

Argomenti di patologia: Valutazione dei margini di un campione istologico, la tecnica 3d

Grieco V.

Dipartimento di Scienze Veterinarie e Sanità Pubblica – Facoltà di Medicina Veterinaria – Università degli Studi di Milano.

SUMMARY

In order to improve the relationship between clinicians and pathologist, in AJ, arguments of pathology having clinical interest are published. In the present issue, the problem of the histological evaluation of surgical excision margins is discussed and commented. During last decades, for the evaluation of surgical margins several histological techniques have been proposed. However, none of them was applicable to all types of tumor. In 1984 was proposed the 3D histological technique that examines a complete longitudinal section of the surgical sample, the perimeter of them and all the deep margin. This techniques, used worldwide in human medicine, can be applied in the analysis of the margins of all tumors, independently from the sample size and has a good predictivity for post-surgical tumor recurrence. This technique was recently applied also in veterinary, using the feline injection-site sarcoma as a model, and demonstrated successful results.

KEY WORDS

surgical oncology, sample borders, 3D histology

INTRODUZIONE

Il rapporto tra clinico e patologo è di estrema importanza per la salute del paziente, ma perché si sviluppi una valida collaborazione tra queste due figure è utile che si faccia luce su molte problematiche di ordine patologico che spesso risultano poco chiare, soprattutto per il clinico che, per ovvie ragioni, non è mai presente nel momento in cui il patologo esamina il campione che gli è pervenuto. A questo proposito, da patologo e da veterinario, credo sia opportuno che il laboratorio di patologia si avvicini ai clinici, con telefonate, piccoli seminari conoscitivi e colloqui perché da una conoscenza delle attività di ciascuno, e dalla conoscenza personale, può nascere l'importante scambio di informazioni che risulta estremamente positivo per una crescita comune da cui far scaturire sempre il meglio per il paziente.

I MARGINI

La valutazione dei margini di un campione istologico è di estrema rilevanza quando si tratti di campioni riferibili all'escissione di noduli tumorali o ampie masse neoplastiche. E' infatti opportuno, in termini prognostici, ottenere informazioni che delineino con precisione se la neoplasia è stata escissa interamente e se i margini siano totalmente liberi da cellule neoplastiche. In questa valutazione il patologo gioca un ruolo importante ed è chiamato a fare un lavoro complesso e scrupoloso

che risulterà di estrema importanza per il paziente e per il clinico cui esso è affidato.

In primo luogo, da patologo, è importante chiarire che per la valutazione dei margini è necessario che questi ci siano! Spesso, infatti, viene richiesta la valutazione dei margini di noduli o masse che sono stati asportati interamente ma senza tessuti circostanti. In questi casi, nel responso diagnostico non si potrà dire altro che "il campione è interamente costituito da un nodulo neoplastico..." e non si potrà dire nulla circa lo stato dei margini, in quanto essi sono ancora "nel paziente." Ciò che sicuramente si potrà dire è se la massa è capsulata o meno e certo questo è importante ai fini prognostici, ma in questo caso non si parla di margini ma di caratteristiche intrinseche alla massa: capsulata o non capsulata. La presenza di una capsula, indica una massa che si accresce in maniera espansiva e questo è sicuramente un dato positivo tuttavia, spesso, in fase diagnostica si osserva come una capsula apparsa macroscopicamente come uno strato continuo, si riveli in realtà discontinuo all'occhio microscopico. Di fronte a simili campioni il patologo può fare molto poco e la descrizione non potrà che suonare come "il campione inviato è interamente costituito da un nodulo neoplastico circoscritto da una capsula a tratti discontinua..." In questi casi il patologo potrà descrivere e diagnosticare il tipo di tumore ma non potrà descrivere se questo sia infiltrante o meno ed il lavoro svolto risulterà tronco e di poco aiuto per il clinico e per il paziente. Pertanto, compatibilmente

