ПРОТОКОЛ МАКРОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВОДА

Краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения Красноярское краевое патолого-анатомическое бюро

Заместитель главного врача

по патолого-анатомической работе, к.м.н. Хоржевский В.А.©

Биопсийный материал

При макроскопическом исследовании материала документируется количество фрагментов, содержащихся в каждом контейнере. Кусочки с осторожностью переносятся в кассету для исключения артефактов раздавливания. Для микроскопии выполняются ступенчатые срезы на 3-х различных уровнях с рутинным окрашиванием гематоксилином и эозином. Целесообразно приготовить и сохранить неокрашенные срезы для возможных дополнительных исследований или окрасок.

Субмукозная резекция

Фрагменты ткани при субмукозной резекции обычно имеют округло-овальные очертания и могут быть маркированы лигатурой «на 12 часах». Внешний слой резецированного фрагмента и слизистая оболочка могут маркироваться цветными красителями. После этого объект следует расположить на жестком основании (например – пробковая подложка, плотный картон и т.п.) и, не растягивая, закрепить по краю несколькими тонкими булавками или иглами для подкожных инъекций. Вместе с подложкой резецированный фрагмент помещается в фиксатор на 16-24 часа. Необходимо обеспечить полное погружение объекта в фиксатор. После завершения фиксации весь фрагмент ткани должен быть рассечен линейными разрезами на полосы примерно 2,0 мм шириной. Если резецированный фрагмент имел пространственную метку, например лигатуру «на 12 часах», то разрезы должны проводиться сверху вниз, т.е. «от 12 к 6 часам». Каждый фрагмент должен быть последовательно раздельно маркирован и все они отправлены в гистологическую проводку. Макроскопическое описание необходимо проиллюстрировать графической схемой сделанных сечений с указанием маркировки каждого полосовидного фрагмента.

В случае расположения опухоли на расстоянии менее 1 мм от края образца, она забирается единым блоком с прилежащей тканью (краем резекции). Важно, чтобы срезы содержали все структурные элементы стенки пищевода, включая слизистую оболочку, подслизистую основу, мышечную и адвентициальную оболочки с целью оценки инвазивного роста опухоли. Слизистая оболочка при субмукозной резекции может подворачиваться за край, это требует аккуратного расправления образца при вырезке для получения верных анатомических соотношений в гистологических препаратах.

Эзофагоэктомия

Эзофагоэктомия чаще выполняется при опухолях пищевода. Изменения могут выявляться как микроскопически, как например у пациентов с длительно существующим пищеводом Баретта, так и макроскопически, например в случаях злокачественных новообразований, обтурирующих просвет пищевода с клиникой дисфагии.

Препарат пищевода, получаемый в результате сегментарной эзофагоэктомии или расширенной эзофагогастроэктомии представляет собой анатомически простую структуру в виде мышечной трубки. Ориентация препарата редко вызывает затруднения в связи с тем, что пищевод чаще удаляется вместе с частью желудка. После измерения размеров препарата наружная поверхность, а также края резекции маркируются тушью. Следует отметить, что пищевод не имеет серозной оболочки и потому внешняя поверхность операционного препарата является истинными мягкотканым краем резекции.

После осмотра и измерения препарата необходимо ввести палец в просвет пищевода и нащупать опухоль. Вскрытие пищевода для исследования слизистой оболочки проводится простым рассечением трубки ножницами на всем протяжении от одного конца к другому. Следует избегать рассечения пищевода через опухолевый узел, так как это может создать сложности при оценке взаимоотношения опухоли и окружающих тканей. Для исключения рассечения опухолевого узла необходимо пальпаторно определить зоны уплотнения, часто указывающие на расположение и распространенность опухоли. После того как препарат раскрыт, проводится оценка внешнего вида и толщины стенки пищевода. Если присутствуют стриктуры, то в таких участках выполняется измерение размера просвета в зоне стеноза, а также в проксимальнее расположенной зоне максимальной дилатации. Целесообразно фотографирование нативного макропрепарата и после вскрытия его просвета.

В случаях, когда опухоль не визуализируется, следует попытаться определить участок предшествовавшей биопсии. Такой участок может быть трудноопределимым в препарате, в связи с чем следует исследовать участки геморрагий, изъязвлений, рубцовых изменений, участки с шероховатой поверхностью.

