mts polmonari LDH normale

M1c mts in tutte le altre sedi viscerali LDH normale

ogni mts a distanza LDH elevato

PROCEDURE OPERATIVE NEL LINFONODO SENTINELLA DEL MELANOMA: UNA PROPOSTA.

La presenza di focolai di melanoma metastatico nel linfonodo sentinella costituisce uno dei parametri prognostici di maggior peso. Inoltre la loro determinazione è un dato sempre più importante nella decisione di applicare conseguenti soluzioni terapeutiche, a partire dalla dissezione linfonodale completa, fino alla inclusione in eventuali trials terapeutici.

Nella maggior parte dei pazienti è identificabile un singolo linfonodo sentinella (SLN), tuttavia non sono rari i casi in cui i linfonodi siano due o anche tre, mentre è difficile che il loro numero sia superiore.

E' fondamentale sottolineare quanto le metodiche di esame del SLN siano mirate, dettagliate e impegnative per il patologo e per il Laboratorio di Anatomia Patologica, e quanto sia importante applicarle ad ogni SLN. E' pertanto altrettanto importante che ogni linfonodo sentinella inviato sia effettivamente un SLN per non sottoporre il personale tecnico e lo stesso patologo ad un inutile superlavoro e la Struttura Operativa ad una spesa inappropriata.

INVIO DEL SLN

Il SLN deve essere inviato intatto, preferibilmente con una sottile rima di tessuto adiposo circostante. Il chirurgo deve evitare per quanto possibile artefatti da schiacciamento o diatermocoagulazione. Non è necessario alcun reperaggio di zone particolari del frammento operatorio.

ESAME INTRAOPERATORIO DEL SLN

E' fortemente sconsigliato l'esame intraoperatorio del SLN previo congelamento al fine di evitare inutile perdita di tessuto durante le manovre di allestimento dei preparati e la perdita di dettaglio morfologico dovuto al congelamento stesso. La sensibilità di tale esame nella detezione di depositi neoplastici millimetrici, già molto bassa su tessuto congelato (29%), diminuisce ulteriormente su preparati isto/citologici allestiti diversamente, da tessuto fresco.

PROCESSAZIONE DEL SLN

Dopo un minimo di 12 ore in formalina, il processo di fissazione si può considerare completato. Ogni SLN verrà pertanto sottoposto a riduzione macroscopica secondo due modalità alternative:

Metodo del "Bread Loafing": ogni SLN con dimensione ≥ 5 mm viene interamente sezionato lungo l'asse minore ad intervalli di 2-3 mm. Le sezioni ottenute da ogni singolo SLN possono essere messe, dimensioni permettendo, in un'unica biocassetta.

Vantaggi: valutazione esaustiva della capsula e del seno marginale.

Metodo del "Bivalving": il linfonodo è sezionato lungo l'asse maggiore, a partire dall'ilo, ad intervalli di 3-4 mm.

Vantaggi: fase di campionamento e tempi tecnici leggermente più rapidi.

Svantaggi: con i protocolli di allestimento più utilizzati scopre una minore superficie tissutale e capsulare.

Il metodo "Bivalving" è stato concepito al fine di scoprire quanta più superficie di linfonodo peri-ilare, su cui la maggior parte dei protocolli istologici per il SLN del melanoma focalizza l'attenzione.

Tale interesse origina da una vecchia, e ormai smentita, segnalazione, che identificava nelle aree linfonodali peri-ilari le sedi più frequentemente coinvolte da metastasi precoce.