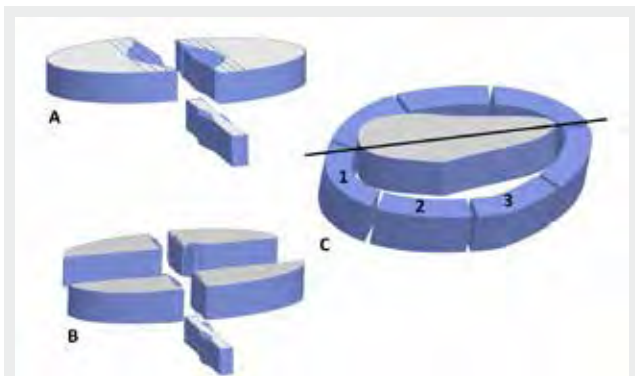


Fig. 1. Rappresentazione delle più comuni tecniche istologiche di valutazione dei margini di escissione chirurgica. A) Tecnica bread-loaf, meat-loaf. B) Tecnica della cross section. C) Tecnica 3D

con la sede campo di operazione è opportuno fare in modo di escindere la neoplasia congiuntamente ad un margine di tessuto apparentemente sano. Questo sarà di grande valenza in quanto il patologo potrà non solo descrivere il tipo di tumore ma anche descriverne il tipo di crescita ed i rapporti che il nodulo stabilisce con i tessuti circostanti: se non li infiltra e, se li infiltra, quali e in che termini li infiltra (ampiamente, localmente, parzialmente...). Può infatti accadere che un nodulo neoplastico si accresca nel derma ed infiltri più o meno lassamente il sottocute senza intaccare la fascia muscolare ed il pellicciaio sottostante o che si spinga in esso senza oltrepassarlo. Tutti questi dati sono importanti ed oltre a dare informazioni circa la sicurezza o meno dei margini, danno ragione anche della loro qualità, entità ed ampiezza. Anche questo è assai importante perché il tessuto che sembrava sano al tatto, microscopicamente potrebbe invece essere inquinato da una sottile lingua della neoplasia, come spesso accade con i tumori dei tessuti molli che a volte emettono propaggini così fini da sfuggire anche alle più moderne tecniche di diagnostica per immagine. Vedremo come, poi, orientando il campione in maniera assai semplice il clinico possa rendere il patologo in grado anche di comunicare con precisione quale dei margini sia inquinato (destro, sinistro, craniale o caudale) rendendo così più consapevoli le operazioni di un eventuale futuro curettage chirurgico.

LA VALUTAZIONE ISTOLOGICA DEI MARGINI: PASSATO E PRESENTE

In medicina umana da più di 50 anni vengono pubblicati articoli circa la valutazione dei margini in campo istologico e le metodiche via via proposte sono state molteplici.^(4-6,8) Tutte queste metodiche, però, avevano una caratteristica comune e cioè quella di essere state messe a punto non pensando al campione in assoluto, ma al tipo di campione; non pensando alla massa in assoluto ma al tipo di massa o alla sua localizzazione. Un esempio è la cosiddetta metodica "meat-loaf" o bread-loaf, dove il campione veniva esaminato interamente e per questo tagliato in se-

