

DOCUMENTOS

Proposición de procesamiento de biopsias de la vesícula biliar, clasificación y etapificación del cáncer de la vesícula biliar*

Gallbladder cancer. A proposal for management of biopsies, classification and staging

Dr. IVÁN ROA E¹⁻²

¹Departamento de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina. Universidad de la Frontera y ²Departamento de Patología Clínica Alemana. Temuco, Chile

RESUMEN

El cáncer de la vesícula biliar es una de las neoplasias más frecuentes en nuestro país. Su alta incidencia va acompañada de un mal pronóstico en los estadios avanzados de la enfermedad, por lo cual, el diagnóstico precoz pareciera ser una de las únicas posibilidades para modificar la historia natural de esta enfermedad. El diagnóstico de cáncer vesicular en la gran mayoría de los casos es posterior al estudio histológico de las colecistectomías y el estudio anatomopatológico es determinante, no sólo en establecer el diagnóstico del tumor, si no que en precisar los elementos pronósticos de mayor importancia. De esta manera, el estudio rutinario de las piezas de colecistectomía cobra gran relevancia. En este trabajo se propone una forma de procesamiento de la vesícula biliar con y sin lesión tumoral. A través de un sencillo algoritmo es posible de acuerdo a la realidad nacional realizar un buen y completo estudio anatomopatológico de éste órgano, aportando importante información al cirujano y al paciente. Esta proposición requerirá de constante revisión producto de los nuevos hallazgos en el área de la cirugía, patología y biología molecular de esta neoplasia.

PALABRAS CLAVES: **Cáncer, vesícula biliar, patología**

SUMMARY

In gallbladder cancer, an early diagnosis and treatment is the only means to modify the natural history of the disease. The diagnosis is made mostly during the pathological study of the surgical piece after cholecystectomy. The pathological study is crucial to detect prognostic factors, therefore the routine study of all surgical pieces is of utmost importance. This article proposes a protocol to process gallbladders with or without cancer. A complete study of the piece can be done using a simple algorithm, easily applicable in Chile, that will provide important information to the surgeon and the patient. This proposal will need periodical revisions to incorporate new knowledge in the area of gallbladder cancer.

KEY WORDS: **Cancer, gallbladder, pathology**

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo corresponde en partes a la recolección de la información de autores nacionales como a la experiencia personal en el estudio del

cáncer de la vesícula biliar¹⁻¹⁴. El estudio en nuestra Unidad de alrededor de 30,000 colecistectomías, entre las cuales se han diagnosticado sobre 1.400 cánceres vesiculares y un par de centenares de displasias de la mucosa de la vesícula

*Recibido el 28 de Febrero de 2005 y aceptado para publicación el 17 de Mayo de 2005.

E-mail: Iroa@ufro.cl

biliar en los últimos catorce años, nos permite asegurar estar familiarizado con las lesiones de este órgano¹⁵. Tampoco pretende ser original, ya que la mayor parte de la información está publicada^{1,3-5,7,15-22}. Sin embargo, las pautas y protocolos tanto en el diagnóstico como de tratamiento de esta enfermedad²³⁻²⁶, han sido originados en países donde esta enfermedad es infrecuente los que no necesariamente se ajustan a nuestra realidad, por lo cual, su aplicación en nuestro medio requiere necesariamente de su adaptación.

Esta es una proposición de trabajo para un adecuado manejo de la pieza de colecistectomía en la búsqueda y diagnóstico de un cáncer vesicular y que debería ser modificada por quienes continúen con el estudio de la vesícula biliar en nuestro país.

Una de las premisas más importantes es que en Chile la mayoría de los cánceres vesiculares son un hallazgo en el intraoperatorio o en el estudio histológico de una vesícula biliar que ha sido extirpada por litiasis o inflamación crónica o aguda. En nuestros casos, no más allá del 15% de los cánceres vesiculares son diagnosticados en el preoperatorio. Por lo cual, parece adecuado e importante establecer en primer lugar, un protocolo anatomopatológico para el procesamiento rutinario de miles de colecistectomías, que son las muestras en las cuales se realiza el clínicamente insospechado diagnóstico de cáncer vesicular. Entre los elementos a considerar están: a) la alta frecuencia de cáncer de vesícula biliar en colecistectomías, cifra que bordea el 3% de las colecistectomías y que tiene un marcado y progresivo aumento con la edad, especialmente en mujeres, b) el alto porcentaje de cánceres vesiculares inaparentes que pueden alcanzar hasta el 35% del total de cánceres en colecistectomías y cuya expresión macroscópica es mínima o ausente, por lo cual, su diferenciación macroscópica con las colecistitis crónicas reagudizadas no siempre es posible y el diagnóstico en estos casos se establece posterior al estudio histológico. y c) los tumores incipientes que corresponden entre el 20-30% del total de cánceres vesiculares siendo el 50% de ellos de carácter inaparente²⁷.