Идентификация гастроэзофагеального перехода (соединения) – является важным этапом макроскопического исследования макропрепарата пищевода. Переход определяется как проксимальная граница желудочных складок, которая не всегда совпадает с железисто-плоскоклеточным переходом. Зона железисто-плоско­кле­точного перехода в норме может встречаться в любом месте на расстоянии 2-3 см от дистального конца пищевода. Слизистая оболочка желудка (железистая выстилка) имеет барахатисто-красный вид в сравнении с шероховатой серой поверхностью пищевода (плоскоклеточная выстилка).

Проксимальное смещение железисто-плоскоклеточного перехода за пределы 2-3 см от дистального конца пищевода является аномальным и дает основание подозревать пищевод Баретта.

Если опухолевый узел, то проводятся его измерения (в трех проекциях), указывается локализация, отношение к железисто-плоскоклеточному переходу, а также к гастроэзофагеальному переходу. Указывается форма опухолевого роста (экзофитный/грибовидный, эндофитный/изъявляющий, диффузно-инфильтратив­ный). Если опухоль расположена в области гастроэзофагеального перехода, то ее относят к опухоли пищевода в случае, если центр ее приходится на пищевод. Если же центр опухоли расположен в желудочной части операционного препарата, то процесс классифицируют как опухоль желудка. В случае расположения центра опухоли непосредственно в зоне гастроэзофагеального перехода ее классифицируют как опухоль гастроэзофагеального перехода. Такое различие имеет клиническое значение для критериев стадирования: критерии AJCC системы стадирования выделяют N0 и N1 для злокачественных новообразований пищевода, тогда как обозначение N0, N1, N2 и N3 используются для опухолей желудка. При расположении опухоли зоне в гастроэзофагеального перехода в макроописании должны быть отмечены следующие параметры: 1) доля опухоли, расположенная в пищеводе и желудке; 2) наибольшая протяженность каждого из компонентов в отдельности; 3) анатомическая локализация центра опухоли; 4) расстояние от краев резекции до края опухолевого роста.

Расстояние от края резекции необходимо оценивать на свежем препарате, так как фиксация в формалине может привести к ретракции слизистой оболочки, создавая впечатление, что опухолевый рост находится ближе к краю резекции в сравнении с истинной локализацией. При немедленном погружении в формалин непосредственно после резекции происходит сокращение размеров препарата на 10%, а при увеличении времени перед погружением в формалин – до 50% от первоначальных размеров, что может привести к разночтениям в оценки краев резекции хирургом и патологоанатомом *[Siu KF, Cheung HC, Wong J. Shrinkage of the esophagus after resection of carcinoma. Ann Surg 1986;203:173–6.].* Для уменьшения эффекта ретракции можно фиксировать растянутый макропрепарат на плотной подложке (лист пробки, вспененного полимерного материала, плотного картона) с последующим погружением в формалин слизистой оболочкой вниз *[Pablo A. Bejarano and Mariana Berho (2015) Examination of Surgical Specimens of the Esophagus. Archives of Pathology & Laboratory Medicine: November 2015, Vol. 139, No. 11, pp. 1446-1454.],* Между органом и подложкой нужно проложить бумажное полотенце или марлевую прокладку для обеспечения оптимального проникновения фиксатора со стороны адвентиции. Такая техника уменьшает долю сокращения тканей при погружении в формалин примерно на 10%.

Длительность фиксации в 10% формалине расправленного препарата составляет 24-36 часов. После фиксации следует провести разрезы через всю толщу стенки в зоне опухолевого роста для определения глубины опухолевого роста. Выполняется как минимум два разреза на всю толщу пищевода в участке где рост выглядит наиболее глубоким. Необходимо убедиться, что в срез попал участок окрашенного мягкотканого края (адвентициальный край резекции) для дальнейшей оценки этой зоны. Затем проводится забор из краев опухоли с захватом прилежащих отделов неизмененной слизистой оболочки, а также из области гастроэзофагеального перехода. В случаях, когда опухолевый рост неочевиден, три специфические области должны быть забраны для гистологического исследования: 1) зона железисто-плоскоклеточного перехода; 2) участки измененной слизистой оболочки, такие как бархатисто-красные зоны, наблюдаемые при пищеводе Баретта; 3) участки ранее проведенной биопсии.