zioni successive esattamente come si farebbe con un arrosto o con un filone di pane. (Fig.1a) Questa metodica, di estrema precisione, era stata pensata per campioni a losanga escissi dal viso e quindi per campioni di piccole dimensioni e con margini per forza esigui che, in questo modo venivano valutati in ogni sezione congiuntamente al nodulo. L'applicazione di una metodica di questo tipo è impensabile, anche in medicina umana, quando si tratti di tumori di maggiori dimensioni, come spesso avviene per quelli dei tessuti molli o come frequentemente accade in medicina veterinaria dove le problematiche estetiche, quando le funzioni sono mantenute, non sono così sentite come in campo umano. Nel tempo, per masse di dimensioni discrete/grandi si è impiegata la metodica definita "cross section." (Fig.1b) Con questa metodica vengono esaminate due sezioni complete del campione, tra loro ortogonali. E' chiaro però che, in questo modo, i margini che si osservano, si limitano ai 4 punti cardinali, mentre nulla è noto circa l'intero perimetro del campione e circa i suoi tessuti profondi. Fu per queste ragioni che a metà degli anni'80 fu creata la metodica cosiddetta "3D."⁽¹⁻²⁾ Questa è una metodica assai semplice, adatta a masse di tutte le dimensioni ed estremamente precisa perché da un lato permette di esaminare una sezione completa del campione, dall'altro, di esaminare tutti i margini, anche i profondi, semplicemente aumentando il numero dei vetrini all'aumentare della lunghezza del perimetro. (Fig.1c) Questo sicuramente moltiplica il tempo di lavoro del patologo, ma questi è e rimane un veterinario e, al pari del clinico, come dedicherà meno tempo all'esame di casi banali, così dedicherà più tempo a casi delicati come quelli di cui si sta trattando. Negli ultimi tempi si parla molto di manualità o metodiche "time consuming" tuttavia, in questo caso, non si tratta affatto di un consumo di tempo ma dell'esame attento che necessita un caso complesso e del compiere azioni precise da cui scaturiranno informazioni spesso di vitale importanza per il paziente. E' tempo impiegato in maniera specialistica, non tempo consumato nell'accezione negativa che questo termine possiede, in parole povere, è tutt'altro che tempo perso. La metodica istologica "3D" per la sua duttilità, affidabilità e precisione rappresenta il presente in medicina umana e dovrebbe sempre di più sostituire la "cross section" anche in medicina veterinaria. A mio parere, infatti, è opportuno che in campo veterinario, laddove si affinino sempre di più le tecniche diagnostiche e chirurgiche debbano affinarsi anche quelle patologiche. Ad un nodulo escisso con lo stesso protocollo che si applicherebbe in medicina umana dovrebbe corrispondere un esame istologico che impieghi le metodiche che verrebbero impiegate in campo umano. Da tempo, nel nostro laboratorio applichiamo questa regola e, applicando la tecnica 3D su ogni campione dotato di margini, si è raggiunta anche una standardizzazione che rende i casi di neoplasia così esaminati, e corredati di follow up, perfettamente idonei per studi statistici e di patologia comparata.

UN ESEMPIO: L'IMPIEGO DELLA TECNICA ISTOLOGICA 3D NELLA VALUTAZIONE DEI MARGINI DI ESCISSIONE DEL SARCOMA INIEZIONE INDOTTO DEL GATTO

Tutti conosciamo le caratteristiche tipiche del sarcoma iniezione indotto del gatto, che sono poi comuni a quelle dello stesso tumore nei pet rabbit e nei furetti: rara metastatizzazione ma frequentissima recidiva. Quest'ultima caratteristica è determinata dal fatto che queste neoplasie presentano frequentemente una crescita di tipo infiltrante ed emettono propaggini di vario tipo (singole o multiple, lunghe o corte, tozze o sottili) che hanno come comune denominatore il fatto di spingersi nei tessuti molli circostanti la neoplasia. Poiché in questi casi è di fondamentale importanza per il clinico sapere se la massa è stata escissa completamente con margini liberi da cellule neoplastiche, è chiaro che il patologo debba fare il possibile per intervenire in questo senso. Traendo spunto da ciò agli inizi degli anni 2000, nel nostro laboratorio abbiamo iniziato uno studio in cui si è applicata la tecnica diagnostica 3D a tutti i campioni relativi a sarcomi iniezione-indotto che pervenivano dalla divisione chirurgica della nostra Facoltà. Si trattava sempre di soggetti sottoposti a TC prima dell'intervento e di masse escisse con margini standard di 3 cm (laterali e profondi). Su questi campioni chirurgici standard si è quindi applicata la metodica istologica standard tipica della medicina umana. Controllando poi il *follow-up* dei soggetti (dopo minimo 6 mesi dall'intervento) si è osservato che ai tumori i cui margini erano giudicati liberi con metodica 3D, corrispondeva una recidiva pari al 18%. Tumori che possedevano margini anche solo minimamente e localmente inquinati avevano una probabilità di recidivare statisticamente pari a 9,9 volte di più dei casi a margini liberi. Lo studio, pubblicato di recente⁽³⁾ ed una ricerca bibliografica, hanno rilevato come le percentuali di recidiva a margini liberi non fossero molto dissimili da quelle riscontrate in studi umani riguardanti alcuni analoghi tumori dei tessuti molli.⁽⁷⁾

