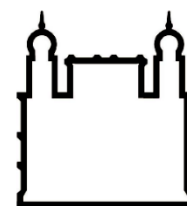




UFBA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**



FIOCRUZ

Curso de Pós-Graduação em Patologia Humana

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DE MARGENS CIRCUNFERENCIAIS, EXTENSÃO
EXTRAPROSTÁTICA E ESCORE DE GLEASON EM PRODUTOS DE
PROSTATECTOMIA RADICAL EXAMINADOS POR MÉTODO DE
INCLUSÃO PARCIAL E MÉTODO DE INCLUSÃO PARCIAL COM
INCLUSÃO SUPLEMENTAR DE TODA PERIFERIA DA PRÓSTATA**

LUIZA CAVALCANTI FADUL

Salvador - Bahia

2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Patologia Humana

**AVALIAÇÃO DE MARGENS CIRCUNFERENCIAIS, EXTENSÃO
EXTRAPROSTÁTICA E ESCORE DE GLEASON EM PRODUTOS DE
PROSTATECTOMIA RADICAL EXAMINADOS POR MÉTODO DE INCLUSÃO
PARCIAL E MÉTODO DE INCLUSÃO PARCIAL COM INCLUSÃO
SUPLEMENTAR DE TODA PERIFERIA DA PRÓSTATA**

LUIZA CAVALCANTI FADUL

Orientador: Prof. Dr. Daniel Abensur Athanzio

Dissertação apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Patologia Humana,
para a obtenção do grau de Mestre.

Salvador - Bahia

2016

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

F146a Fadul, Luiza Cavalcanti.
Avaliação de margens circunferenciais, extensão extraprostática e escore de Gleason em produtos de prostatectomia radical examinados por método de inclusão parcial e método de inclusão parcial com inclusão suplementar de toda periferia da próstata. / Luiza Cavalcanti Fadul. - 2016.
44 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Abensur Athanazio, Laboratório de Patologia e Biologia Molecular.

Dissertação (Mestrado em Patologia) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, 2016.

1. Neoplasias da Próstata. 2. Prostatectomia. 3. Estadiamento de Neoplasia
I. Título.

CDU 616-006.6-65

“AVALIAÇÃO DE MARGENS CIRCUNFERENCIAIS, EXTENSÃO EXTRAPROSTÁTICA E ESCORE DE GLEASON EM PRODUTOS DE PROSTATECTOMIA RADICAL EXAMINADOS POR MÉTODO DE INCLUSÃO PARCIAL E MÉTODO DE INCLUSÃO PARCIAL COM INCLUSÃO SUPLEMENTAR DE TODA PERIFERIA DA PRÓSTATA”

LUIZA CAVALCANTI FADUL

FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 24 de novembro de 2016

COMISSÃO EXAMINADORA

Dr. Luiz Eduardo Café Cardoso Pinto
Professor Adjunto
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

Dra. Iguaracyra Barreto de Oliveira Araujo
Professora
UFBA

Dr. Daniel Abensur Athanázio
Professor
UFBA

Dedico este trabalho aos meus pais

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Daniel Abensur Athanazio pelo apoio e incentivo, sempre.

À Professora Doutora Iguaracyra Barreto de Oliveira Araújo por quem tenho infinita admiração.

Ao Hospital Universitário Professor Edgard Santos e ao IMAGEPAT, por serem instituições que incentivam a prática da pesquisa.

Aos meus pais, por tudo o que sou.

A Ricardo, sempre juntos, tudo juntos.

À Sra. Ana Maria Fiscina Vaz Sampaio, por toda a ajuda na revisão do texto.

We become what we think about.

Earl Nightingale

FADUL, Luiza Cavalcanti. Avaliação de margens circunferenciais, extensão extraprostática e escore de Gleason em produtos de prostatectomia radical examinados por método de inclusão parcial e método de inclusão parcial com inclusão suplementar de toda periferia da próstata. 44 f. il. Dissertação (Mestrado em Patologia Humana) – Universidade Federal da Bahia. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, 2016.

RESUMO

INTRODUÇÃO: Estudos recentes sugerem que a inclusão parcial deixa de detectar até 21% e 47% de margens circunferenciais positivas (MCP) e extensão extraprostática (EEP), respectivamente. Kim et al (2009) sugerem que a inclusão de toda a periferia da próstata (3mm de espessura) previne a falha na detecção de MCP e EEP. **OBJETIVO:** Comparar um método de inclusão parcial de produtos de prostatectomia radical com a inclusão suplementar de toda periferia da próstata. **METODOLOGIA:** Foram revistos 148 casos de produtos de prostatectomia radical em dois serviços de patologia de Salvador-BA, após a adoção de um protocolo incluindo 3mm de tecido periférico da próstata. Foi avaliado se após a análise das lâminas histológicas adicionais houve mudança na margem, extensão extraprostática, escore de Gleason e extensão da MCP e EEP. **RESULTADOS:** O método de inclusão parcial deixou de detectar 29% do envolvimento de MCP e 20% dos casos com EEP. Mudança de acometimento focal para extenso foi observada em 11/21 (52%) casos de MCP e em 5/13 (38%) dos casos de EEP. Mudança no escore de Gleason foi incomum (5%). **CONCLUSÃO:** Os resultados mostram a importância da inclusão de toda a periferia da próstata para análise microscópica quando métodos de inclusão parcial são adotados.

Palavras-chave: Neoplasias da Próstata; Prostatectomia; Estadiamento de Neoplasias

FADUL, Luiza Cavalcanti. Assessment of the circumferential margins, extraprostatic extension and Gleason score in radical prostatectomy specimens: Comparison of a partial embedding method with supplemental total inclusion of peripheral tissues. 44 f. il. Dissertation (Masters in Human Pathology) - Federal University of Bahia. Oswaldo Cruz Foundation, Institut Gonçalo Moniz, Salvador, 2016.

ABSTRACT

BACKGROUND: Recent data suggest that up to 21% of positive circumferential margins (PCM) and 47% of extraprostatic extension (EPE) samples may be missed when partial embedding methods are employed. Kim and colleagues (2009) suggested that total inclusion of the periphery (3 mm rim) of the prostate prevented the failure to detect PCM and EPE. **DESIGN:** Radical prostatectomy specimen (n = 148) slides were reviewed after adoption of a protocol that included a 3 mm rim of peripheral tissues. We evaluated whether the analysis of supplemental slides of prostate periphery changed margin status, presence of EPE, Gleason score and extent of PCM and EPE. **RESULTS:** Partial sampling resulted in missing 29% of PCM and 20% of EPE without using data from the supplemental slides of prostate periphery. Changes from focal to extensive disease were found in 11/21 (52%) cases of positive circumferential margins and in 5/13 (38%) cases of extraprostatic extension. Changes in the Gleason score were uncommon (5%). **CONCLUSIONS:** These results indicate the importance of including all the prostate peripheral tissue for microscopic analysis when partial embedding methods are adopted.

Keys words: Prostate neoplasia, Prostatectomy, Staging of neoplasia

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Material processado em um produto de prostatectomia radical – mapeamento da próstata em 12 regiões (cassetes em linhas superiores). Na linha média, os cassetes representam secções sagitais de margem basal, margem apical, vesículas seminais direita e esquerda, e linfonodos pélvicos direito e esquerdo. As secções suplementares de margens e tecido extraprostático são mostradas nos cassetes da linha inferior). 18
- Figura 2.** Lâmina histológica com secções suplementares de margem circunferencial e tecido extraprostático. 19
- Figura 3.** Fotomicrografia de lâmina histológica representando infiltração perineural da neoplasia no tecido adiposo extraprostático (hematoxilina e eosina, 40x). 23
- Figura 4.** Fotomicrografia de lâmina histológica ilustrando a presença de glândula neoplásica no tecido fibroso periprostático e entre vasos de grande calibre. Vê-se também infiltração perineural (hematoxilina e eosina, 40x). 24

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Frequência de margens circunferenciais positivas e mudança do status focal para não focal após análises das secções suplementares de margem e tecido extraprostático 20
- Tabela 2:** Frequência de extensão extraprostática e mudança do status focal para não focal após análises das secções suplementares de margem e tecido extraprostático 22
- Tabela 3:** Frequência de casos que deixariam de ter margens circunferenciais positivas ou extensão extraprostática detectados caso as secções suplementares de margem e tecido extraprostático não fossem processadas e examinadas, estratificados por outros achados patológicos. 25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CA	Câncer
CAP	Câncer de próstata
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
EEP	Extensão extraprostática
HUPES	Hospital Universitário Professor Edgard Santos
INCA	Instituto Nacional do Câncer
ISUP	International Society of Urological Pathology
MCP	Margens circunferenciais positivas
OMS	Organização Mundial da Saúde
PSA	Prostatic Specific Antigen (antígeno prostático específico)
SSMTEP	Secções suplementares de margens e tecido extraprostático

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	O CARCINOMA DA PRÓSTATA	
1.1	O EXAME ANATOMOPATOLÓGICO DE PRODUTOS DE PROSTATECTOMIA RADICAL – INCLUSÃO TOTAL VERSUS PARCIAL	
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	
3	METODOLOGIA	17
3.1	CASUÍSTICA	
3.2	ANÁLISE ESTATÍSTICA	
3.3	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	
4	RESULTADOS	18
4.1	MARGENS CIRCUNFERENCIAIS POSITIVAS	
4.2	EXTENSÃO EXTRAPROSTÁTICA	
4.3	FATORES QUE INFLUENCIARAM A PERDA DE INFORMAÇÃO EM PRODUTOS DE PROSTATECTOMIA RADICAL EXAMINADAS PELO MÉTODO DE INCLUSÃO PARCIAL	
5	DISCUSSÃO	27
6	CONCLUSÃO	29
	REFERÊNCIAS	30
	ANEXOS	32

1 INTRODUÇÃO

1.1 O CARCINOMA DA PRÓSTATA

O câncer de próstata (CAP) é a neoplasia maligna mais incidente em homens nos países desenvolvidos com 68 novos casos por 100.000 homens por ano, em contraste com 14,5 casos por 100.000 homens por ano em países em desenvolvimento. A mortalidade é desproporcionalmente maior em países em desenvolvimento (6,6 por 100.000 homens por ano) quando comparada com países desenvolvidos (10,0 por 100.000 homens por ano) (BRASIL, 2016).

No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimou para o ano de 2016, 61.200 novos casos de CAP, com incidência de 61 casos novos por 100 mil homens. O CAP é neoplasia maligna de maior incidência em homens na Região Sudeste (62/100 mil) e Nordeste (51/100 mil). Para as outras regiões, também é o câncer mais incidente em homens, quando é excluído o câncer de pele não melanoma nas Regiões Sul (95/100 mil), Centro-Oeste (67/100 mil) e Norte (29/100 mil) (BRASIL, 2016).

Refletindo uma tendência mundial, a incidência de CAP tem aumentado no Brasil nas últimas décadas, especialmente pela maior expectativa de vida da população mundial e brasileira. Sabe-se que o principal fator de risco para o desenvolvimento do CAP é a idade. Em torno de 62% dos CAP são diagnosticados em homens com mais de 65 anos e estima-se um aumento na incidência desta neoplasia em até 60%, até o ano de 2015. Além disso, a maior disponibilidade de métodos diagnósticos e a melhoria nos sistemas de informação podem também explicar, em parte, o aumento na detecção de casos novos. Outras associações incluem: raça/etnia negra, história familiar, dieta rica em gordura animal, embutidos, e síndrome metabólica /diabete tipo II (BRASIL, 2016).

De acordo com o INCA, no Brasil, há uma tendência do aumento da mortalidade pelo CAP, em consonância com o que ocorreu nos Estados Unidos, inclusive com números maiores do que aqueles observados para o câncer de pulmão. Como ocorre com o carcinoma da mama em mulheres, há uma tendência de aumento da mortalidade (pelo aumento da incidência) em que pese o fato de que cada vez mais estas neoplasias podem ser mais curadas ou controladas com as novas opções terapêuticas de ferramentas para o diagnóstico precoce (BRASIL, 2016).