PROTOCOLLI DI TAGLIO E COLORAZIONE

La frequenza di positività del SLN varia a seconda del protocollo utilizzato, e sembra comunque fortemente dipendente dal numero di sezioni esaminate da ciascun linfonodo. Poiché i primi studi sul SLN in corso di melanoma suggerivano che le metastasi si localizzassero a partire dalla porzione centrale (peri-ilare) del SLN, la maggior parte di protocolli messi a punto, e ancora oggi ampiamente utilizzati, focalizza l'attenzione esclusivamente su questa regione. Tra questi, i più diffusi sono:

- **MIA protocol** (Melanoma Institute of Australia): tipo di sezione macroscopica "bivalving"

Quattro sezioni seriate da ogni metà linfonodale, di cui due (I e IV) colorate con ematossilina-eosina (HE) e due immunocolorate rispettivamente con S100 e HMB45

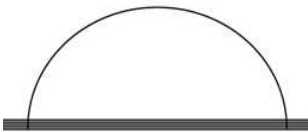


Fig 1: metà linfonodale; in nero istotopografia e % di superficie esaminata

Protocollo MIA: quattro sezioni seriate da ogni metà linfonodale.

Svantaggi: permette l'esame di una limitata porzione del linfonodo; non "vede" le porzioni periferiche

Vantaggi: tempi tecnici (sostanzialmente allestimento dei preparati) e tempi medici (lettura dei preparati) molto contenuti.

- **WHO Melanoma Program:** tipo di sezione macro "bread loafing".

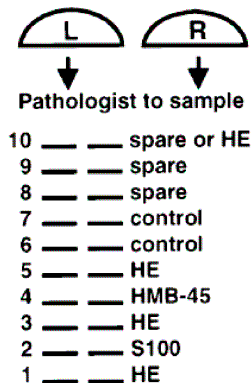
Prima sezione colorata con HE. Se negativa per metastasi seguono 10 sezioni (da ciascuna biocassetta), di cui la I e la VI immunocolorate con S100; la II e la VII colorate con HE e la III, IV, V, VIII, IX e X in "bianco" a disposizione per ulteriori eventuali colorazioni.

Svantaggi: permette l'esame di una limitata porzione del linfonodo (fig.2); non "vede" le porzioni periferiche.



Fig 2: metà linfonodale; in grigio istotopografia e % di superficie esaminata

- **Augsburg Consensus (Cochrane 2000):** tipo di sezione macro: "bivalving".

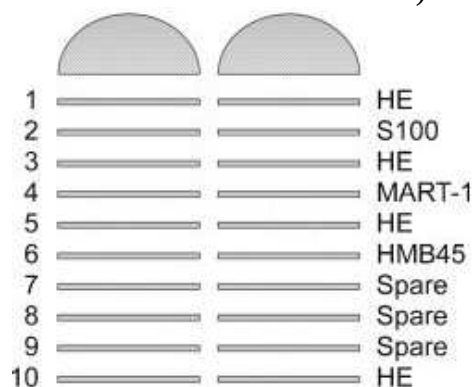


Allestite 10 sezioni, la n. 1, 3, 5 e 10 vengono colorate con HE; la n.2 immunocolorata con S100; la n. 4 immunocolorata con HMB45; le rimanenti sono in "bianco" o come controllo per l'immunoistochimica (v. schema).

- **Protocollo UCLA (Cochran 2006):** tipo di sezione "bivalving".

Allestite 10 sezioni; è simile all'Augsburg ma la sezione n. 6 viene colorata con HMB45 e la n.

7, 8 e 9 vengono lasciate in “bianco” (a disposizione per eventuali altre colorazioni/immunocolorazioni).



Sequence may be repeated if needed

Svantaggi dei protocolli 3,e 4: permettono l’esame di una limitata porzione del linfonodo; non “vedono” le porzioni periferiche (fig.2).

- **Protocollo EORTC:** tipo di sezione “bivalving”.

Vengono tagliate 20 sezioni istologiche suddivise in gruppi da 3 sezioni (quattro gruppi); da 6 sezioni (un gruppo) e 2 sezioni (un gruppo). I gruppi sono separati tra loro da 50 micron di tessuto “sacrificato”

Alcune sezioni vengono colorate con HE; altre immunocolorate come illustrato nello schema.