BIBLIOGRAFIA

1. Breuninger H.: *Histologic control of excised tissue edges in the operative treatment of basal cell carcinoma. Journal of Dermatologic Surgery and Oncology, 1984, 10, 724-728.*
2. Breuninger H., Schaumburg-Lever G.: *Control of excisional margins by conventional histopathological techniques in the treatment of skin tumors. An alternative to Moh's technique. Journal of Pathology, 1988, 154, 167-171.*
3. Giudice C., Stefanello D., Sala M., Cantatore M., Russo F., Romussi S., Travetti O., Di Giancamillo M., Grieco V.: *Feline injection-site sarcoma: recurrence, tumor grading and surgical margin status evaluated using the three-dimensional histological technique. The Veterinary Journal, 2010, 186, 84-88.*
4. Häfner H.M., Moehrle M., Eder S., Trilling B., Röcken M., Breuninger: *3D-histological evaluation of surgery in dermatofibroma protuberans and malignant fibrous histiocytoma: differences in growth patterns and outcome. European Journal of Surgical Oncology, 2008, 34, 680-686.*
5. Mohs F.E.: *Chemosurgery: a microscopically controlled excision skin tumor. Archives of Surgery, 1941, 42, 279-281.*
6. Rapini R.P.: *Comparison of methods for checking surgical margins. Dermatopathology, 1990, 23, 288-294.*
7. Ridholm A.: *Surgical margins for soft tissue sarcoma. Acta Orthopaedica Scandinavica, 1997, 273, 81-85.*
8. Tromovich T.A., Stegerman S.J.: *Microscopically controlled excision of skin tumors. Archives of Dermatology, 1974, 110, 231-232.*

Si comprende come quando si agisce completamente in linea con quanto avviene in campo umano spesso si ottengono risultati sovrapponibili. Se la tecnica 3D è in oncologia umana considerata più precisa ed affidabile della "cross section" sarebbe auspicabile impiegarla anche in oncologia veterinaria.

RAPPORTO COSTO/BENEFICIO

Non è questo un argomento che generalmente si tratti in un articolo scientifico. Tuttavia è opportuno che in questi articoli di argomenti di patologia si rimanga sempre strettamente ancorati alla pratica. Sia detto per i clinici come per i patologi. I costi di questa metodica dipendono chiaramente dalla quantità di vetrini necessaria e quindi dalle dimensioni del campione. A questo proposito desidero portare l'esperienza del nostro laboratorio, ove abbiamo notato che raramente si arriva a 10-12 vetrini totali/caso. Questo è sicuramente merito dei clinici i quali sono sempre più attenti alle problematiche oncologiche e consigliano scrupolosamente ai proprietari l'escissione di noduli sospetti, anche quando questi siano di piccole dimensioni. Così, lavorando da circa 20 anni nella diagnostica patologica, ho notato che le dimensioni dei campioni pervenuti vanno via via diminuendo e, sempre citando l'esempio dei sarcomi felini, le masse riferite agli ultimi anni non superano i 4-5 cm di diametro, mentre quelle dei primi anni 2000 raggiungevano anche i 10-12 cm. Calandoci quindi nel presente, anche considerando margini chirurgici ampi, facendo una media si arriva circa 8-12 vetrini per campione (come massimo). Si capisce come questo lavoro conduca certo ad un aumento dei costi, ma va anche detto chiaramente che questo è assai relativo e contenuto. Una maggiorazione di pochi euro al costo istologico standard è quello che consiglio ai colleghi patologi. In questo modo si riesce a rientrare perfettamente nei costi vivi che l'esame comporta, senza causare eccessivo esborso al padrone del paziente e, nel contempo apportando i benefici che le informazioni provenienti da un esame accurato sono in grado di apportare.

Si ringrazia vivamente il signor Marco Colombo per la realizzazione grafica della Figura 1.