1.2 O EXAME ANATOMOPATOLÓGICO DE PRODUTOS DE PROSTATECTOMIA RADICAL – INCLUSÃO TOTAL VERSUS PARCIAL

O uso disseminado de triagem de pacientes com toque retal e dosagem sérica de antígeno prostático específico (PSA) há três décadas, assim como a estratégia de biopsiar a próstata em múltiplos fragmentos, resultou na detecção de adenocarcinomas acinares da próstata cada vez menores. Muitos destes tumores, em especial os não palpáveis, não são detectáveis ao exame macroscópico do produto de prostatectomia radical. Desta forma, ao contrário da maioria das peças cirúrgicas oncológicas, a detecção macroscópica de um tumor ou nódulo pelo patologista não é possível ou não é suficiente para guiar o procedimento do exame anatomopatológico. Há um longo debate na Uropatologia sobre a necessidade de inclusão total ou parcial da próstata para avaliação dos fatores prognósticos presentes no produto de prostatectomia. O gasto de tempo de trabalho e recursos associados à inclusão total é um problema real na rotina de laboratórios de Patologia Cirúrgica, em especial com o aumento substancial de prostatectomias nas últimas três décadas (SARAMATUNGA et al., 2011). O laudo anatomopatológico do produto de prostatectomia radical informa achados morfológicos com implicações prognósticas e que nortearão as condutas terapêuticas futuras. Os mais importantes destes fatores são: o grau histológico (escore de Gleason), extensão extraprostática, comprometimento das margens cirúrgicas, invasão das vesículas seminais, volume do tumor e presença de metástases nodais (EBLE et al., 2004).

De acordo com a *American Society of Clinical Pathologists* (TRUE LD, 1994), apenas 12% de todos os patologistas adotam a inclusão total da próstata como método de rotina para exame de produtos de prostatectomia radical. Mais recentemente, a *International Society of Urologic Pathology* (ISUP) realizou um consenso sobre como realizar o exame anatomopatológico de produtos de prostatectomia radical. Algumas condutas amplamente usadas, como a marcação das margens de ressecção com tinta nanquim, e as secções separadas pelo método do cone das extremidades basal (margem vesical) e apical (da uretra distal) foram consensuais. Na conferência de consenso, de modo interessante, as inclusões total e parcial da próstata receberam o voto de 62% e 63% dos participantes, respectivamente, aparentemente porque alguns uropatologistas acreditam que ambos os métodos podem ser aceitáveis a depender da situação. Definiu-se que a inclusão parcial é aceitável desde que (94% de acordo), caso o método seja a inclusão parcial, o método deva ser padronizado no laboratório e explicitado como foi realizado no laudo (SARAMATUNGA et al., 2011).

Sehdev e colaboradores (2001) avaliaram retrospectivamente nove estratégias de inclusão parcial de produtos de prostatectomias. De 380 pacientes com carcinomas de próstata com estadiamento clínico T1c (não palpáveis, diagnosticados por biópsia de agulha), presumivelmente com menor possibilidade de ser reconhecido macroscopicamente, 75 casos foram selecionados por conter pelo menos um dos três achados adversos: escore de Gleason \geq 7, margens comprometidas e extensão extraprostática. As próstatas foram incluídas em sua totalidade (média de 34 lâminas por caso) e as estratégias foram testadas para avaliar a capacidade de detecção destes achados adversos. A detecção do escore de Gleason alto variou de 83% a 98% nos diferentes métodos, no entanto, a detecção de margens positivas (71-100%) e extensão extraprostática (62-96%) apresentou variações consideráveis. Ao final, dois métodos foram recomendados: 1) inclusão de toda metade posterior da próstata e uma secção da região média e anterior de cada lado, com inclusão de todo o lado médio e anterior na eventualidade de detecção de tumor de tamanho considerável na secção desta região; e 2) um método similar ao 1 sendo que apenas o lado da região posterior com biópsia prévia positiva era incluído totalmente. Estas duas estratégias detectaram escore de Gleason \geq 7, margens positivas e extensão extraprostática em 98%, 100% e 96%; e 92%, 93% e 85% dos casos, respectivamente.

Outros autores sugerem que a perda de informações relevantes pode ser bem menor. Vainer e colaboradores (2011) relataram que a estratégias de incluir secções alternadas da próstata (quando comparadas com a inclusão total) resultou em não detecção de extensão extraprostática em dois casos e de margens positivas em um caso numa série de 238 prostatectomias consecutivas. Em uma série de 148 prostatectomias, Kim e colaboradores (2009) avaliaram cinco estratégias de inclusão parcial. A detecção de margens positivas e extensão extraprostática foi de: 83% e 84% para secções alternadas; 87% e 88% para secções alternativas mais a inclusão de todos os quartos posteriores com biópsias positivas; 89% e 88% para inclusão total dos dois quartos posteriores; 91% e 90% para inclusão total dos dois quartos posteriores mais uma secção da região média e anterior de cada lado; e 100% e 100% para secções alternadas mais inclusão de toda a periferia (orla de 3mm de espessura) incluindo a superfície externa (margem de ressecção pintada em tinta nanquim). Ainda neste trabalho, os autores observaram que adoção na quarta estratégia da mesma metodologia descrita por Sehdev e colaboradores em 2001, ou seja, inclusão numa segunda etapa de todo o lado da região média e anterior quando a secção única deste lado mostrou tumor de tamanho considerável, resultavam também na detecção de todos os casos de margens positivas e extensão extraprostática. No entanto, a maioria dos autores provavelmente concordaria que a

estratégia em duas etapas demanda mais tempo, acaba resultando num número de secções quase equivalente à inclusão total, e exige controle da posição anatômica do material mantido na reserva/arquivo do exame macroscópico. Ou seja, não é um método aplicável à rotina diagnóstica (VAINER et al., 2011).

Mais recentemente, na maior série dedicada ao assunto (618 produtos de prostatectomia radical), os resultados foram desencorajadores para o uso de estratégias de inclusão parcial. Quando comparados com a inclusão total, a detecção de margens positivas e extensão extraprostática foi de: 87% e 72% para secções alternadas, 79% e 53% para secções posteriores mais uma secção média e anterior de cada lado, e 95% e 93% para o método previamente recomendado por Epstein e colaboradores (1996). Nesta série mais recente, o método de inclusão total da orla periférica não foi avaliado (IREMASHVILI et al., 2013).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar um método de inclusão parcial de produtos de prostatectomia radical com o mesmo método acrescido da inclusão suplementar de toda periferia da próstata, com ênfase na taxa de detecção de marcadores morfológicos de valor prognóstico para o adenocarcinoma acinar da próstata.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar a frequência de detecção de margens circunferenciais positivas em produtos de prostatectomia radical examinados por um método de inclusão parcial e por um método de inclusão suplementar de toda periferia da próstata.

Comparar a frequência de detecção de extensão extraprostática em produtos de prostatectomia radical examinados por um método de inclusão parcial e por um método de inclusão suplementar de toda periferia da próstata.

Comparar o escore de Gleason (gradação histológica) obtido em produtos de prostatectomia radical examinados por um método de inclusão parcial e por um método de inclusão suplementar de toda periferia da próstata.

Comparar a quantidade de lâminas histológicas geradas pelo método de inclusão parcial padrão adotado pelos laboratórios, com quantidade gerada para inclusão das secções suplementares de toda a periferia da próstata.

3 METODOLOGIA

3.1 CASUÍSTICA: Foram revistas lâminas histológicas de produtos de prostatectomia radical do Serviço de Patologia do Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES) e do Laboratório de Patologia Imagepat (Laboratório privado), ambos em Salvador, Bahia, de 01/01/2013 a 31/12/2013. Todos os casos foram analisados por dois patologistas com experiência em Uropatologia. Os dados foram coletados para alimentar banco de dados.

3.2 METODOLOGIA: Desde o início de 2013, os dois serviços de Patologia adotaram a metodologia de inclusão parcial dos produtos de prostatectomia radical com inclusão suplementar de toda a periferia da próstata (Figura 1). O detalhamento da metodologia empregada está disponível em Procedimento Operacional Padrão de Produto de Prostatectomia Radical adotado pelo HUPES, como anexo a esta dissertação.

A presença de margens positivas e de extensão extraprostática foi detectada e relatada conforme recomendações (MAGI-GALLUZZI, C. et al, 2011; TAN, P.H. et al, 2011). Para a quantificação tanto de margens circunferenciais positivas quanto de extensão extraprostática foram utilizados os critérios sugeridos por Wheeler et al. (1998). Para a classificação de EEP: envolvimento focal para envolvimento de menos de um campo de maior aumento em duas ou menos seções separadas, e não focal (extenso) para envolvimento mais extensos. Para análise, mudanças no grau de Gleason foram definidas como modificação do escore de Gleason total, mudanças no padrão primário (por exemplo, de 3+4 para 4+3) ou detecção de um padrão terciário de Gleason 5.

3.3 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS: O protocolo de pesquisa desse trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em pesquisa (CEP) com seres humanos do Hospital Universitário Edgard Santos.

Aprovação na data de 09/06/2014

Número do parecer: 679.163

4 RESULTADOS

Do total de 148 casos analisados, 46 foram provenientes do HUPES e 102 foram provenientes do Imagepat. Para os casos do HUPES, a idade média de diagnóstico foi 65,8 anos ($\pm 6,4$); o volume médio da próstata foi 41,5 ml ($\pm 47,4$); o número médio de secções com câncer foi 10 ($\pm 5,1$); o Gleason primário foi 3 na maioria dos casos (76%) e o escore de Gleason foi ≥ 7 em 74% dos casos; em 9% e 4% dos casos se detectou, respectivamente, margens apical e basal positivas. Para as prostatectomias do Imagepat, a idade média de diagnóstico foi 64,6 anos ($\pm 7,1$); o volume médio da próstata foi 36,9 ml ($\pm 30,1$); o número médio de secções com câncer foi 8,5 ($\pm 5,1$); o Gleason primário foi 3 em 86% dos casos e o escore de Gleason foi ≥ 7 em 65%; em 4% e 1% dos casos se detectou, respectivamente, margens apical e basal positivas.

Das 148 lâminas histológicas avaliadas, a inclusão de toda a periferia da próstata resultou em um aumento médio de 10 lâminas (± 5) por produto de prostatectomia em comparação com a metodologia padrão de inclusão parcial de duas secções por cada uma das doze regiões da próstata (16 lâminas) (**Figuras 1 e 2**).



Figura 1. Material processado em um produto de prostatectomia radical – mapeamento da próstata em 12 regiões (cassetes em linhas superiores). Na linha média, os cassetes representam secções sagitais de margem basal, margem apical, vesículas seminais direita e esquerda, e linfonodos pélvicos direito e esquerdo. As secções suplementares de margens e tecido extraprostático são mostradas nos cassetes da linha inferior).



Figura 2. Lâmina histológica com secções suplementares de margem circunferencial e tecido extraprostático.

4.1 MARGENS CIRCUNFERENCIAIS POSITIVAS

A inclusão de toda a periferia da próstata aumentou a frequência de detecção de margens circunferenciais positivas (MCP) de 39 (26%) para 55 (37%). O que representa a não detecção de 29% dos casos de MCP quando não incluídas as secções suplementares de margem e tecido extraprostático (SSMTEP). De 21 casos inicialmente identificados como comprometimento focal de margem, o exame das secções suplementares resultou em detecção de comprometimento não focal em 11 (52%) (Tabela 1). O comprometimento de margens foi proporcionalmente maior para próstatas com volume $\leq 32\text{mL}$; nessas, a detecção passou de 33% para 44%, com mudança para margem extensa em 62% dos casos inicialmente avaliados como padrão focal. Quando analisados para o número de secções, percentagem de envolvimento e volume do carcinoma, a frequência de detecção foi maior para prostatectomias com > 10 secções envolvidas por carcinoma (aumento de 31% para 45%), $> 10\%$ de envolvimento da glândula envolvida por carcinoma (aumento de 38% para 51%) e volume > 3 ml (aumento de 36% para 56%). Para o escore de Gleason ≤ 6 o achado de margens positivas dobrou; o aumento para os escores 7 e ≥ 8 foi de, respectivamente, 19% e 30%. Para casos que apresentaram componente de alto grau (Gleason 4/5), houve aumento de 44% para 59% e mudança para o padrão extenso em 56% dos casos inicialmente avaliados como padrão focal, quando volume > 1 ml, bem como aumento de 48% para 61% e mudança para padrão extenso em 56% dos casos inicialmente avaliados como padrão focal, quando $> 3\%$ de envolvimento por carcinoma. Com relação a próstatas com margem apical positiva, em

dois casos se detectou comprometimento de margem quando incluídas as SSMTEP, quanto a próstatas com margem basal positiva e invasão de vesículas seminais, não houve mudança (Tabela 1).