Section 1 (first full section)	H&E
Section 2	S100
Section 3	spare
50 µm gap (+50 µm)	
Section 4	H&E
Section 5	S100
Section 6	HMB45
Section 7	Pan Melanoma Plus
Section 8	spare
Section 9	spare
50 µm gap (+100 µm)	
Section 10	H&E
Section 11	S100
Section 12	spare
50 µm gap (+150 µm)	
Section 13	H&E
Section 14	S100
Section 15	spare
50 µm gap (+200 µm)	
Section 16	H&E
Section 17	S100
Section 18	spare
50 µm gap (+250 µm)	
Section 19	H&E
Section 20	S100

Schema protocollo EORTC

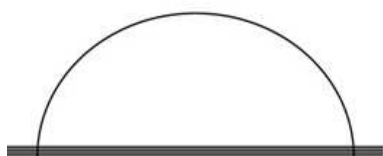
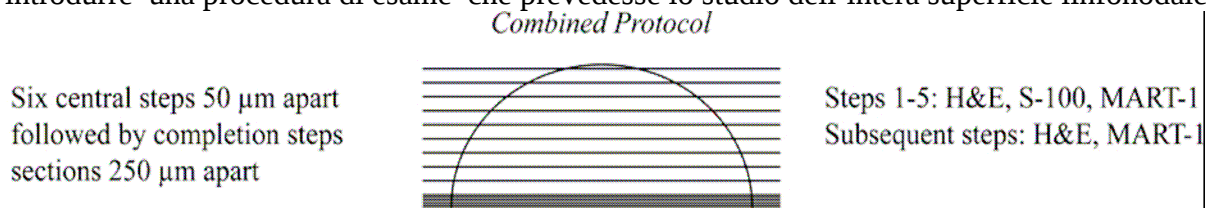


Fig 3: metà linfonodale; in grigio istotopografia e % superficie esaminata

Vantaggi: permette l’esame anche se parziale dei distretti periferici del linfonodo. Permette l’identificazione di metastasi/micrometastasi nel 33% dei linfonodi esaminati (contro il 20% dei linfonodi esaminati con Cochran e UCLA protocol).

- **Protocollo “Combined”:** tipo di sezione “bivalving”

Questo protocollo, proposto dal gruppo danese di Riber-Hansen, nasce dall'evidenza che le metastasi/micrometastasi di melanoma, si distribuiscono, nel SNL, con uguale frequenza tanto nei distratti centrali (peri-ilari) quanto in quelli periferici. A questo proposito è stato necessario introdurre una procedura di esame che prevedesse lo studio dell'intera superficie linfonodale.



Schema del protocollo “combined”: le due metà linfonodali vengono interamente sezionate dapprima come da protocollo EORTC, successivamente l'esame viene completato con tagli su livelli intervallati di 250 micron. Ad ogni livello si ricavano 2 sezioni di cui una viene colorata con ematossilina-eosina e l'altra con MART-1

Vantaggi: aumenta di circa il 7% le probabilità di trovare una micrometastasi rispetto al protocollo EORTC. Svantaggi: tecnicamente lungo e impegnativo. Intervalli di 250 micron troppo ampi.

Il protocollo “combined”, è solo l'ultimo in termini cronologici di una serie di studi simili, mirati all'intero esame del linfonodo sentinella (vedi ad es. il protocollo “enhanced” di Spanknebel e Rosai, 2005), che hanno costantemente portato all'effettivo incremento di microfocolai metastatici reperiti. A fronte di questo dato, certamente significativo, non si può tuttavia non considerare quanto, ognuno di questi protocolli, sia impegnativo e gravoso sia per il comparto tecnico destinato all'allestimento di lunghe serie di preparati, che per il patologo deputato alla lettura, che costantemente consiste nella ricerca di microscopici gruppi di cellule.

PROPOSTA PER UN NUOVO PROTOCOLLO

Fermo restando che i protocolli sopra elencati, sono tutti (chi più chi meno), ovunque accettati e/o applicati, alla luce comunque della necessità di estendere l'esame all'intera superficie del SLN, potrebbe essere utile e assai pratico, pensare di “approfittare” dell'esperienza di gruppi di studio sul linfonodo sentinella, in corso di neoplasie di diversa natura.