Как минимум 4 блока должны быть взяты из опухоли; 2 – для достоверной оценки роста по отношению к адвентициальному краю (окружающие ткани), 2 – для оценки роста опухоли по отношению к слизистой оболочке. Один поперечно вырезанный образец следует забрать проксимальнее опухолевого узла и один в зависимости от локализации опухолевого роста – дистальнее, что позволяет оценить распространение опухоли в толще стенки пищевода и выявить внутрисосудистую инвазию. Также по одному блоку формируют из краев резекции (проксимального и дистального) и из области гастро-эзофагеального перехода. Забор материала из проксимального и дистального краев резекции, выполняется продольно к оси пищевода, что позволяет в последующем оценить расстояние от края резекции до опухолевого роста. С целью выявления лимфатических узлов проводится препарирование мягких тканей. Большинство лимфоузлов обнаруживаются в области гастроэзофагеального перехода. Для гистологического исследования забирается каждый выявленный лимфатический узел (для стадирования рекомендовано исследование 6 и более лимфоузлов).



Рисунок. Формирование блоков при заборе материала из зоны опухолевого роста.

Оценка расположения центра роста опухоли находит свое отражение в классификации аденокарцином, расположенных в области гастроэзофагеального перехода по Siewert [*Siewert J.R., Stein H.J. Classification of adenocarcinoma of the oesophagogastric junction. Br. J. Surg. 1998;85:1457-1459.; Stein H.J., Feith M., Siewert J.R. Cancer of the esophagogastric junction. Surg. Oncol. 2000;9:35-41*.*].* Согласно этой классификации аденокарциномы дистального отдела пищевода с центром опухоли, расположенным на расстоянии от 1 до 5 см выше зоны гастроэзофагеального перехода, обозначают как 1 тип по Siewert; с центром расположенным в пределах 1 см над и 2 см под зоной гастроэзофагеального перехода – как 2 тип по Siewert; с центром опухоли, расположенным между 2 и 5 см ниже зоной гастроэзофагеального перехода обозначается как 3 тип по Siewert. Такой условный подход позволяет определить, по какой из TNM классификаций следует оценивать опухоль. Опухоли, расположенные по Siewert 1, относят к первичным аденокарциномам пищевода, по Siewert 2 и Siewert 3 рассматривают как первичные аденокарциномы желудка. Плоскоклеточные и мелкоклеточные раки, расположенные в области гастроэзофагеального перехода (топографически соответствующие Siewert 2) классифицируются как первичные опухоли пищевода.

При проведении неоадъювантной терапии с полным патологическим ответом, локализация опухолевого ложа указывается также в переложении к классификации по Siewert.

При отсутствии очевидного опухолевого роста при макроскопическом исследовании следует проводить серийные продольные разрезы пищевода с целью выявления минимальных изменений слизистой оболочки для исключения плоскоклеточного рака in situ, пищевода Баретта, дисплазии. Для более наглядной верификации макроскопических изменений слизистой оболочки возможна обработка внутренней поверхности раствором Люголя в концентрации 1% в течение 1-2 минут. При такой обработке нормальный эпителий приобретает темно-коричневый цвет, а зоны, соответствующие раку in situ и тяжелой дисплазии не окрашиваются *[Mori M, Adachi Y, Matsushima T, Matsuda H, Kuwano H, Sugimachi K.Lugol staining pattern and histology of esophageal lesions. Am J Gastroenterol. 1993;88(5):701–705.].*

В случаях, когда поиск лимфатических узлов затруднен, адвентиция может быть помещена в фиксатор Боуэна. Спустя несколько часов лимфатические узлы будут хорошо видны в виде белесоватых участков на фоне жировой и соединительной ткани *[Pablo A. Bejarano and Mariana Berho (2015) Examination of Surgical Specimens of the Esophagus. Archives of Pathology & Laboratory Medicine: November 2015, Vol. 139, No. 11, pp. 1446-1454.].* Практикамаркировки лимфатических узлов в зависимости от анатомического расположения не нашла применения, поскольку нет данных об изменении прогноза в зависимости от топографии пораженных метастазами лимфатических узлов *[Ide H, Nakamura T, Hayashi K, et al. Esophageal squamous cell carcinoma: pathology and prognosis. World J Surg. 1994;18(3):321–330.].*