Tabela 1: Frequência de margens circunferenciais positivas e mudança do status focal para não focal após análises das secções suplementares de margem e tecido extraprostático

	MCP Antes	MCP após SSMTEP	MCP Focal	Quantas MCP originalmente focais foram extensas após SSMTEP
	n/N(%)	n/N(%)	n	n/N(%)
Volume da próstata				
> 32	11/64 (17)	18/64 (28)	8	3/8 (38)
≤ 32	28/84 (33)	37/84 (44)	13	8/13 (62)
Secções com CA				
> 10	16/51 (31)	23/51 (45)	9	5/9 (56)
≤ 10	23/97 (23)	32/97 (33)	12	6/12 (50)
% de envolvimento por CA				
> 10	22/57 (38)	29/57 (51)	12	6/12 (50)
≤ 10	17/90 (19)	26/90 (29)	9	5/9 (56)
Volume do CA				
> 3	17/47 (36)	25/47 (53)	9	6/9 (67)
≤ 3	19/95 (20)	27/95 (28)	10	5/10 (50)
Gleason primário				
3	31/123 (25)	43/123 (35)	18	8/18 (44)
4 ou 5	8/25 (32)	12/25 (48)	3	3/3 (100)
Escore de Gleason				
≤ 6	5/48 (10)	10/48 (21)	5	2/5 (40)
= 7	30/90 (33)	38/90 (42)	13	7/13 (54)
≥ 8	4/10 (40)	7/10 (70)	3	2/3 (67)
% de envolvimento por CA G4/5				
> 3	15/31 (48)	19/31 (61)	9	5/9 (56)
≤ 3	17/66 (26)	24/66 (36)	6	4/6 (67)

Volume do CA G4/5				
> 1	15/34 (44)	20/34 (59)	9	5/9 (56)
≤ 1	17/63 (27)	23/63 (37)	6	4/6 (67)
Margem apical positiva	(0)	2/8 (25)	0	(0)
Margem basal positiva	3/3 (100)	3/3 (100)	3	1/3 (33)
Invasão de vesículas seminais	5/7 (71)	5/7 (71)	2	1/2 (50)

MCP: Margem cirúrgica positiva; SSMTEP: Secções suplementares de margem e tecido extraprostático; CA: carcinoma; G4/5: carcinoma de alto grau.

4.2 EXTENSÃO EXTRAPROSTÁTICA

A inclusão de toda a periferia da próstata aumentou a frequência de detecção de extensão extraprostática de 24 (16%) para 30 (20%). O que representa a não detecção de 20% dos casos de EEP quando não incluídas as SSMTEP. De 13 casos inicialmente identificados como comprometimento focal do tecido extraprostático, o exame das secções suplementares resultou em detecção de extensão extraprostática não focal em cinco (38%) (**Tabela 2**). O aumento na detecção se restringiu às próstatas ≤ 32mL. Quando analisados para o número de secções, percentagem de envolvimento e volume do carcinoma, a frequência de detecção foi maior para prostatectomias com > 10 secções (aumento de 29% para 35%), > 10% de envolvimento (aumento de 35% para 42%) e volume > 3 ml (aumento de 32% para 36%). Para o escore de Gleason ≤ 6 o achado de margens positivas triplicou; não houve variação para escore de Gleason 7, o aumento para escore ≥ 8 foi de 10%. Para casos que apresentaram componente de alto grau – Gleason 4/5 – houve aumento de 41% para 47%, e mudança para o padrão extenso em 43% dos casos inicialmente avaliados como focal, quando volume > 1mL, bem como aumento de 45% para 55% e mudança para padrão extenso em 43% dos casos inicialmente avaliados como padrão focal, quando > 3% de envolvimento por carcinoma. Com relação às margens apical, basal e à invasão de vesículas seminais, não houve mudança (**Tabela 2**).

Tabela 2: Frequência de extensão extraprostática e mudança do status focal para não focal após análises das secções suplementares de margem e tecido extraprostático

	EEP Antes n/N(%)	EPE Após SSMTEP n/N(%)	EEP Focal n	Quantas EPE originalmente focais foram extensas após SSMTEP n/N(%)
Volume da próstata				
> 32	8/64 (13)	9/64 (14)	2	1/2 (50)
≤ 32	16/84 (19)	21/84 (25)	11	4/11 (36)
Secções com CA				
> 10	15/51 (29)	18/51 (35)	8	1/8 (13)
≤ 10	9/97 (9)	12/97 (12)	5	4/5 (80)
% de envolvimento por CA				
> 10	20/57 (35)	24/57 (42)	10	2/10 (20)
≤ 10	4/90 (4)	6/90 (7)	3	3/3 (100)
Volume do CA				
> 3	15/47 (32)	17/47 (36)	6	2/6 (33)
≤ 3	6/95 (6)	9/95 (9)	5	2/5 (40)
Gleason primário				
3	16/123 (13)	21/123 (17)	11	3/11 (27)
4 ou 5	8/25 (32)	9/25 (36)	2	2/2 (100)
Escore de Gleason				
≤ 6	1/48 (2)	4/48 (8)	1	1/1 (100)
= 7	16/90 (18)	17/90 (19)	8	2/8 (25)
≥ 8	7/10 (70)	8/10 (80)	4	2/4 (50)
% de envolvimento por CA G4/5				
> 3	14/31 (45)	17/31 (55)	7	3/7 (43)
≤ 3	7/66 (11)	8/66 (12)	4	1/4 (25)
Volume do CA G4/5				
> 1	14/34 (41)	16/34 (47)	7	3/7 (43)

≤ 1	7/63 (11)	9/63 (14)	4	1/4 (25)
Margem apical positiva	1/8 (13)	1/8 (13)	0	(0)
Margem basal positiva	1/3 (33)	1/3 (33)	1	(0)
Invasão de vesículas seminais	5/7 (71)	5/7 (71)	2	(0)

EEP: Extensão extraprostática; SSMTEP: Secções suplementares de margem e tecido extraprostático;
CA: carcinoma; G4/5: carcinoma de alto grau.

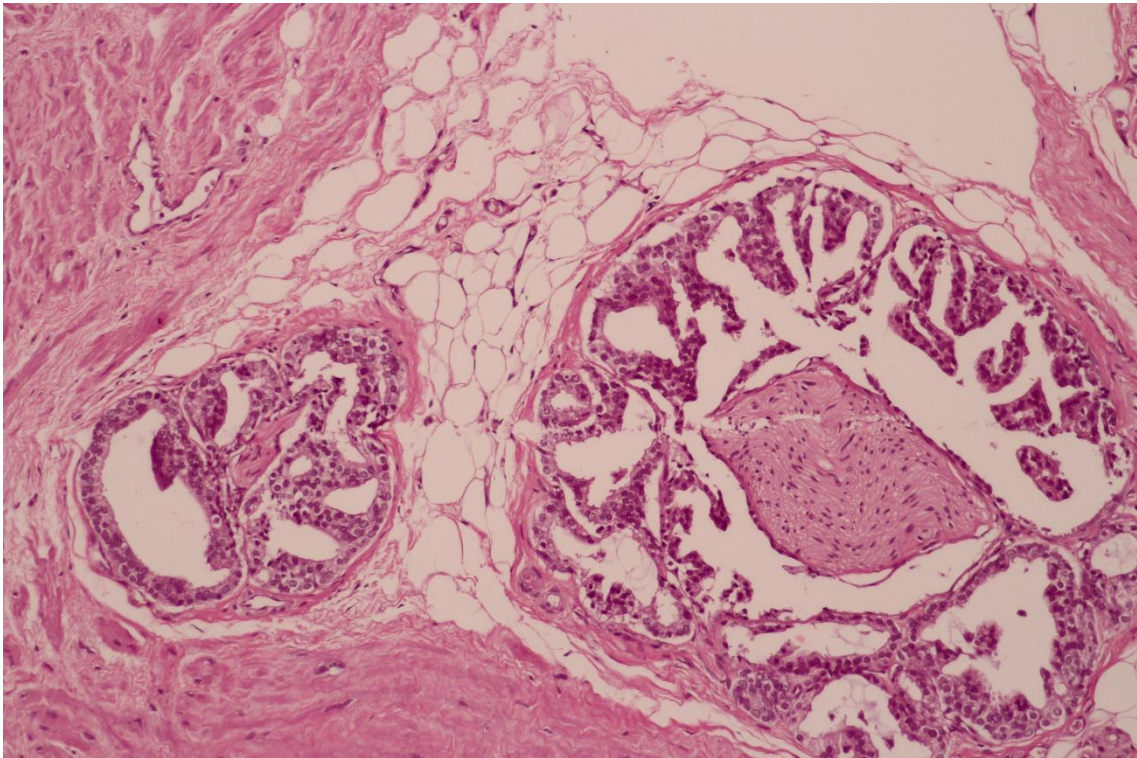


Figura 3. Fotomicrografia de lâmina histológica representando infiltração perineural da neoplasia no tecido adiposo extraprostático (hematoxilina e eosina, 40x).

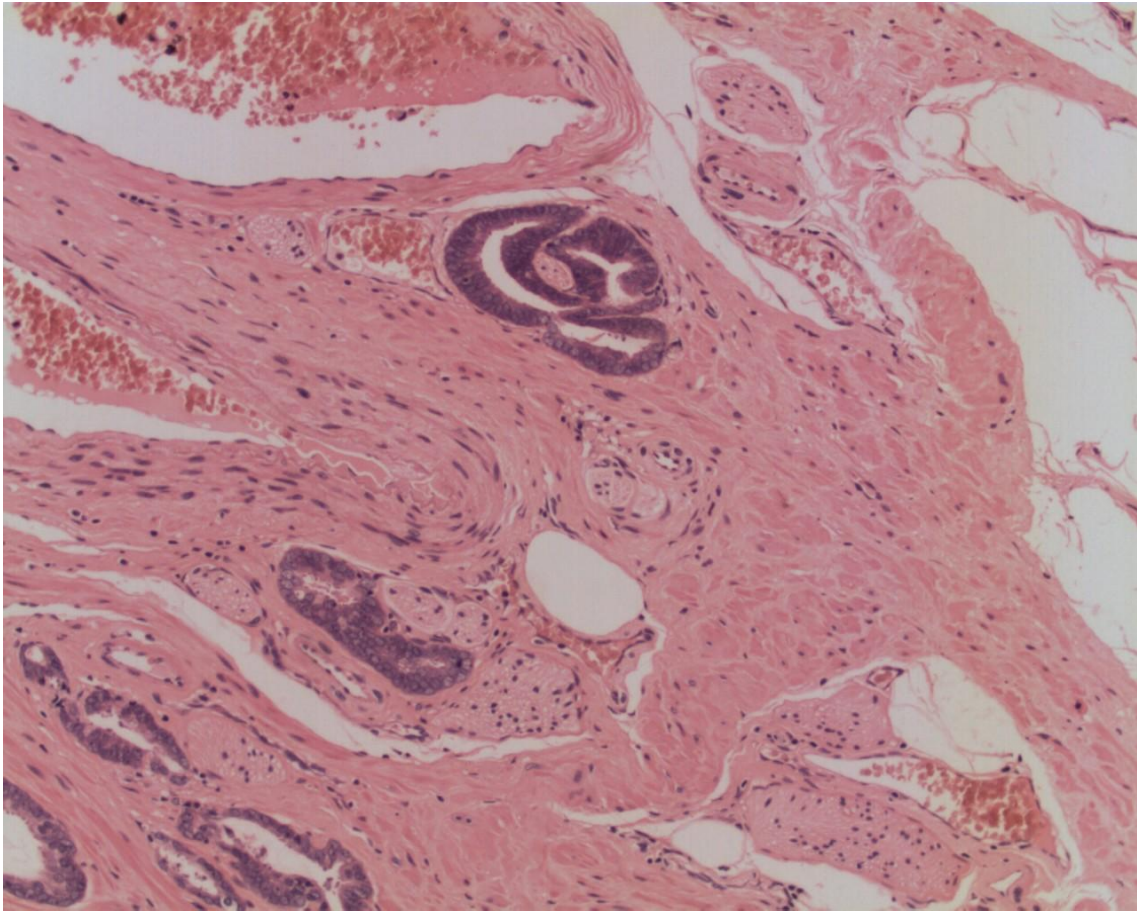


Figura 4. Fotomicrografia de lâmina histológica ilustrando a presença de glândula neoplásica no tecido fibroso periprostático e entre vasos de grande calibre. Vê-se também infiltração perineural. (hematoxilina e eosina, 40x).