A questo proposito si potrebbe implementare, anche se con alcune modifiche operative, l'efficace modello di esame del SLN in corso di carcinoma della mammella, segnalato da Pietribiasi et al. (Pathologica 2006), con il concreto ed immediato vantaggio di applicare, ad una diversa patologia, una metodica conosciuta, affidabile e poco gravosa.

In sintesi tale protocollo, modificato per il melanoma, prevede serie di due sezioni intervallate di 100 micron, sino ad esaurimento del linfonodo, come di seguito indicato:

Tipo di sezione macroscopica: “bivalving” o “bread loafing”, con fette di linfonodo dello spessore di 3-4 mm, poste in 1 o, se necessario, 2 biocassette.

LIVELLO 1 (Sezione 1: HE; Sezione 2: S100)

GAP 100 micron

LIVELLO 2 (Sezione 3: HE; Sezione 4: Melan-A oppure HMB45, o altro)

GAP 100 micron

LIVELLO 3 (Sezione 5: HE; Sezione 6: bianca)

GAP 100 micron

LIVELLO 4-GAP 100 micron-LIVELLO 5-GAP 100 micron-LIVELLO 6-GAP 100 micron: solo sezioni bianche

LIVELLO 7 (Sezione 13: HE; Sezione 14: S100)

GAP 100 micron

LIVELLO 8 (Sezione 15: HE; Sezione 16: Melan-A oppure HMB45 o altro)

GAP 100 micron

LIVELLO 9 (Sezione 17: HE; Sezione 18: bianca)

LIVELLO 10-GAP 100 micron

LIVELLO 11-GAP 100 micron

LIVELLO 12-GAP 100 micron: solo sezioni bianche

LIVELLO 13 (Sezione 25: HE; Sezione 26: S100)

GAP 100 micron

LIVELLO 14 (Sezione 27: HE; Sezione 28: Melan-A oppure HMB45 o altro)

GAP 100 micron

LIVELLO 15 (Sezione 29: HE; Sezione 30: bianca)

In questo caso, su un linfonodo esauritosi in 15 livelli, abbiamo prodotto 3 HE e 2 Immunocolorazioni dai distretti peri-ilare (livello 1, 2 e 3), intermedio (livello 7, 8 e 9) e periferico (livello 13, 14 e 15), per un totale di 9 HE e 6 Immunocolorazioni ed abbiamo un sufficiente numero di sezioni non colorate per eventuali ulteriori approfondimenti.

IMMUNOISTOCHEMICA

Nella totalità dei protocolli esaminati l'anticorpo costantemente utilizzato è stato l'S100. A questo sono stati affiancati, di volta in volta, il Melan-A e l'HMB45 con maggior frequenza. L'unico suggerimento che si trae pertanto dalle varie esperienze riportate è quello utilizzare un pannello costituito da almeno due anticorpi, di cui uno deve essere l'S100 e l'altro a scelta.

Bibliografia di riferimento:

Location of melanoma metastases in sentinel lymph nodes: what are the implications for histologic processing of sentinel lymph nodes in routine practice?

Murali R, Thompson JF, Scolyer RA. Am J Surg Pathol. 2010 Jan;34(1):127-9

Sentinel lymph node biopsy in cutaneous melanoma: the WHO Melanoma Program experience. Cascinelli N, Belli F, Santinami M, Fait V, Testori A, Ruka W, Cavaliere R, Mozzillo N, Rossi CR, MacKie RM, Nieweg O, Pace M, Kirov K. Ann Surg Oncol. 2000 Jul;7(6):469-74. The Augsburg Consensus. Techniques of lymphatic mapping, sentinel lymphadenectomy, and completion lymphadenectomy in cutaneous malignancies. Cochran AJ et al. Cancer. 2000 Jul 15;89(2):236-41.