**Оценка циркулярного края резекции (CRM)**

R –статус является независимым прогностическим фактором

R0 – подразумевает полную резекцию опухоли без вовлечения краев резекции на основании макроскопического и микроскопического исследований;

R1 – обозначение используется в случае отсутствия макроскопических признаков опухолевого роста, но обнаружения при микроскопическом исследовании опухолевых депозитов в циркулярном крае резекции;

R2 – макроскопически определяемый рост опухолевой ткани в циркулярном крае резекции (этот параметр может быть отмечен не только патологоанатомом в ходе макроскопического исследования образца, но и хирургом).

**Вариант макроскопического описания макропрепарата при резекции пищевода по поводу злокачественного новообразования.**

*На исследование доставлен биоматериал в пластиковом контейнере, с соответствующей маркировкой и направлением на исследование в которых обозначены номер истории болезни, Ф.И.О. пациента и надпись " С-р пищевода".*

*Материал не фиксирован. Макропрепарат – фрагмент пищевода длиной 21,0 см с проксимальным отделом желудка; в окружающей жировой клетчатке – множество швов. При осмотре с поверхности на расстоянии 10,0 от проксимального края резекции определяется узловатого вида зона циркулярного выбухания стенки, протяженностью 4,0 см. В этой зоне стенка пищевода каменистой плотности. Выполнена маркировка проксимального и дистального краев резекции, а также участка выбухания стенки черным красителем.*

*По рассечении пищевода, со стороны проксимального края на расстоянии 9,0 см определяется зона циркулярного сужения, с диаметром просвета до 1,0 см. При дальнейшем рассечении препарата в этом участке со стороны слизистой оболочки определяется язвенный дефект стенки кишки в виде циркулярной язвы с валикообразно приподнятыми краями хрящеватой плотности грязно-серыми рыхлыми наложениями; протяженность дефекта по набольшему размеру 3,5 см, глубина – 0,5 см от уровня неизмененной слизистой оболочки. В остальных отделах слизистая оболочка кишки бархатистая, с типичным рельефом. Гастро-эзофагеальный переход без особенностей.*

*Макропрепарат фиксирован к жесткой основе, погружен в раствор 10% забуференного формалина на 24 часа.*

*После фиксации (дата, время) произведено рассечение стенки пищевода в области опухолевого роста– макроскопически со стороны слизистой оболочки в зоне описанного язвенного дефекта определяется разрастание хрящеватой плотности волокнистой бело-серой ткани, распространяющейся вглубь стенки кишки с прорастанием всех слоев стенки и наличием зон врастания в окружающую жировую клетчатку по циркулярному краю (R2?).*

*Латерально опухолевая ткань распространяется в толще стенки пищевода на 1,0-1,5 см от краев дефекта, определяемых с поверхности.*

*При исследовании окружающей пищевод жировой клетчатки удалось сформировать 15 блоков, предположительно содержащих лимфатические узлы. Выявленные лимфатические узлы размерами до 1,0х0,5х0,5 см, эластичные, на разрезе однородного вида, бело-серого цвета.*

*По результату макроскопического исследования вырезаны фрагменты ткани с маркировкой:*

*I – область опухолевого роста (4 фрагмента)*

*II– стенка пищевода дистальнее опухолевого роста (1 фрагмент)*

*III – стенка пищевода проксимальнее опухолевого роста (1 фрагмент)*

*IV – дистальный край резекции (1 фрагмент)*

*V – проксимальный край резекции (1 фрагмент)*

*VI – гастро-эзофагеальный переход (1фрагемнт)*

*VII – параэзофагеальные лимфатические узлы (15 блоков).*

**Особенности исследования препарата пищевода при проведении неоадъювантной терапии**

Тактика исследования операционного препарата в случае неоадъювантной терапии соответствует принципам рутинного исследования с учетом требований классификации ВОЗ и TNM стадирования и указанием символа «y» (ypTNM). В связи с терпевтическим фиброзом препарат, получаемый в ходе эзофагоэктомии, может иметь дефекты стенки, что должно быть отражено в протоколе исследования.