4.3 FATORES QUE INFLUENCIARAM A PERDA DE INFORMAÇÃO EM PRODUTOS DE PROSTATECTOMIA RADICAL EXAMINADAS PELO MÉTODO DE INCLUSÃO PARCIAL

A Tabela 3 lista fatores que influenciaram a perda de informação quando comparados os métodos de inclusão parcial e a inclusão parcial com exame de toda a periferia da glândula. Mais casos de MCP deixariam de ser detectados sem a avaliação das SSMTEP nas seguintes condições: maior volume da próstata (07/18: 39%), escore de Gleason ≤ 6 (05/10: 50%) e escore de Gleason > 7 (03/07: 43%), além de não terem sido detectados em ambos os casos de margem apical positiva (02/02: 100%).

Mais casos de EEP deixariam de ser detectados sem a avaliação das nas seguintes condições: próstatas com $\leq 10\%$ de envolvimento por carcinoma (02/06:33%), volume de carcinoma na próstata ≤ 3 ml (03/09: 33%) e escore de Gleason ≤ 6 (03/04:75%).

Tabela 3: Frequência de casos que deixariam de ter margens circunferenciais positivas ou extensão extraprostática detectados caso as secções suplementares de margem e tecido extraprostático não fossem processadas e examinadas, estratificados por outros achados patológicos

	Margens circunferenciais positivas 55/148 (37%) Em quantos casos haveria perda da detecção de MCP sem as secções suplementares? n/N (%)	Extensão extraprostática 30/148 (20%) Em quantos casos haveria perda da detecção de EEP sem as secções suplementares? n/N (%)
Total	16/55 (29)	06/30 (20)
HUPES	08/26 (31)	04/16 (25)
IMAGEPAT	08/29 (26)	02/14 (14)
Volume da próstata > 33 ml	07/18 (39)	01/09 (11)
Volume da próstata ≤ 32 ml	09/37 (24)	05/21 (24)
> 10 secções com carcinoma	07/23 (30)	03/18 (17)
≤ 10 secções com carcinoma	09/32 (28)	03/12 (25)
> 10% de envolvimento por CA	07/29 (24)	04/24 (17)
≤ 10% de envolvimento por CA	09/26 (35)	02/06 (33)
> 3 ml de volume do carcinoma	08/25 (32)	02/17 (12)
≤ 3 ml de volume do carcinoma	08/27 (30)	03/09 (33)
Gleason primário 3	08/43 (19)	05/21 (24)
Gleason primário 4 ou 5	04/12 (33)	01/09 (11)
Escore de Gleason ≤ 6	05/10 (50)	03/04 (75)
Escore de Gleason 7	08/38 (21)	01/17 (06)
Escore de Gleason > 7	03/07 (43)	01/08 (13)
> 3 % de envolvimento por CA G4/5	04/19 (21)	03/17 (18)
≤ 3 % de envolvimento por CA G4/5	07/24 (29)	01/08 (13)
> 1 ml de volume do carcinoma G4/5	05/34 (15)	02/16 (13)
≤ 1 ml de volume do carcinoma G4/5	06/23 (26)	02/09 (22)
Margem apical negativa	14/53 (26)	06/29 (21)
Margem apical positiva	02/02 (100)	00/00 (00)
Margem basal negativa	10/52 (19)	06/29 (21)
Margem basal positiva	00/03 (00)	00/00 (00)
Ausência de invasão da vesícula seminal	00/07 (00)	00/00 (00)
Invasão da vesícula seminal	16/50 (32)	06/25 (24)

4.4 ESCORE DE GLEASON

Em oito (5%) produtos de prostatectomia radical, houve mudança no escore de Gleason. Destes, em quatro (50%) o Gleason aumentou, em um caso (12,5%) o escore diminuiu e em três casos (37,5%) achou-se Gleason terciário 5. Esses achados foram mais frequentes em próstatas > 32mL e com escore de Gleason prévio 7. Margens apical, basal e invasão de vesículas seminais não foram detectadas em conjunto com mudança no Gleason. Em um caso, apenas nas SSMTEP foi detectado carcinoma.

5 DISCUSSÃO

A amostragem parcial sem a avaliação de toda a periferia da próstata deixou de detectar 29% das MCP e 20% de EEP. Mudança de envolvimento parcial para extenso ocorreu em 11/21 (52%) casos com MCP e em 5/13 (38%) casos com EEP.

Recentemente, tem se dado atenção à importância de MCP e EEP no prognóstico de pacientes com câncer de próstata. No consenso da ISUP (TAN et al., 2011), em relação às margens cirúrgicas, chegou-se à conclusão que os patologistas devem dar uma medida da extensão de margens positivas. A opinião foi dividida entre a estimativa subjetiva (focal versus extensa) e medição em milímetros das margens recobertas por tinta nanquim. A importância desta nos laudos patológicos é devida às diferenças nas taxas de recorrência da doença, que variam de 0 a 13 % em margem negativa, 26 a 40 % para focal e 65 a 69% para extensas margens positivas (EPSTEIN et al., 1996). Em uma série de 265 prostatectomias, as taxas de recorrência foram de 14% para margens positivas ≤ 3 mm e 53% para margens positivas ≥ 3 mm (BABAIAN et al., 2001). Após o consenso, Billis e colaboradores (2012) estudaram a influência de margens focais (definidas como presença da neoplasia em margens em até dois quadrantes) e extensas em uma série de 360 prostatectomias, e a recorrência foi observada em 38% dos casos focais e 61% dos casos extensos. Desse modo, a extensão das MCP mostrou ser um fator de risco independente para recorrência.

Existe uma discussão semelhante em relação à EEP. A maioria dos pacientes com EEP não irá progredir em 10 anos de seguimento após a prostatectomia. No consenso ISUP, a maioria dos patologistas afirmou que é necessário o relato da extensão da EEP (MAGI-GALLUZZI et al., 2011), porém não houve consenso em relação ao método de quantificação. Uma estimativa subjetiva de envolvimento focal (poucas glândulas fora da próstata) versus extenso (mais do que poucas glândulas) sugerida por Epstein separa os índices de progressão de doença em 18% e 35% respectivamente, após seguimento por 8 anos (EPSTEIN et al., 1996). Após o consenso, Billis e colaboradores (2012) avaliaram a influência de EEP focal (definida como a presença de neoplasia em até um quadrante) em uma série de 360 prostatectomias, e a recorrência foi observada em 26% dos casos focais e 72% dos casos de EEP difusa. A EEP difusa não foi um fator independente preditor de progressão de doença, quando ajustado.

Os resultados encontrados foram semelhantes aos de Kim e colegas (2009), no sentido de que a avaliação de toda a periferia da próstata evitou a perda da informação de MP e EEP,

quando comparada a secções alternadas. No presente trabalho, as secções alternadas resultaram em 12 blocos (24 secções) em todos os casos, com um número variável de lâminas adicionais (desvio padrão de 11,4) para as secções suplementares de tecido periférico da próstata (**Figura 1**). Todo o tecido extraprostático, mesmo se mais espesso que 3mm, foi processado para assegurar a detecção da transição entre próstata e tecido extraprostático, garantindo que todo esse estivesse disponível para exame histológico.

Uma limitação do presente estudo é que a estratégia de amostragem não foi comparada à submissão da próstata em sua totalidade. Porém, é pouco provável que o que o exame da próstata residual (região central) leve a mudança na informação diagnóstica que deve ser relatada no laudo patológico de prostatectomia radical. Por definição, MP e EEP somente podem ser detectadas no tecido periférico das secções suplementares onde há tinta nanquim. Outros trabalhos mostraram que o escore de Gleason ou medidas da extensão do tumor são geralmente comparáveis em métodos de amostragem total ou parcial (HUMPHREY, 1993; LLNAOS et al., 2012).

Com base nos resultados encontrados, há a sugestão de que a inclusão suplementar de margens e tecido extraprostático deva fazer parte de todos os protocolos de exame de prostatectomia radical. Esse método pode ser facilmente adotado por laboratório de patologia ou comunidade acadêmica que utiliza métodos parciais de amostragem.

A Tabela 3 mostra que alguns fatores influenciaram a perda da informação de MP e EEP. As margens circunferenciais positivas foram menos observadas em próstatas com maior volume (7/18: 39%), o que era previsível, pois maiores áreas com tinta nanquim não seriam avaliadas por método de amostragem parcial. Próstatas com escore de Gleason ≤ 6 (5/10: 50%) apresentaram maior perda de informação de margens positivas, o que pode ser explicado pela tendência de o envolvimento ser focal nesses casos. Tumores agressivos com escore de Gleason > 7 (3/7: 43%) também apresentaram maior perda de informação de margens positivas.

A perda da informação da EEP ocorreu mais frequentemente em glândulas com $\leq 10\%$ de envolvimento por carcinoma (2/6: 33%), volume de carcinoma ≤ 3 ml (3/9: 33%) e escore de Gleason ≤ 6 (3/4: 75%). Todas essas características são indicativas de tumores menores e mais indolentes, o que pode estar associado, quando presente, com EEP focal. Desse modo, a análise das secções suplementares de tecido periférico da próstata seria necessária para detectar esses pequenos focos.

7 CONCLUSÃO

A inclusão parcial dos produtos de prostatectomia resultou na não detecção de 29% dos casos de margem circunferencial positiva, de 20% dos casos de extensão extraprostática. Mudança de acometimento focal para extensor ocorreu em 11/21 (52%) casos de MCP e em 5/13 (38%) casos de EEP. Mudanças no escore de Gleason foram incomuns (5%). Esses resultados indicam a importância da inclusão de todo o tecido periférico da próstata para análise microscópica quando métodos de amostragem parcial são adotados.

REFERÊNCIAS

BABAIAN, R.J. et al. Analysis of clinicopathologic factors predicting outcome after radical prostatectomy. **Cancer**, v. 9, p. 1414-1422, 2011.

BILLIS, A. et al. Influence of focal and diffuse extraprostatic extension and positive surgical margins on biochemical progression following radical prostatectomy. **International Brazilian Journal Urology**, v. 38, p. 175-184, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. INCA. **ESTIMATIVA – 2016. Incidência de Câncer no Brasil**, 2016.

EBLE, S.N.; EPSTEIN, S.G.; SESTERHENN, I.A. Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. **IARC**, 2004.

EPSTEIN, J.I. et al. Influence of capsular penetration on progression following radical prostatectomy: a study of 196 cases with long-term followup. **The Journal of Urology**, v. 150, p. 135-141, 1993.

EPSTEIN, J.I. et al. Prediction of progression following radical prostatectomy. A multivariate analysis of 721 men with long-term follow-up. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 20, p. 286-292, 1996.

HUMPHREY, P.A. Complete histologic serial sectioning of a prostate gland with adenocarcinoma. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 17, p. 468-472, 1993.

IREMASHVILI, V. et al. Partial sampling of radical prostatectomy specimens: detection of positive margins and extraprostatic extension. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 37, n. 2, p. 219-225, 2013.

KIM, K. et al. Limited sampling of radical prostatectomy specimens with excellent preservation of prognostic parameters of prostate cancer. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine** v. 133, p. 1278-1284, 2009.

LLANOS C.A.; BLIEDEN, C.; VERNON, S.E. Processing radical prostatectomies: an alternate-slice method is comparable with total embedding. **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 16, p. 284-287, 2012.

MAGI-GALLUZZI, C. et al. Group, International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 3: extraprostatic extension, lymphovascular invasion and locally advanced disease. **Modern Pathology**, v. 24, p. 26-38, 2011.

SAMARATUNGA, H. et al. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 1: specimen handling. **Modern Pathology**, v. 24, n. 1, p. 6-15, 2011.

SEHDEV, A.E.; PAN, C.C.; EPSTEIN, J.I. Comparative analysis of sampling methods for grossing radical prostatectomy specimens performed for nonpalpable (stage T1c) prostatic adenocarcinoma. **Human Pathology**, v. 32, n. 5, p. 494-499, 2001.

TAN, P.H. et al. Group, International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 5: surgical margins. **Modern Pathology**, v. 24, p. 48-57, 2011.

TRUE, L.D. Surgical pathology examination of the prostate gland. Practice survey by American society of clinical pathologists. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 102, n. 5, p. 572-579, 1994.