Clinically relevant information from sentinel lymph node biopsies of melanoma patients. Wen DR, Cochran AJ, Huang RR, Itakura E, Binder S. J Surg Oncol. 2011 Sep;104(4):369-78. doi:10.1002/jso.21818. Review

The development of optimal pathological assessment of sentinel lymph nodes for melanoma. Cook MG, Green MA, Anderson B, Eggermont AM, Ruiter DJ, Spatz A, Kissin MW, Powell BW; EORTC Melanoma Group. J Pathol. 2003 Jul;200(3):314-9

The nodal location of metastases in melanoma sentinel lymph nodes.

Riber-Hansen R, Nyengaard JR, Hamilton-Dutoit SJ, Steiniche T.

Am J Surg Pathol. 2009 Oct;33(10):1522-8

Treatment influencing down-staging in EORTC Melanoma Group sentinel node histological protocol compared with complete step-sectioning: a national multicentre study. Riber-Hansen R, Hastrup N, Clemmensen O, Behrendt N, Klausen S, Ramsing M, Spaun E, Hamilton-Dutoit SJ, Steiniche T. Eur J Cancer. 2012 Feb;48(3):347-52

Characterization of micrometastatic disease in melanoma sentinel lymph nodes by enhanced pathology: recommendations for standardizing pathologic analysis.

Spanknebel K, Coit DG, Bieligg SC, Gonen M, Rosai J, Klimstra DS.

Am J Surg Pathol. 2005 Mar;29(3):305-17

Sentinel and nonsentinel node status in stage IB and II melanoma patients: two-step prognostic indicators of survival. Cascinelli N, Bombardieri E, Bufalino R, Camerini T, Carbone A, Clemente C, Lenisa L, Mascheroni L, Maurichi A, Pennacchioli E, Patuzzo R, Santinami M, Tragni G. J Clin Oncol. 2006 Sep 20;24(27):4464-71

Pathologic examination of sentinel lymph nodes from melanoma patients. Scolyer RA, Murali R, McCarthy SW, Thompson JF. Semin Diagn Pathol. 2008 May;25(2):100-11.

Sentinel lymph node biopsies for cutaneous melanoma. Wick MR, Patterson JW. Am J Surg Pathol. 2005 Mar;29(3):412-4

Protocol for diagnostic assessment of sentinel lymph node in breast pathology: a proposal of SIAPEC-IAP, Piemonte Region, Italy. Pietribiasi F, De Rosa G, Arisio R, Bagnato R, Ravarino N, Pavesi M, Canavese G, Castellano I, Sapino A; SIAPEC-IAP Piemonte. Pathologica. 2006 Jun;98(3):167-70

DISPLASIA “ESOFAGO DI BARRETT”

L'importanza di diagnosticare correttamente EB e' correlata alla sua associazione con lo sviluppo dell'Adenocarcinoma Esofageo (AE).

Definizione: alterazione dell'epitelio esofageo che può essere evidenziata in endoscopia e confermata all'esame istologico con evidenza di **metaplasia intestinale (MI)**.

Questo tipo di metaplasia intestinale e' ben riconoscibile con le comuni colorazioni tradizionali in E-E; puo' essere utile in caso di dubbi anche l'esecuzione di una colorazione istochimica PAS/alcian Blue.

MI: epitelio colonnare “specializzato” caratterizzato dalla presenza di cellule caliciformi (goblet cells) e colonnari (“intermedie”) contenenti mucine neutre e/o acide.

Tipi di metaplasia intestinale:

Tipo I, ileale completa, poco frequente, al più presente in sede cardiale-giunzionale, talora come espressione di MI su mucosa tipo gastrico autoctona (da non considerare come B.). Costituita da cellule assorbenti, goblet con mucine neutre, e Paneth.

Tipo II-III (o colonica o incompleta). Goblet e colonnari (intermedie) con mucine neutre e acide (bassa acidità nel tipo II, alta acidità-solfomucine, nel tipo III) e rare Paneth. La distinzione tra MI tipo II e III non è fondamentale ai fini della definizione di EB e del profilo di rischio ad esso associato.