Bajo estas consideraciones, el examen anatomopatológico debe ir encaminado a la búsqueda dirigida de las lesiones tumorales o sospechosas de la vesícula biliar, habiéndose demostrado el significativo impacto del estudio anatomopatológico en la incidencia de esta neoplasia⁷.

Los objetivos de un protocolo estandarizado de procesamiento de la pieza de colecistectomía son: a) uniformar el estudio de la biopsia de vesícula biliar a fin de detectar la totalidad de los cánceres

de la vesícula biliar y sus lesiones precursoras, b) precisar las principales características macro y microscópicas del tumor, así como el compromiso de estructuras de valor pronóstico o terapéutico, c) contribuir a la etapificación de los pacientes, d) permitir la comparación de los hallazgos y obtener conclusiones estadísticamente válidas, e) obtener material adecuado para estudios complementarios y finalmente satisfacer una antigua y sentida demanda de parte de los cirujanos.

Examen macroscópico

Uno de los pilares fundamentales en el estudio de la vesícula biliar es el examen macroscópico. La selección adecuada de muestras representativas de la pared para estudio histológico en las vesículas sin un tumor evidente, son la clave para el diagnóstico de los cánceres inaparentes e incipientes (así como de las lesiones preneoplásicas)^{9,17}. Una vez establecida la presencia del tumor, la determinación del nivel de infiltración tumoral tiene la mayor trascendencia por ser este el factor pronóstico independiente más importante²⁷. Esto se logra exclusivamente a través del mapeo completo de la vesícula biliar con cáncer, el que es una necesidad diagnóstica, tal y como lo es en el cuello uterino, próstata, estómago, etc. El costo del mapeo de la vesícula biliar no es mayor que el estudio seriado que se realiza en otras neoplasias de otros órganos en forma rutinaria y si además se considera su importancia, está demás justificado.

Informe anatomopatológico

Requiere de la información clínica básica que debe estar siempre consignada en la solicitud de biopsia. La correcta identificación y el RUT son indispensables. Solicitudes incompletas deben ser rechazadas. Las muestras deben ser enviadas en contenedores apropiados e identificados. El envío de las piezas quirúrgicas a la Unidad de Anatomía Patológica en condiciones ideales debería ser inmediato y en fresco. Sin embargo, en gran parte de los Hospitales no existen las condiciones para que ello se cumpla, por lo cual las vesículas biliares deben ser sumergidas en formalina, idealmente tamponada en una relación de 10:1. En estas condiciones deben ser enviadas lo antes posible para su procesamiento.

Una vez procesadas e informadas una copia de los informes de pacientes con cáncer vesicular, debe enviarse al coordinador local de cáncer vesicular y proceder a su inmediato control y evaluación.

Esquema de procesamiento de vesículas biliares sin sospecha macroscópica de cáncer (Figura 1)

1. Identificación caras (lado hepático, seroso)
2. Apertura por el borde seroso desde el conducto cístico hasta el fondo
3. Identificación borde cístico
4. Identificación ganglio cístico (en ocasiones el ganglio cístico está localizado en la subserosa)
5. Cálculos: consignar número tamaño y características.
6. Extensión de la vesícula biliar en planchas de parafina y sumersión en formalina tamponada por 12-24 horas
7. Digitalización de la pieza
8. Examen macroscópico
9. Selección y número de muestras
10. Diagnóstico histológico
11. En presencia de lesiones displásicas o hallazgo de un cáncer inaparente, realizar mapeo en segunda intención. Se debe tomar muestras del borde cístico y marcar la cara correspondiente al lecho hepático.
12. Informe definitivo.

Una selección de entre dos y cuatro muestras representativas, dependiendo de la longitud vesicular y que incluyan a lo menos un 75% del largo total de la vesícula biliar, nos permite diagnosticar prácticamente la totalidad de los cánceres y displasias de la vesícula biliar²⁸.

Procesamiento colecistectomías con sospecha macroscópica de cáncer

Se procede al mapeo en primera intención, seleccionando muestras identificadas para su pro-

cesamiento inicial. En tumores con compromiso de la serosa no se requiere el estudio de toda la pieza quirúrgica, ya que el tumor ya alcanzó el máximo nivel de infiltración posible.