VAINER, B. et al. Handling of radical prostatectomy specimens: total or partial embedding? **Histopathology**, v. 58, n. 2, p. 211-216, 2011.

VAINER, B. et al. Response to: Handling of radical prostatectomy specimens: total or partial embedding? **Histopathology**, v. 59, n. 5, p. 1012-1013, 2011.

WHEELER, T.M. et al. Clinical and pathological significance of the level and extent of capsular invasion in clinical stage T1-2 prostate cancer. **Human Pathology**, v. 29, p. 856-862, 1998.

ANEXOS

ANEXO I

Procedimento Operacional Padrão: **Produto de Prostatectomia Radical**

Código:		Versão: 1
Criado por:	Daniel Athanazio	Modificado por:
Data de criação:	01/10/2012	Última modificação:

I. Considerações Gerais:

Este protocolo descreva os procedimentos necessários para exame anatompatológico de um produto de prostatectomia radical com ênfase na descrição de parâmetros morfológicos com valor prognóstico com ênfase na quantificação do tumor (volume do tumor e percentagem de envolvimento da próstata por carcinoma) e detecção de margens circunferências positivas e extensão extraprostática.

II. Objetivo:

Descrever a técnica para manuseio de produtos de prostatectomia radical à macroscopia, exame microscópico e emissão de laudos de acordo com as recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia, *College of American Pathologists* and *International Society of Urological Pathology*.

III. Materiais:

- Luvas, aventais, toucas, máscaras e sapatilhas descartáveis
- Navalhas, Bisturi, Faca, Pinças, Régua
- Papel toalha
- Requisição do Exame anatomopatológico
- Recipiente adequado para o descarte de seringas e agulhas

IV. Equipamentos:

- Microscópio óptico

V. Macroscopia:

- Pesar o produto de prostatectomia em conjunto com vesículas seminais e ductos deferentes
- Tingir com tinta nanquim toda superfície externa da peça

- Separar vesículas seminais e ductos deferentes da próstata mantendo identificação de lateralidade
- Medir em três dimensões da próstata
- Medir em três dimensões cada vesícula seminal
- Medir em duas dimensões (comprimento x diâmetro) cada segmento de ducto deferente
- Posicionar a próstata com base na localização das vesículas seminais e margens basal (vesical) e basal (uretral distal). Usar pinça para auxiliar na identificação do trajeto da uretra
- Remover com bisturi um fragmento em forma de cone com da margem apical. Com uma navalha, separar seis a oito secções sagitais que incluam a margem apical propriamente dita
- Remover com bisturi um fragmento em forma de cone com da margem basal. Com uma navalha, separar seis a oito secções sagitais que incluam a margem basal (aberta da uretra distal) propriamente dita
- Seccionar a próstata restante em três zonas de espessura equivalente: um terço basal, um terço mediano e um terço apical
- Subdividir cada secção representando um terço da próstata em quatro regiões: anterior direita, posterior direita e posterior esquerda. Organizar a próstata em doze regiões: AAD (ápice anterior direito), APD (ápice posterior direito), AAE (ápice anterior esquerdo), APE (ápice posterior esquerdo), MAD (mediano anterior direito), MPD (mediano posterior direito), MAE (mediano anterior esquerdo), MPE (mediano posterior esquerdo), BAD (base anterior direito), BPD (base posterior direito), BAE (base anterior esquerdo), BPE (base posterior esquerdo)
- Cada uma das regiões da próstata é seccionada em cortes seriados de ~2 mm de espessura na forma aproximada de um quadrante. Uma secção é representada para processamento histológico e a seguinte separada para ser armazenada no material que ficará na reserva do exame macroscópico. O processo é repetido até obter duas secções por cada região. As demais secções são separadas para a reserva. Assim são criados os cassetes 1 a 12.
- Os cassetes incluídos as secções sagitais das margens basal e apical são processados, respectivamente, como cassetes 13 e 14.
- As duas secções mais proximais das secções de 2mm de espessura de cada vesícula seminal (incluindo ducto deferente do mesmo lado) são incluídas nos cassetes 15 (direita) e 16 (esquerda)
- O material restante não incluindo nos cassetes 1 a 16 deverão ser, antes de destinados à reserva, manipulados para remoção de toda a periferia pintada em nanquim preto (3 mm periféricos) de toda a próstata (excluindo-se restante distal de vesículas seminais e ductos deferentes). As secções periféricas são denominadas SSMTEP (Secções suplementares de margem e tecido extraprostático) e podem eventualmente ser mais espessas que 3 mm para garantir a representação da transição entre próstata e tecido (adiposo) extraprostático. O examinador deve atentar que secções que, na histologia, apresentem apenas tecido adiposo extraprostático sem transição para próstata não servirão para excluir a possibilidade de extensão extraprostática não representada que foi enviada para a reserva.
- As SSMTEP são incluídas a partir do número iniciado após o exame dos linfonodos (caso enviados em separado) e devem ser organizadas sempre em seis fragmentos por cassete
- Linfonodos devem ser incluídos totalmente. Não é necessário distinguir entre a presença de um ou mais linfonodos no material enviado.
- Um modelo de descrição macroscópica segue abaixo:
Recebidos, em formol, em recipientes separados rotulados como:

PRODUTO DE PROSTATECTOMIA RADICAL: peça cirúrgica representada por

próstata, vesículas seminais e segmentos de ductos deferentes pesando em conjunto _____ gramas. A próstata mede _____ x _____ x _____ cm. Exibe superfície externa regular de coloração parda. Aos cortes mostra tecido esbranquiçado com áreas nodulares branco-amareladas de consistência firme. A vesícula seminal direita mede _____ x _____ x _____ cm e exibe superfície externa parda e lobulada com luz pérvia. O segmento de ducto deferente direito mede _____ cm de comprimento e _____ cm de diâmetro médio. A vesícula seminal esquerda mede _____ x _____ x _____ cm e exibe superfície externa parda e lobulada com luz pérvia. O segmento de ducto deferente esquerdo mede _____ cm de comprimento e _____ cm de diâmetro médio.

Toda periferia da próstata incluída (blocos 1 a 12) e secções suplementares de margem e tecido extraprostático

LINFONODO _____ (ilíaco/obturador/pélvico) À DIREITA:

Linfonodo que mede _____ x _____ x _____ cm com extensa substituição adiposa (todo material incluído).

LINFONODO _____ (ilíaco/obturador/pélvico) À ESQUERDA (LNE):

Linfonodo que mede _____ x _____ x _____ cm com extensa substituição adiposa (todo material incluído).

Recebidos, em formol, em recipientes separados rotulados como:

PRODUTO DE PROSTATECTOMIA RADICAL: peça cirúrgica representada por próstata, vesículas seminais e segmentos de ductos deferentes pesando em conjunto _____ gramas. A próstata mede _____ x _____ x _____ cm. Exibe superfície externa regular de coloração parda. Aos cortes mostra tecido esbranquiçado com áreas nodulares branco-amareladas de consistência firme. A vesícula seminal direita mede _____ x _____ x _____ cm e exibe superfície externa parda e lobulada com luz pérvia. O segmento de ducto deferente direito mede _____ cm de comprimento e _____ cm de diâmetro médio. A vesícula seminal esquerda mede _____ x _____ x _____ cm e exibe superfície externa parda e lobulada com luz pérvia. O segmento de ducto deferente esquerdo mede _____ cm de comprimento e _____ cm de diâmetro médio.

Toda periferia da próstata incluída (blocos 1 a 12) e secções suplementares de margem e tecido extraprostático

LINFONODO _____ (ilíaco/obturador/pélvico) À DIREITA:

Linfonodo que mede _____ x _____ x _____ cm com extensa substituição adiposa (todo material incluído).

LINFONODO _____ (ilíaco/obturador/pélvico) À ESQUERDA (LNE):

Linfonodo que mede _____ x _____ x _____ cm com extensa substituição adiposa (todo material incluído).

Secções

- 1) Ápice anterior direito 2/1
- 2) Ápice posterior direito 2/1
- 3) Ápice anterior esquerdo 2/1
- 4) Ápice posterior esquerdo 2/1
- 5) Mediano anterior direito 2/1
- 6) Mediano posterior direito 2/1
- 7) Mediano anterior esquerdo 2/1
- 8) Mediano posterior esquerdo 2/1
- 9) Base anterior direito 2/1
- 10) Base posterior direito 2/1
- 11) Base anterior esquerdo 2/1
- 12) Base posterior esquerdo 2/1
- 13) Margem basal/vesical e colo da bexiga ___ / 1
- 14) Margem apical/uretral ___ / 1
- 15) Vesícula seminal direita 2/1
- 16) Vesícula seminal esquerda 2/1
- 17) Linfonodo à direita ____ / ____
- 18) Linfonodo à esquerda ____ / ____
- 19) Secções suplementares de margem e tecido extraprostático 6/1
- 20) Secções suplementares de margem e tecido extraprostático 6/1
- 21) Secções suplementares de margem e tecido extraprostático 6/1
- 22) Secções suplementares de margem e tecido extraprostático 6/1
- 23) Secções suplementares de margem e tecido extraprostático 6/1
(até o fim das secções suplementares)

VI. Microscopia e Emissão do laudo

- Cada lâmina de 1 a 12 deve ter cada uma de suas secções pintadas com caneta piloto (de cor clara, que permite observação por transparência) de seis pontos equidistantes
- Para cada região de 1 e 12, o examinador deverá anotar quantas secções (x/2) estão envolvidas por carcinoma, quantos pontos estão envolvidos por carcinoma (x/8) e quantos

pontos estão envolvidos por carcinoma de alto grau – padrões de Gleason 4 ou (x/8). A descrição microscópica pode seguir o modelo a seguir:

As secções de próstata mostram focos de adenocarcinoma acinar infiltrativo (vide conclusão) presente nas seguintes secções:

- AAD - Ápice anterior direito: em x/2 secções e x/8 pontos
- APD - Ápice posterior direito: em x/2 secções e x/8 pontos
- AAE - Ápice anterior esquerdo: em x/2 secções e x/8 pontos
- APE - Ápice posterior esquerdo: em x/2 secções e x/8 pontos
- MAD - Região mediana anterior direita: em x/2 secções e x/8 pontos
- MPD - Região mediana posterior direita: em x/2 secções e x/8 pontos
- MAE - Região mediana anterior esquerda: em x/2 secções e x/8 pontos
- MPE - Região mediana posterior esquerda: em x/2 secções e x/8 pontos
- BAD - Base anterior direita: em x/2 secções e x/8 pontos
- BPD - Base posterior direita: em x/2 secções e x/8 pontos
- BAE - Base anterior esquerda: em x/2 secções e x/8 pontos
- BPE - Base posterior esquerda: em x/2 secções e x/8 pontos

Caso se aplique, em cada região, acrescente-se: (x/8 pontos com neoplasia de alto grau)

- Para cada região, considera-se a secção que tenham maior contagem de pontos do carcinoma total e do componente de alto grau.
- Por aproximação: 8 pontos de 12 regiões representam 96 pontos (~1% da próstata é representada por cada ponto). O número de pontos envolvidos é expresso como percentagem de envolvimento da próstata por carcinoma. Se nenhum ponto marcado é atingido por algum foco de carcinoma, a conclusão deve informar que a como percentagem de envolvimento da próstata por carcinoma é menor que 1%
- O volume do tumor é calculado baseado na fórmula que multiplica as três dimensões da próstata. O resultado é multiplicado por uma constante (x0,52) usada na estimativa do volume da próstata. O volume da próstata multiplicado pela percentagem de envolvimento resulta no volume da próstata (expresso em ml ou cm³)
- O mesmo princípio é aplicado à quantificação do componente de alto grau. Caso nenhum ponto seja atingido pelo carcinoma de alto grau, os padrões de Gleason são levados em conta para score de Gleason (incluindo grau terciário) mas o laudo deve informar que a percentagem de envolvimento da próstata por carcinoma de alto grau é menor que 1%
- O volume do tumor é calculado é calculado da mesma foram descrita acima, desta vez usando o valor da percentagem de envolvimento da próstata por carcinoma de alto grau
- Como alternativa, o volume da próstata (sem anexos) pode ser diretamente medida por deslocamento de água num tubo com marcação de volume.
- Se o tumor ocupa menos de 1% da próstata, a medida do volume deve ser expressa em < que x ml.
- As secções da margem basal (vesical) são importantes para avaliar, além do possível comprometimento das margens, a presença de carcinoma em meio a fibras musculares do colo vesical (onde não se observam mais glândulas prostática) para identificação de infiltração do colo vesical
- O estágio T2 não deve ser subestinado
- A conclusão do laudo pode seguir o modelo a seguir:

CONCLUSÃO

Produto de prostatectomia radical (pesa g)

Próstata mede: ____ x ____ x ____ cm

- ADENOCARCINOMA ACINAR INFILTRATIVO, TIPO USUAL

- grau de Gleason: 7 (3 + 4) com grau terciário 5

- neoplasia presente em x de 24 secções examinadas (de 12 regiões da próstata)
- focalidade: multifocal
- lateralidade: bilateral
- percentagem da próstata envolvida pela neoplasia: ____ %
- volume do tumor: ____ ml
- componente do tumor com alto grau histológico (Gleason 4/5):
 - percentagem da próstata envolvida por tumor de alto grau: ____ %
 - volume do componente de alto grau do tumor: ____ ml
- infiltração angiolinfática: não detectada
- infiltração perineural intraprostática: não detectada
- extensão extraprostática: não detectada
- margens cirúrgicas circunferenciais: livres de neoplasia
- margem vesical (basal): livre de neoplasia
- margem uretral (apical): livre de neoplasia
- vesículas seminais e ductos deferentes direitos e esquerdos: livres de neoplasia
- infiltração microscópica do colo vesical: não detectada
- múltiplos focos de neoplasia intraepitelial acinar de alto grau (PIN 3)
- linfonodo pélvico direito: livre de neoplasia
- linfonodo pélvico esquerdo: livre de neoplasia
- estadiamento patológico TNM: pT2 pN0 pMx

Referências

Athanazio PR, dos Santos AC, de Freitas LA, Athanazio DA. A modified point count method as a practical approach to assess the tumor volume and the percent gland involvement by prostate carcinoma. *Pathol Res Pract.* 2014 May;210(5):312-7. doi: 10.1016/j.prp.2014.02.002.

Kim K, Pak PJ, Ro JY, Shin D, Huh SJ, Cho YM. Limited sampling of radical prostatectomy specimens with excellent preservation of prognostic parameters of prostate cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2009 Aug;133(8):1278-84.

Samaratunga H, Montironi R, True L, Epstein JI, Griffiths DF, Humphrey PA, van der Kwast T, Wheeler TM, Srigley JR, Delahunt B, Egevad L; ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 1: specimen handling. *Mod Pathol.* 2011 Jan;24(1):6-15. doi: 10.1038/modpathol.2010.178.

van der Kwast TH, Amin MB, Billis A, Epstein JI, Griffiths D, Humphrey PA, Montironi R, Wheeler TM, Srigley JR, Egevad L, Delahunt B; ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 2: T2 substaging and prostate cancer volume. *Mod Pathol.* 2011 Jan;24(1):16-25. doi: 10.1038/modpathol.2010.156.

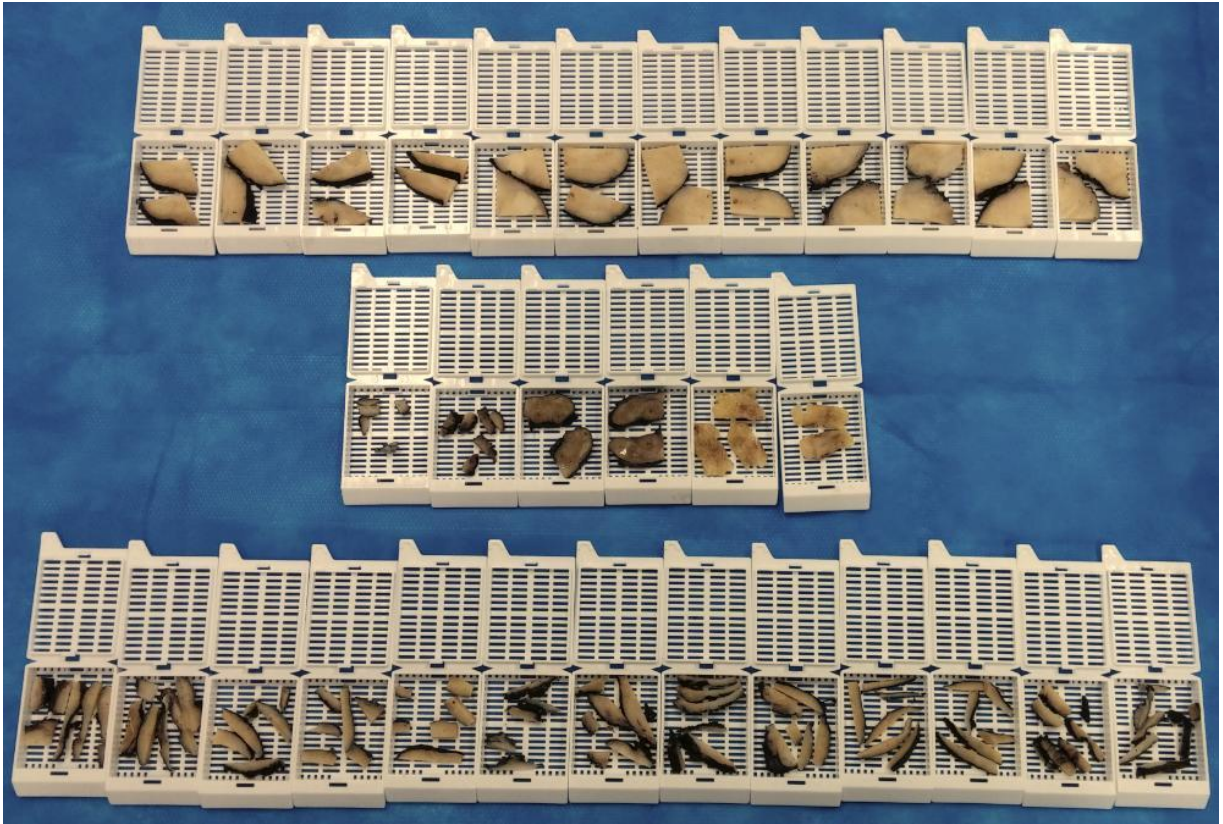
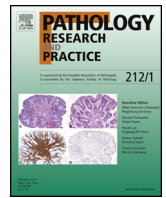
Anexo 1

Figura. Exemplo de cassetes obtidos após exame macroscópico de um produto de prostatectomia radical.

ANEXO II

Artigo publicado:

FADUL LC, da SILVA MT, de FREITAS LA, ATHANAZIO DA. Assessment of the circumferential margins, extraprostatic extension and Gleason score in radical prostatectomy specimens: Comparison of a partial embedding method with supplemental total inclusion of peripheral tissues. **Pathology Research and Practice**. 2016 Mar; 212(3):217-21. doi: 10.1016/j.prp.2015.12.014.



Original article

Assessment of the circumferential margins, extraprostatic extension and Gleason score in radical prostatectomy specimens: Comparison of a partial embedding method with supplemental total inclusion of peripheral tissues



Luiza Cavalcanti Fadul^a, Mariana Trindade da Silva^b,
Luiz Antonio Rodrigues de Freitas^{a,b,c,d}, Daniel Abensur Athanzio^{a,b,c,*}

^a Hospital Universitário Professor Edgard Santos, Rua Augusto Viana sn, Canela, Salvador 40110060, Brazil

^b Department of Pathology, Faculty of Medicine, Largo do Terreiro de Jesus s/n, Federal University of Bahia, 40025010 Salvador, Brazil

^c Gonçalo Moniz Research Center, Rua Waldemar Falcão, 121, Oswaldo Cruz Foundation, 40296710 Salvador, Brazil

^d Imagepat, Pathology Laboratory, Rua Altino Serbeto de Barros 41810570, 119 Salvador, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 August 2015

Received in revised form

11 December 2015

Accepted 22 December 2015

Keywords:

Prostatic neoplasms

Pathology

Prostatectomy

ABSTRACT

Background: Recent data suggest that up to 21% of positive circumferential margins (PCM) and 47% of extraprostatic extension (EPE) samples may be missed when partial embedding methods are employed. Kim and colleagues (2009) suggested that total inclusion of the periphery (3 mm rim) of the prostate prevented the failure to detect PCM and EPE.

Design: Radical prostatectomy specimen ($n = 148$) slides were reviewed after adoption of a protocol that included a ~ 3 mm rim of peripheral tissues. We evaluated whether the analysis of supplemental slides of prostate periphery changed margin status, presence of EPE, Gleason score and extent of PCM and EPE. **Results:** Partial sampling resulted in missing 29% of PCM and 20% of EPE without using data from the supplemental slides of prostate periphery. Changes from focal to extensive disease were found in 11/21 (52%) cases of positive circumferential margins and in 5/13 (38%) cases of extraprostatic extension. Changes in the Gleason score were uncommon.

Conclusions: These results indicate the importance of including all the prostate peripheral tissue for microscopic analysis when partial embedding methods are adopted.

© 2015 Elsevier GmbH. All rights reserved.

1. Introduction

The widespread use of prostate cancer screening based on digital rectal examination and serum specific prostatic antigen concentration in the last three decades has increased the number of minimal volume prostate adenocarcinoma detected in needle biopsies and, as a consequence, small volume carcinomas in prostatectomy specimens. In the current practice, most radical prostatectomy specimens show small tumors that are not grossly visible [4,13].

Acinar adenocarcinoma of the prostate is a major public health problem, and radical prostatectomy specimens are common in most laboratories dedicated to surgical pathology worldwide. Surprisingly, there is still no consensus on how such specimens

should be handled even if some authorities are strong defenders of total embedding of prostatic tissues for all cases [4]. Based on the International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus meeting, both total embedding and partial embedding are acceptable. It was consensual, however, to recommend that “if partial embedding is performed, a specific protocol should be followed, and the methodology should be documented in the pathology report [13]. Epstein and colleagues retrospectively studied 380 radical prostatectomy specimens from T1c (non-palpable, needle biopsy confirmed cancers) cases. The study population presumably contained small tumors that were likely to be grossly invisible. All specimens were processed in their entirety (mean of 34 slides). Adverse findings were defined as high Gleason score (≥ 7), positive margins and extraprostatic extension. Nine alternative partial sampling strategies were compared with the entire embedding to determine the feasibility of detecting these adverse findings. The approaches were based on extensive sampling of the posterior regions with several different methods for the midanterior areas. The finding of high Gleason scores oscillated from 83% to

* Corresponding author at: Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina da Bahia, Departamento de Patologia e Medicina Legal, Praça XV de novembro s/n, Largo do Terreiro de Jesus, 40025010 Salvador, BA, Brazil.

E-mail address: daa@ufba.br (D.A. Athanzio).

98% in the evaluated methods, while positive margins (71–100%) and extraprostatic extension (62–96%) had considerably broader ranges. The authors recommended two methods: embedding every posterior section plus one midanterior slice of each side (and all remaining anterior sections of one side if a sizable tumor was detected using microscopy) and a similar method that examined every posterior section that had been obtained only from the ipsilateral areas of previously positive needle biopsies. Using these two methods, high Gleason scores, positive margins and extraprostatic extensions were detected in 98, 100%, and 96% and 92%; 93% and 85% of cases for each method, respectively [14]. The asymmetric sampling of the prostate using these methods may possibly induce a potential bias in the calculation of either the tumor volume or the percentage of gland involvement [19]. It is an important issue because some assessment of the tumor extent is now part of the recommendations for the pathology reports of radical prostatectomy specimens [18]. The percentage of gland involvement and tumor volume are popular methods of estimation of the tumor size in radical prostatectomy specimens because they do not require whole mount sections as does the measurement of the linear extent of the index tumor [1].

Some reports disagree about the extent of relevant missed data by partial embedding methods. Vainer and colleagues reported that alternate slicing missed extraprostatic extension in two cases and positive margins in one case, from a case series of 238 prostatectomies [17]. Similar results were obtained by Llanos and colleagues in a smaller series of 48 specimens in which one case of extraprostatic extension and no case of positive circumferential margin were missed [10]. Recently, a large series of 618 specimens strongly discouraged partial sampling. Positive margins and extraprostatic extension were detected in 87% and 72% for the alternate slices, 79% and 53% for alternate posterior slices plus one midanterior section, and 95% and 93%, respectively, for the previously mentioned method recommended by Epstein and colleagues [8].