Inoltre e' stato anche proposto l'uso della CK7 e CK20 in immunoistochimica per distinguere la metaplasia intestinale esofagea dalla metaplasia in corso di cardite. Benché l'immunoistochimica possa essere utile in alcuni casi la diagnosi rimane in gran parte morfologica sulla base della E-E correlata al quadro endoscopico, poiché la riproducibilità dei risultati in IIC risulta problematica da diversi studi pubblicati.

Il vero **marcatore di rischio** di AE da cercarsi morfologicamente e' la **displasia epiteliale, che è anche la vera lesione precursore**.

Studi prospettici hanno documentato la progressione nel tempo da MI a Displasia di alto grado a Adenocarcinoma.

Inoltre alcuni studi hanno evidenziato un aumentato rischio di Carcinoma correlato all'estensione (lunghezza) dell'EB probabilmente in funzione della maggior durata del processo patologico (MRGE) che conduce alla metaplasia intestinale e della maggiore probabilità che una noxa (reflusso) datante da tempo possa indurre modificazioni e mutazioni a carico dell'epitelio. La distribuzione della displasia epiteliale è maggiore nelle porzioni più prossimali dell'esofago metaplastico ed è pertanto in tali sedi che andrebbe concentrato il campionamento.

Alcuni dei problemi legati alla sorveglianza dei pazienti sono dovuti al fatto che la Displasia può essere **focale** o **diffusa** e che esiste una documentata **variabilità inter- e intra-osservatore** nella diagnostica della displasia, soprattutto confinata agli spettri più bassi della classificazione diagnostica.

Ne consegue che una volta che la diagnosi di displasia sia stata posta, eventuali successive biopsie negative dovrebbero tener conto di questa possibilità.

Importante quindi l'adozione, in caso di Barrett, sia “senza” che “con” displasia, di un **protocollo di campionamento** ampio e completo che tenga conto della distribuzione topografica della lesione e che consenta la ricostruzione precisa delle sedi di prelievo biotico. In caso di ricontrollo di EB con displasia occorre che il campionamento si concentri su quelle aree che in precedenza aveva evidenziato displasia.

Al fine di un corretto inquadramento diagnostico dell'EB (EB ultracorto, corto, lungo) e della displasia ad esso eventualmente correlata, occorre che il campionamento si svolga secondo un preciso protocollo (vedi indicazioni endoscopiche) che tenga, in primis, conto della localizzazione

della GEG e che indichi, rispetto a questa, la estensione e modalità (circonferenziale, fiamma, isole) della risalita della linea Z (Giunzione squamo-colonnare), secondo la classificazione di Praga e che indichi la distanza alla quale vengono eseguiti i prelievi rispetto alla GEG.

Il modulo di richiesta di esame istologico che accompagna i campioni bioptici dovrà riportare esattamente la sede in cui si sono praticati i prelievi. (vedi allegato).

Parimenti **il referto istologico** dovrà riportare per ciascuna sede il tipo di epitelio ghiandolare individuato (cardiale, ossintica, ossinto-cardiale, pavimentoso) e riportare la eventuale displasia.

Sia il modulo di richiesta che il referto istologico si rifanno al modello proposto dal gruppo EBRA di Padova (Esofago di Barrett e rischio di Adenocarcinoma, coord. Scientifici, G.Zaninotto e M. Rugge).

Importante anche il problema della **conferma diagnostica della displasia** stessa da parte di un secondo patologo ben orientato in Gastroenteropatologia, vista la scarsa riproducibilità fra patologi diversi nell'interpretazione delle modificazioni displastiche, soprattutto per quello che concerne "il basso grado" (displasia lieve e moderata).

Il termine Displasia, che può essere anche sostituito dal termine "Neoplasia Intraepiteliale", recependo con ciò le indicazioni della Classificazione WHO dei tumori digestivi e che e fa proprie le osservazioni contenute nella Classificazione di Vienna.