Información requerida del examen macroscópico

- Longitud vesicular: los cánceres se asocian a vesículas de mayor tamaño.
- Espesor de la pared: la mayoría de los cánceres tienen un espesor mayor 0,5 cm.
- Patrón de la mucosa: los patrones que con mayor frecuencia se asocian a cáncer son el papilar, nodular y mamelonado.
- Colesterosis: presenta una asociación negativa con cáncer vesicular.
- Número y tamaño de cálculos: cálculos mayores de 3 cm. y volúmenes de cálculos de más de 10 ml. tienen riesgo relativo de cáncer entre 9 y 11 veces más respectivamente.
- Inflamación Aguda: alrededor de la mitad de los cánceres se diagnostican en vesículas con inflamación aguda.
- Presencia de tumor: se debe consignar tamaño, localización, forma, extensión, número de lesiones, compromiso de serosa, etc.

Información requerida del examen microscópico

Para la clasificación microscópica del cáncer de la vesícula biliar, que incluye el tipo histológico y el grado de diferenciación, sugerimos utilizar la siguiente clasificación.

1. Tipo histológico: (AJCC)²⁹
 - a) Adenocarcinoma no especificado: papilar; tubular; tipo intestinal; mucinoso; células claras;

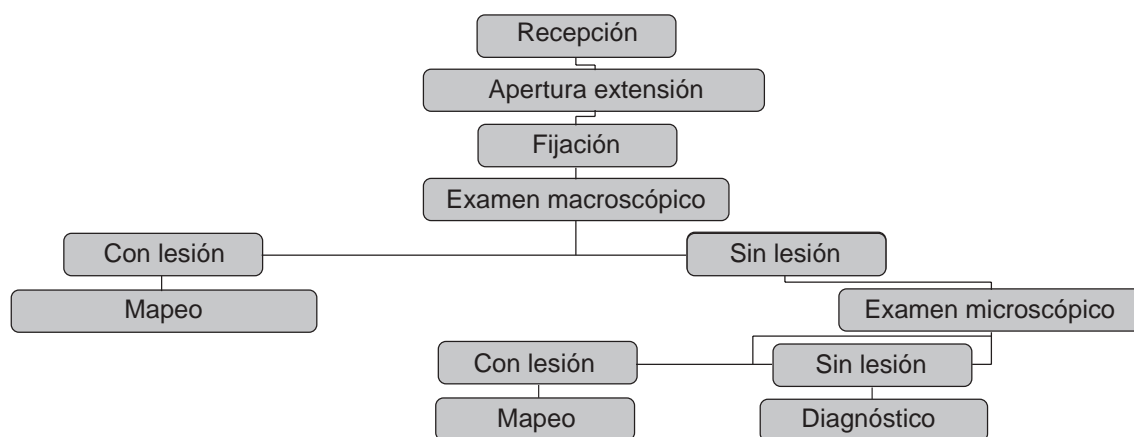


Figura 1. Esquema de procesamiento de pieza de colecistectomía.

células en anillo de sello; adenoescamoso; indiferenciado

- b) Epidermoide.
- c) Células pequeñas.
- d) Carcinosarcoma.
- e) Otros.

2. Grado de diferenciación: (AJCC):

- Gx= no puede ser establecido
- G1= bien diferenciado (> 95%)
- G2= moderadamente diferenciado (50-95%)
- G3= poco diferenciado (5-49%)
- G4= indiferenciado (< 5%)

3. Nivel de infiltración:

- CIS= Carcinoma *in situ* (CIS)
- MU= Mucoso
- MP= Muscular
- SS= Subseroso
- SE= Seroso
- EV= Extravesicular

Mapeo de la vesícula biliar

Se emplea exclusivamente para lesiones neoplásicas y displasias. El objetivo fundamental es determinar con exactitud el nivel de infiltración tumoral y bordes (Figura 2). En cada inclusión (taco de parafina), es posible poner hasta 3 secciones de 3 cm de longitud por 0,5 cm de espesor, lo que permite realizar un mapeo completo de la vesícula biliar con 10 a 15 inclusiones. El mapeo puede realizarse en forma programada (procesar algunas muestras), en los casos con compromiso de la serosa o del borde hepático en las primeras muestras, no sería necesario el mapeo completo.