In a series of 148 specimens, Kim and colleagues evaluated five different methods. Positive margins and extraprostatic extension were detected in the following rates: 83% and 84% for the alternate slicing; 87% and 88% for the alternate slicing with the complete embedding of the biopsy-positive posterior quarters; 89% and 88% for every posterior half; 91% and 90% for every posterior half plus one midanterior section; and 100% and 100% for the alternate slicing with 3 mm of the peripheral rim of the remaining prostate, respectively. Importantly, the fourth method when used as the same protocol proposed by Epstein and colleagues (adding the remaining ipsilateral anterior section with the detection of a sizeable tumor) could also allow the detection of all cases of extraprostatic extension and positive margins; however, the number of blocks was similar to that of entire sampling [9].

Since the start of 2013, we have adopted the suggestion by Kim and colleagues of supplemental inclusion of 3 mm peripheral tissues of the prostate. Such change was implemented both at an academic and private laboratories in Salvador, Brazil. The aim of this study was to compare our standard method of partial embedding (representing two slides of each of 12 regions of the prostate) [1] with additional examination of supplemental sections of margins and extraprostatic tissues (SSMEPT). It may be useful for practicing pathologists to estimate how much relevant data are missed when using the currently adopted partial embedding methods and how much extra work is required to adopt the inclusion of SSMEPT.

2. Materials and methods

2.1. Patients and protocols

All consecutive radical prostatectomy specimens examined in the Laboratory of Pathology IMAGEPAT (Salvador, Brazil) between

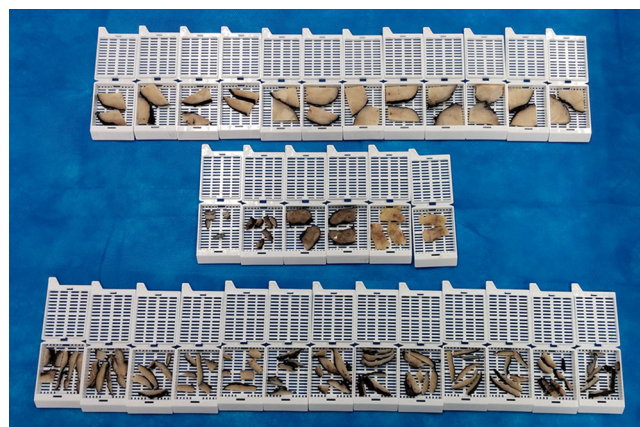


Fig. 1. Partial sampling method of the gross specimen. Upper cassettes contain samples of twelve different regions of the prostate (separated into apical, intermediate and basal regions/right and left/posterior and anterior). Central cassettes contain samples from the apical and basal regions.

January 2013 (the date on which the proposed protocol was adopted) and December 2014 were included in the study. The project was approved by the Research Ethics Committee of Hospital Universitário Professor Edgard Santos (number 679163) located in Salvador, Brazil.

All radical prostatectomy specimens were examined using the same protocol as described in detail elsewhere [1]. Briefly, both the apical and basal margins were sectioned according to the cone method and sliced in the sagittal plane. The remnant prostate was transversally sectioned into three thirds of comparable thickness, representing an apical, an intermediary and a basal third sections. Each region was sectioned into quadrants (resulting in twelve zones). Each zone was further sliced, alternating one slice for the gross specimen archive and one slice to be processed. Two slices were processed for each region, skipping one slice (24 slices in the quadrant shape, including the circumferential margin). In most prostates, this approach was equivalent to embedding alternate slices. However, it could range from total embedding in cases of small specimens to large volumes sent to gross archive in cases of larger glands. Since January 2013, we have prospectively evaluated the results of this method with examination of SSMEPT, which were processed in independent blocks. A representative case is illustrated in Fig. 1.

In the academic institution (Hospital Universitário Professor Edgard Santos), the Pathology residents were trained, and performed the gross examination and handling of specimens. In the private laboratory (Imagepat), all procedures were performed by the same pathologist experienced in urologic pathology. A peripheral 3 mm rim of peripheral prostate tissue was processed in its entirety for all cases as suggested by Kim and colleagues [9]. When grossly visible adipose extraprostatic tissue was detected, all that material (even if thicker than 3 mm) was processed to ensure detection of the transition between prostate and extraprostatic tissue. Inked margins of the two distal thirds of the seminal vesicles and deferent ducts were not processed routinely. At the first institution, residents included all SSMEPT in additional cassettes without a standard pattern of distribution. At the second institution, all SSMEPT sections were processed in the pattern of six slices per cassette (Fig. 1). As a result, we used only the data from the latter to calculate how many additional blocks and slides were required to ensure examination of all SSMEPT.

Positive margins and the presence of extraprostatic extension were detected and reported as recommended [11]. For both the quantification of positive circumferential margins and extraprostatic extension, we used the criteria suggested by Wheeler and

colleagues for the classification of extraprostatic extension [21]: focal for involvements of less than one high-power field on ≤ 2 separate sections, and non-focal (extensive) for more extensive involvements. For analysis purposes, changes in Gleason grade were defined as modification of total Gleason score, change of primary pattern (e.g., 3+4 to 4+3) or detection of a tertiary Gleason 5 pattern.

3. Results

A total of 149 radical prostatectomy specimens were included in the study: 46 from Hospital Universitário Professor Edgard Santos (public hospital) and 143 from Imagepat (private laboratory). In only one case, prostate cancer was detected only in the supplemental slides. Thus, all further analysis was conducted with the remaining 148 specimens. In the private laboratory setting, a mean \pm SD of 11.4 ± 4.2 additional blocks and slides were required for all prostate peripheral tissue. The range was 4–27 additional slides.

In this series, the rate of positive circumferential margins was 39/148 (26%) before examination of SSMEPT, and rose to 55/148 (37%) after the study of supplemental slides. In other words, 16/55 (29%) cases of positive circumferential margins would have been missed without processing all prostate peripheral tissue (Tables 1 and 2). The rate of extraprostatic extension was 24/148 (16%) before examination of SSMEPT, and rose to 30/148 (20%) after the study of supplemental slides. In other words, 06/30 (20%) cases of extraprostatic extension would have been missed without processing all prostate peripheral tissue (Tables 1 and 2). Of note, eleven cases out of the 21 cases that would have been labeled as focal positive circumferential margins before examination of SSMEPT proved to have non-focal (extensive) margin involvement after evaluation all prostate periphery, i.e., 11/21 (52%) (Table 1). In addition, five cases out of the 13 cases that would have been labeled as focal extraprostatic extension before examination of SSMEPT proved to have non-focal (extensive) extraprostatic extension after evaluation all prostate periphery, i.e., 5/13 (38%) (Table 1).

Examination of supplemental sections changed the Gleason grading (score, primary pattern or detection of a tertiary pattern 5) in 8 out of 148 cases (5%).

We were also interested in how factors associated with prostate size, tumor size and morphologic features of tumor aggressiveness influenced the rate of missed relevant information when excluding data from SSMEPT. As shown in Table 2, positive circumferential margins were more likely to be missed in prostates with higher volumes (7/18: 39%), Gleason score ≤ 6 (5/10: 50%) and Gleason score > 7 (3/7: 43%) and were missed in both cases with positive apical margins (2/2: 100%). Extraprostatic extension was more likely to be missed in prostate glands with $\leq 10\%$ involvement by carcinoma (2/6: 33%), prostate carcinoma volume ≤ 3 ml (3/9: 33%) and Gleason score ≤ 6 (3/4: 75%).

Table 1

Frequency of positive circumferential margins, extraprostatic extension and Gleason score changes in radical prostatectomy specimens –comparison of a partial embedding method with supplemental total inclusion of peripheral tissues.

	Before supplemental sections	After supplemental sections	How many cases were interpreted as focal before supplemental sections?	How many focal lesions became non focal/extensive after supplemental sections?
	n/N (%)	n/N (%)	n	n/N (%)
Positive circumferential margins	39/148 (26)	55/148 (37)	21	11/21 (52)
Extraprostatic extension	24/148 (16)	30/148 (20)	13	5/13 (38)
Supplemental sections changed Gleason score or primary Gleason pattern		8/148 (5)		

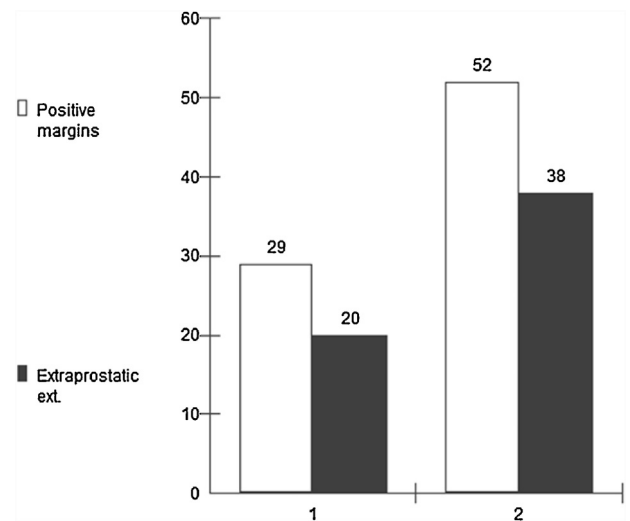


Fig. 2. Main changes in morphologic parameters of prostatectomy specimens after adoption of supplemental analysis of all prostate periphery. (1) Percentage of cases in which main findings would be missed if supplemental slides of prostate periphery were not processed. (2) Percentage of cases with findings initially labeled as focal that would have non-focal (extensive) involvement missed if supplemental slides of prostate periphery were not processed. Main findings shown are positive circumferential margins (white bars) and extraprostatic extension (solid bars).

4. Discussion

Partial sampling without evaluation of the whole prostate periphery missed 29% of positive circumferential margins and 20% of extraprostatic extension. Changes from focal to extensive involvement occurred in 11/21 (52%) cases with positive circumferential margins and in 5/13 (38%) cases with extraprostatic extension (Fig. 2).

In recent years, considerable attention has been focused on the role of the extent of positive margins and extraprostatic extension on outcome of patients with prostate cancer. From the consensus meeting of ISUP regarding surgical margins, it was agreed upon that pathologists should give a measure of the extent of positive margins while participants were divided between a subjective estimation (focal versus extensive) and measurement in mm of involved inked margins [16]. The importance of this information in pathology reports has highlighted differences in disease recurrence rates ranging from 0–13% in margin negative, 26–40% for focal and 65–69% for extensive positive margins [6,20]. In a series of 265 prostatectomies, recurrence rates were 14% for ≤ 3 mm positive margins and 53% for > 3 mm positive margins [2]. In contrast, other studies did not show that the linear extent of margin positivity is an independent predictor of recurrence when adjusted for Gleason score and preoperative factors [12]. After the consensus

Table 2
Frequency of missing cases of positive circumferential margins and extraprostatic extension without inclusion of supplemental sections of prostatic periphery and its association with prognostic factors reported in radical prostatectomy specimens.

	Positive circumferential margins 55/148 (37%) How many cases would have positive margins missed without supplemental sections? n/N (%)	Extraprostatic extension 30/148 (20%) How many cases would have extraprostatic extension missed without supplemental sections? n/N (%)
Total	16/55 (29)	06/30 (20)
HUPES (Public Hospital)	08/26 (31)	04/16 (25)
IMAGEPAT (Private laboratory)	08/29 (26)	02/14 (14)
Prostate volume >33 ml	07/18 (39)	01/09 (11)
Prostate volume ≤ 32 ml	09/37 (24)	05/21 (24)
>10 sections involved by carcinoma	07/23 (30)	03/18 (17)
≤10 sections involved by carcinoma	09/32 (28)	03/12 (25)
>10% of prostate gland involvement by carcinoma	07/29 (24)	04/24 (17)
≤10% of prostate gland involvement by carcinoma	09/26 (35)	02/06 (33)
Prostate carcinoma volume > 3 ml	08/25 (32)	02/17 (12)
Prostate carcinoma volume ≤ 3 ml	08/27 (30)	03/09 (33)
Primary Gleason 3	08/43 (19)	05/21 (24)
Primary Gleason 4 or 5	04/12 (33)	01/09 (11)
Gleason score ≤ 6	05/10 (50)	03/04 (75)
Gleason score 7	08/38 (21)	01/17 (06)
Gleason score > 7	03/07 (43)	01/08 (13)
>3% of prostate gland involved by high grade carcinoma	04/19 (21)	03/17 (18)
≤3% of prostate gland involved by high grade carcinoma	07/24 (29)	01/08 (13)
High grade prostate carcinoma >1 ml de volume	05/34 (15)	02/16 (13)
High grade prostate carcinoma ≤1 ml de volume	06/23 (26)	02/09 (22)
Apical margin – negative	14/53 (26)	06/29 (21)
Apical margin – positive	02/02 (100)	00/00 (00)
Basal margin – negative	10/52 (19)	06/29 (21)
Basal margin – positive	00/03 (00)	00/00 (00)
Seminal vesicles – free of disease	00/07 (00)	00/00 (00)
Seminal vesicles infiltrated by carcinoma	16/50 (32)	06/25 (24)

meeting, Billis and colleagues tested the influence of focal (defined as presence in up to two quadrants as focal) and extensive margins in a series of 360 prostatectomies, and biochemical recurrence was found in 38% of focal cases and 61% of cases with extensive margins. The extent of positive margins proved to be an independent risk factor for recurrence in that study [3].