Il grading della Neoplasia Intraepiteliale e' classificato come segue:

Negativo per Displasia (Neoplasia intraepiteliale)

Indefinito o sospetto per Displasia (Neoplasia Intraepiteliale)

Displasia (Neoplasia Intraepiteliale) di basso grado

Displasia (Neoplasia Intraepiteliale) di alto grado

Caratteristiche istologiche della Displasia (Neoplasia Intraepiteliale) di basso grado (LG Dysplasia)

Architettura delle cripte conservata lievemente distorta.

Polarità cellulare conservata

Rapporto N/C aumentato

Nuclei allungati ed ipercromici **talora pluristratificati con perdita di mucina.**

Assenza di maturazione di superficie

Caratteristiche istologiche della Displasia (Neoplasia Intraepiteliale) di alto grado (HG Dysplasia)

Architettura delle cripte marcatamente alterata con gemmazioni e ramificazioni

Perdita della polarità cellulare

Ipercromasia nucleare

Aumento delle mitosi e presenza di mitosi atipiche

Nucleoli prominenti

Assenza di maturazione in superficie.

Il Gold standard nella valutazione istopatologica nel Barrett rimane ancora la valutazione morfologica con la colorazione tradizionale in Ematossilina-Eosina.

L'immunoistochimica può integrare il dato morfologico nella valutazione della Neoplasia Intraepiteliale con l'ausilio di marcatori quali la p53 e il ki67/mib-1. Da considerare che una negatività per p53 non esclude tuttavia la diagnosi né di displasia di basso che di alto grado.

Il numero di biopsie minimo per un campionamento ottimale dovrebbe essere di almeno due prelievi in lesioni minime fino a 5mm e di almeno di quattro biopsie per lesioni sino a 1cm.

Su lesioni più estese e' raccomandabile un campionamento con prese a quadrante per ogni 1-2 cm. secondo il Protocollo di Praga.