В случае присутствия видимой опухоли после неоадъювантной терапии вырезка материала проводится обычным образом. Примерно в 1/3 случаев после неоадъювантной терапии опухоль может не визуализироваться или быть плохо различимой, что затрудняет исследование. Явления фиброза, развивающиеся в исходе неоадъювантной терапии, также затрудняют макроскопическую дифференцировку опухоли. Чаще зона опухолевого роста расположена центрально в области фиброза и представлена отечной тканью. Учитывая, что полный морфологический ответ является предиктивным фактором благоприятного исхода, патоморфолог должен исключить факт резудиальной болезни тщательным микроскопическим исследованием зоны опухолевого ложа. *[Histopathologic Examination and Reporting of Esophageal Carcinomas Following Preoperative Neoadjuvant Therapy Practical Guidelines and Current Issues Fuju Chang, Harriet Deere, Ula Mahadeva, and Simi George, Am J Clin Pathol 2008;129:252-262]*

При проведении неоадьювантной терапии опухолей в зоное гастроэзофагеального перехода используется классификация по Siewert.

**Сведения, которые должны быть отражены в патологоанатомическом исследовании при эзофагоэктомии:**

1. Тип операции и какие структуры/органы были предоставлены для исследования?

2. В каком участке пищевода возникла опухоль (шейный, верхний грудной, средний грудной, нижний грудной) или другой патологический процесс (ахалазия, кисты, дивертикулы, стриктуры, язвы и т.п.)

3. Гистологический тип опухоли и её градация (дифференцировка).

4. Размер, локализация, максимальная глубина инвазии опухоли. Является ли опухоль in situ – новообразованием? Если опухоль инвазивная, то на какую глубину распространяется опухолевый рост (собственная пластинка, подслизистая оболочка, мышечная оболочка, адвентиция или окружающие ткани)?

5. Имеется ли прорастание в желудок? Присутствует или нет инвазия в сосуды (кровеносные/лимфатические)?

6. Вовлечение опухолью какого-либо из краев резекции. Состояние проксимального (эзофагеального), дистального (желудочного) и радиального (адвентициального) края.

7. Состояние слизистой оболочки пищевода в неопухолевой/предопухолевой зоне. Присутствуют ли изменения, характерные для пищевода Баретта, дисплазия, воспаление или инфекционный процесс?

8. Есть ли признаки метастатического поражения? Указать количество исследованных лимфатических узлов и количество лимфатических узлов, с метастатическим поражением.

**TNM классификация опухолей пищевода, включая гастро-эзофагеальный переход.**

**T – первичная опухоль**

TX – первичная опухоль не может быть оценена

T0 – отсутствуют признаки первичной опухоли

Tis – карцинома in situ/тяжелая (высокой степени) дисплазия

T1 – опухоль прорастает lamina propria, мышечную пластинку слизистой оболочки или подслизистую оболочку.

T1a - опухоль прорастает собственную и мышечную пластинку слизистой оболочки

T1b - опухоль прорастает подслизистую основу

T2 – опухоль прорастает мышечную оболочку

Т3 – опухоль прорастает адвентициальную оболочку

Т4 – опухоль прорастает окружающие структуры

T4a – опухоль прорастает плевру, перикард или диафрагму

T4b – опухоль проратстает другие, прилежащие структуры, такие как аорта, тела позвонков или трахею.

**N\* - регионарные лимфоузлы**

NХ – оценка регионарных лимфатических узлов невозможна

N0 – отсутствие метастазов в регионарных лимфоузлах\*\*

N1 – метастазы в 1-2 регионарных лимфоузлах

N2 – метастазы в 3-6 регионарных лимфоузлах

N3 – метастазы в 7 и более регионарных лимфоузлах.

\* - под регионарными лимфатическими узлами, независимо от расположения первичной опухоли, понимают узлы, относящиеся к системе лимфооттока пищевода, включая параэзофагеальные лимфоузлы за исключением надключичных.

\*\* – гистологическое исследование регионарных лимфатических узлов обычно включает исследование 6 и более лимфоузлов. Если все исследованные лимфатические узлы не содержат метастазов, но их число менее 6-ти, случай классифицируется как pN0.

**М – отдаленные метастазы**

M0 – отдаленные метастазы отсутствуют (только клиническая классификация)

M1 – наличие отдаленных метастазов (*pM1* – верифицируется микроскопически)

*Не используются обозначения pM0 и pMХ*