A similar discussion has been taking place for extraprostatic extension. The majority of patients with extraprostatic extension will not progress over 10 years of follow-up after prostatectomy. At the ISUP consensus, a clear majority of pathologists confirmed that reporting extent of extraprostatic extension is required in pathology [11]. No consensus was reached, however, for the preferred method for quantification. A subjective estimation of focal (few glands outside the prostate) versus established (more than a few glands) involvement suggested by Epstein could separate the rates of disease progression of 18% and 35%, respectively, after an 8 year follow-up [5]. A more objective estimation as proposed by Wheeler (see Section 2) could separate the rates of disease progression of 27% and 52%, respectively, after a 5 year follow-up [21]. Sung and colleagues compared different methods of quantification of extraprostatic extension, including both mentioned above, and only the radial measurement of extraprostatic extension proved to be an independent predictor of disease progression when adjusted for preoperative PSA: 4-year PSA recurrence was 65% and 82% for patients with <0.75 mm and ≥0.75 mm extension, respectively [15]. After the consensus meeting, Billis and colleagues tested the influence of focal (defined as presence in up to one quadrant as focal) and extraprostatic extension in a series of 360 prostatectomies, and biochemical recurrence occurred in 26% of focal cases and 72% of cases with diffuse extraprostatic extension. Diffuse extraprostatic extension was not an independent predictor of disease progression when adjusted for other [3].

Our results mirror those from Kim and colleagues in the sense that the evaluation of all prostate peripheral avoided missing a substantial rate of positive margins and extraprostatic extension

when compared to alternate slides [9]. In the original series of 148 prostatectomies, five strategies were compared to entire specimen embedding. The rates of positive margins and extraprostatic extension were, respectively, 83% and 84% for alternate slices, 87% and 88% for alternate slices plus embedding of all quarters with positive needle biopsies, 89% and 88% for total embedding of posterior quarters, 91% and 90% for total embedding of posterior quarter plus one midanterior section of each side, and, finally, 100% and 100% for alternate slices plus total embedding of a ~3 mm rim of peripheral prostate tissue. Our protocol is slightly different from the above mentioned original strategy because we sample two quadrant-shaped slices for each of 12 regions (apical, intermediate and basal; further divided into anterior/posterior and right/left zones [1]). For Kim and colleagues' strict alternate slicing method, the mean number of blocks was 16 in contrast with 27 blocks for entire embedding. In our experience, sampling alternate slices of 12 regions of the prostate resulted in 12 blocks (24 sections) in all cases, with a variable number of additional slides (standard deviation of 11.4) for SSMEPT (Fig. 1). As an adaptation of the mentioned method, all the material (even if thicker than 3 mm) was processed to ensure detection of the transition between prostate and extraprostatic tissue when grossly visible amounts of adipose extraprostatic tissue were detected. This was important to insure that all extraprostatic tissue was available for histologic examination.

A limitation of our study is that we did not compare our sampling strategies with entire embedding. It is unlikely, however, that examination of all residual deep/central prostate could change the main diagnostic information that should be expressed in pathology reports of radical prostatectomies. By definition, positive margins and extraprostatic extension could be detected only in inked peripheral tissue of SSMEPT (see discussion above on the inclusion of all grossly visible adipose tissue). Previous works have shown that the Gleason score or measurements of tumor extent are usually comparable in entire and partial sampling methods and are not

the main concern when partial embedding strategies are adopted. Many authors will not agree on the rationale for total embedding of the prostate because the bulk of the gland will remain unexamined in paraffin blocks – with the actual histologic examination of the whole gland being approximately 0.17% of processed tissues [7,10].

Based on the present results, the authors suggest that inclusion of SSMEPT sampling should be part of all protocols of radical prostatectomy examination. It can be readily adopted by any academic or community pathology laboratory that currently uses partial sampling methods. Table 2 shows that some factors influenced the rate of missing positive circumferential or extraprostatic extension. These differences were not, in our view, indicative that inclusion of SSMEPT could be advocated for only a subset of specimens. Positive circumferential margins were more likely to be missed in prostates with higher volumes (7/18: 39%), which is intuitive because larger areas of inked margins will not be evaluated by partial sampling. Gleason score ≤ 6 (5/10: 50%) had a high rate of missing positive margins that may be explained by a stronger trend for this involvement to be focal in such cases. Aggressive tumors with Gleason score > 7 (3/7: 43%) also had a higher rate of missing positive margins. Both cases with positive apical margins also had apical margins missed by partial sampling (2/2: 100%), which may be explained by the fact that positive margins are more frequent in apical [16], and apical margins are surely an indication of a higher risk of positive margins in the apical third of the gland.

Extraprostatic extension has been more likely to be missed in prostate glands with $\leq 10\%$ involvement by carcinoma (2/6: 33%), prostate carcinoma volume ≤ 3 ml (3/9: 33%) and Gleason score ≤ 6 (3/4: 75%). All these characteristics would be indicative of smaller and more indolent tumors, which may be associated, when present, with focal extraprostatic extension. Therefore, examination of all SSMEPT would be required to detect these small foci.

5. Conclusion

In conclusion, partial sampling resulted in missing 29% of positive circumferential margins and 20% of extraprostatic extension. Changes from focal to extensive occurred in 11/21 (52%) cases of positive circumferential margins and in 5/13 (38%) cases of extraprostatic extension. Changes in Gleason score were uncommon. These results indicate the importance of inclusion of all prostate peripheral tissue for microscopic analysis when partial embedding methods are adopted.

Conflict of interest

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgments

This work was supported by a grant (474596/2012-5) from CNPq (National Council for Scientific and Technological Development).

References

- [1] P.R. Athanazio, A.C. dos Santos, L.A. de Freitas, D.A. Athanazio, A modified point count method as a practical approach to assess the tumor volume and the percent gland involvement by prostate carcinoma, *Pathol. Res. Pract.* 210 (2014) 312–317.
- [2] R.J. Babaian, P. Troncoso, V.A. Bhadkamkar, D.A. Johnston, Analysis of clinicopathologic factors predicting outcome after radical prostatectomy, *Cancer* 91 (2001) 1414–1422.
- [3] A. Billis, L.L. Meirelles, L.L. Freitas, L.A. Magna, L.O. Reis, U. Ferreira, Influence of focal and diffuse extraprostatic extension and positive surgical margins on biochemical progression following radical prostatectomy, *Int. Braz. J. Urol.: Off. J. Braz. Soc. Urol.* 38 (2012) 175–184.
- [4] L. Egevad, Handling of radical prostatectomy specimens: total or partial embedding? *Histopathology* 59 (2011) 1011–1012, author reply 1012–1013.
- [5] J.I. Epstein, M.J. Carmichael, G. Pizov, P.C. Walsh, Influence of capsular penetration on progression following radical prostatectomy: a study of 196 cases with long-term followup, *J. Urol.* 150 (1993) 135–141.
- [6] J.I. Epstein, A.W. Partin, J. Sauvageot, P.C. Walsh, Prediction of progression following radical prostatectomy. A multivariate analysis of 721 men with long-term follow-up, *Am. J. Surg. Pathol.* 20 (1996) 286–292.
- [7] P.A. Humphrey, Complete histologic serial sectioning of a prostate gland with adenocarcinoma, *Am. J. Surg. Pathol.* 17 (1993) 468–472.
- [8] V. Iremashvili, S.D. Lokeshwar, M.S. Soloway, L. Pelaez, S.A. Umar, M. Manoharan, M. Jorda, Partial sampling of radical prostatectomy specimens: detection of positive margins and extraprostatic extension, *Am. J. Surg. Pathol.* 37 (2013) 219–225.
- [9] K. Kim, P.J. Pak, J.Y. Ro, D. Shin, S.J. Huh, Y.M. Cho, Limited sampling of radical prostatectomy specimens with excellent preservation of prognostic parameters of prostate cancer, *Arch. Pathol. Lab. Med.* 133 (2009) 1278–1284.
- [10] C.A. Llanos, C. Blieden, S.E. Vernon, Processing radical prostatectomies: an alternate-slice method is comparable with total embedding, *Ann. Diagn. Pathol.* 16 (2012) 284–287.
- [11] C. Magi-Galluzzi, A.J. Evans, B. Delahunt, J.I. Epstein, D.F. Griffiths, T.H. van der Kwast, R. Montironi, T.M. Wheeler, J.R. Srigley, L.L. Egevad, P.A. Humphrey, I.P.C. Group, International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 3: extraprostatic extension, lymphovascular invasion and locally advanced disease, *Mod. Pathol.* 24 (2011) 26–38.
- [12] R.A. Marks, M.O. Koch, A. Lopez-Beltran, R. Montironi, B.E. Juliar, L. Cheng, The relationship between the extent of surgical margin positivity and prostate specific antigen recurrence in radical prostatectomy specimens, *Hum. Pathol.* 38 (2007) 1207–1211.
- [13] H. Samarutunga, R. Montironi, L. True, J.I. Epstein, D.F. Griffiths, P.A. Humphrey, T. van der Kwast, T.M. Wheeler, J.R. Srigley, B. Delahunt, L. Egevad, I.P.C. Group, International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 1: specimen handling, *Mod. Pathol.* 24 (2011) 6–15.
- [14] A.E. Sehdev, C.C. Pan, J.I. Epstein, Comparative analysis of sampling methods for grossing radical prostatectomy specimens performed for nonpalpable (stage T1c) prostatic adenocarcinoma, *Hum. Pathol.* 32 (2001) 494–499.
- [15] M.T. Sung, H. Lin, M.O. Koch, D.D. Davidson, L. Cheng, Radial distance of extraprostatic extension measured by ocular micrometer is an independent predictor of prostate-specific antigen recurrence: a new proposal for the substaging of pT3a prostate cancer, *Am. J. Surg. Pathol.* 31 (2007) 311–318.
- [16] P.H. Tan, L. Cheng, J.R. Srigley, D. Griffiths, P.A. Humphrey, T.H. van der Kwast, R. Montironi, T.M. Wheeler, B. Delahunt, L. Egevad, J.I. Epstein, I.P.C. Group, International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 5: surgical margins, *Mod. Pathol.* 24 (2011) 48–57.
- [17] B. Vainer, B.G. Toft, K.E. Olsen, G.K. Jacobsen, N. Marcussen, Handling of radical prostatectomy specimens: total or partial embedding? *Histopathology* 58 (2011) 211–216.
- [18] T.H. van der Kwast, M.B. Amin, A. Billis, J.I. Epstein, D. Griffiths, P.A. Humphrey, R. Montironi, T.M. Wheeler, J.R. Srigley, L. Egevad, B. Delahunt, I.P.C. Group, International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 2: T2 substaging and prostate cancer volume, *Mod. Pathol.* 24 (2011) 16–25.
- [19] R.T. Vollmer, Percentage of tumor and tumor length in prostate biopsy specimens: a study of American veterans, *Am. J. Clin. Pathol.* 130 (2008) 940–943.
- [20] V.E. Weldon, F.R. Tavel, H. Neuwirth, R. Cohen, Patterns of positive specimen margins and detectable prostate specific antigen after radical perineal prostatectomy, *J. Urol.* 153 (1995) 1565–1569.
- [21] T.M. Wheeler, O. Dilliogluligil, M.W. Kattan, A. Arakawa, S. Soh, K. Suyama, M. Otori, P.T. Scardino, Clinical and pathological significance of the level and extent of capsular invasion in clinical stage T1–2 prostate cancer, *Hum. Pathol.* 29 (1998) 856–862.