Bibliografia

- 1 Sampliner RE Am.J. Gastroenterology 93;1028-31, 1998
- 2 Haggitt Am.J. Clin.Pathol 70:1-5 1978
- 3 Hamilton Am.J.Clin.Pathol 87:301-312, 1987
- 4 Reid Gastroenterology 94:81-90 1988
- 5 Haggitt Hum.Path. 25: 982-993,1994\
- 6 Rastogi A, Puli S, El Serag HB, Bansal A,Wani S, Sharma P. Incidence of esophageal adenocarcinoma in patients with Barrett's esophagus and high grade dysplasia:a meta-analysis. Gastrointest Endoscopy: 2008; 67; 394-98
- 7 Sampliner RE et al. Practice guidelines on the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's Esophagus. Am J Gastroenterology 1998; 7:1028-1032
- 8 Wang KK, Sampliner RE. Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus. Am J gastroenterol 2008;103:788-97
- 9 Montgomery E, Bronner MP, Goldblum JR et al. Reproducibility of the diagnosis of dysplasia in Barrett Esophagus: a reaffirmation. Hum.Pathol 2001;32:368-78
- 10 Bhargava P, Eisen GM, Holterman BS, Montgomery E et al. Endoscopic Mapping and surrogate markers for better surveillance in Barrett Esophagus. A study of 700 biopsy specimens. Am J Clin Pathol 200;114:552-563
- 11 Schemper RJ, Riddell RH, Kato Y, Borchard F, Cooper HS, Dawsey SM, Dixon MF, Fenoglio-Preiser CM, Flejoui JF, Geboes K, Hattori T,Hirota T, Itabashi M, Iwafuchi M, Iwashita A, Kim YI, Kirchner T, Klimpfinger M, Koike M, Lauwers GY,Lewin KJ, Oberhuber G, Offner F, Price AB, Rubio CA, Shimizu M, Shimoda T, Sipponen P, Solcia F, Stolte M, Watanabe H, Yamabe H. The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia Gut 2000; 47:251-255
- 12 Offerhaus GJA, Correa P, Van Eeden S, Geboes K, Drillenbun P, Vieth M, Van Velthuisen ML, Watanabe H, Sipponen P, ten Kate FJW, Bosman FT, Bosma A, Ristimaki A, van Dekken H, Ridell R, Tytgat GNJ. Report of an Amsterdam working group on Barrett Esophagus. Virchows Archiv 2003; 443: 602-608
- 13 Faller G, Borchard F, Ell C, Seitz G, Stolte M, Walch A, Ruschoff J. Histopathological diagnosis of Barrett's mucosa and associated neoplasias: results of a consensus conference of the Working Group for Gastroenterological Pathology of the German Society for Pathology on 22 September 2001 in Erlangen. Virchows Arch 2003; 443:597-601
- 14 Faller G, Stolte M Barrett's Esophagus : time for consensus. Virchows Arch 2003; 443:505-506
- 15 Flejoui JF. Barrett's oesophagus: from metaplasia to dysplasia and cancer Gut 2005 ; 54 (suppl I):i6-i12.
- 16 Deviere J . Barrett's oesophagus : the new endoscopic modalities have a future Gut 2005; 54 (Suppl I):i33-i37
- 17 Sharma P, Dent J, Armstrong D, Bergman J, Gossner L, Hoshihara Y, Jankowski J, Lundell L, Tytgat G, Vieth M The development and validation of an endoscopic grading system for Barrett Esophagus: the Prague C&M Criteria Gastroenterology 2006; 131: 1392-1399
- 18 Vologgi L, Montgomery E, Lam-Himlin D A clinical and histopathological focus on Barrett esophagus and Barrett-related dysplasia. Arch.Pathol Lab Med 2011; 135: 1249-1260
- 19 Ormsby AH, Goldblum JR, Rice T, Richter J, Falk GW, Vaezi MF, Gramlich TL. Cytokeratin subsets can reliably distinguish barrett's esophagus from intestinal metaplasia of the stomach. Hum.Pathol. 1999 30:288-294
- 20 Ormsby AH, Vaezi MF, Richter JE, Goldblum JR, Rice TW, Falk GW, Gramlich TL Cytokeratin immunoreactivity patterns in the diagnosis of short-segment Barrett's esophagus Gastroenterology 2000; 119:683-690.

MODULO DI RICHIESTA PER ESAME ISTOLOGICO IN SOSPETTO BARRETT

COGNOME NOME , DATA NASCITA, C.F., RESIDENZA, ECC..

NOTIZIE CLINICHE:

1° Esame []. Controllo []. Precedenti istologici:

Sintomi da reflusso GE [si] [no]. Altro:

ENDOSCOPIA:

Distanza in cm. della Giunzione Esofago-Gastrica (GEG) dall'AD:

Distanza in cm. della Giunzione Squamo-Colonnare (GSC) dall'AD:

Distanza in cm. dell' Impronta Pilastrici Diaframmatici (IPD) dall'AD:

Esofago Barrett: circonferenziale [], Fiamma [], Isola []

Classe Praga: C [] M []

Materiale inviato: indicare per ogni sede di prelievo la distanza dall'AD.

1: cm.... 2: cm... 3,4,5,6...idem

PROTOCOLLO DI REFERTAZIONE

Per ciascuna sede di (1,2,3,..) prelievo indicare:

- il n. totale dei frustoli e di quanti presentano mucosa di Barrett/.., mucosa cardiaca/.., mucosa ossintica/.., o mucosa ossinto-cardiale/..
- Flogosi linfomonocitaria: assente [], basso grado [], alto grado []
- Flogosi acuta: assente [], basso grado [], alto grado []
- Displasia: assente [], indefinita [], basso grado [], alto grado []. In caso di displasia si suggerisce una conferma da parte di un secondo patologo esperto in gastroenteropatologia

Conclusioni:

Esofago di Barrett

assente [] ultrashort (<1 cm. dalla GEG) [] short (< 3 cm.) [] long []