La presencia de tumor en la mucosa de los senos de Rokitansky-Aschoff, no necesariamente

representa infiltración de la subserosa o de la túnica muscular propia y deben observarse signos de infiltración del estroma³⁰⁻³². En los casos con extrema fibrosis y/o atrofia con pérdida de los elementos propios de la pared vesicular, el nivel de infiltración puede consignarse en relación al espesor de la pared. Se debe asignar una localización al tumor en el caso de los cánceres inaparentes de acuerdo al área en que este predomine.

Se debe informar la presencia de compromiso linfático, sanguíneo e infiltración perineural, así como, la existencia del ganglio cístico con o sin metástasis y/o la infiltración hepática y la presencia de otras lesiones (pólipos, adenomas, etc.).

Dificultades microscópicas en el examen de la vesícula biliar con cáncer

Las lesiones preneoplásicas o displasias: se observan con cierta frecuencia en la mucosa adyacente a un cáncer. En forma aislada su frecuencia es de alrededor del 1% de las colecistectomías por litiasis, a pesar de que algunos autores han intentado su graduación, existe poca reproducibilidad de las observaciones.

Carcinoma *in situ* versus Carcinoma Mucoso: aún cuando conceptualmente son distintos, la evidencia demuestra que la diferenciación parece no tener importancia clínica. La presencia de acúmulos glandulares con desaparición del corión entre ellas, sugiere la infiltración de la mucosa.

Carcinoma Subseroso: a los tumores que infiltran más allá de la túnica muscular, se les tiende a denominar como carcinomas subserosos, sin embargo, en realidad esta túnica no existe tal y como ha sido definida en otras estructuras tubulares del tubo digestivo. Esto se debe a que la túnica muscular en la vesícula biliar es discontinua y no repre-

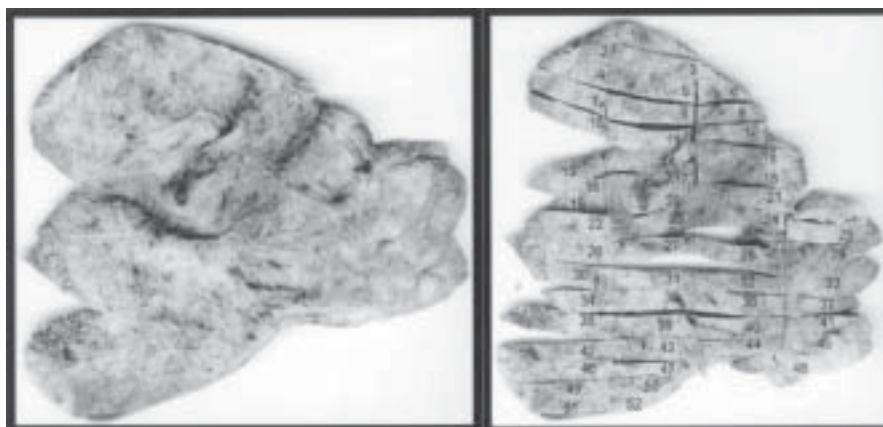


Figura 2. Esquema del mapeo de la vesícula biliar.

senta una barrera anatómica. Por fuera de ella hay primero una condensación de tejido conjuntivo en donde se asientan los fondos glandulares de los senos de Rokitansky-Aschoff y después un tejido conjuntivo laxo que termina en la serosa en los bordes vesiculares que están revestidos por este mesotelio o por tejido hepático a nivel de lecho vesicular. De esta manera, su constitución es muy heterogénea, de ahí que los tumores que infiltran esta área también presenten las mismas dificultades para su evaluación en lo que a profundidad del tumor se refiere. Por otro lado, los senos Rokitansky-Aschoff, se encuentran en este tejido y la presencia de tumor en el epitelio glandular no necesariamente significa el compromiso de la "subserosa". A pesar de no existir trabajos que demuestren su importancia, creemos que la infiltración de esta túnica en la cara peritoneal de la vesícula biliar, pudiese tener un significado distinto a la infiltración de la misma túnica a nivel del lecho vesicular.

Procesamiento resecciones hepáticas

La cirugía radical del cáncer vesicular en primera o segunda intención requiere de biopsia intraoperatoria de los grupos ganglionares. Las distintas barreras han sido mejor definidas en los protocolos de los autores Japoneses³³, en cambio, en la literatura occidental no existe tal diferenciación. El procesamiento de los ganglios linfáticos de acuerdo a grupos definidos como locales (cístico, hilio hepático) y distantes (periaórticos, celiacos, retropancreáticos) facilitan la redacción e interpretación del informe anatomopatológico, dada la marcada influencia de la escuela japonesa en nuestro país tanto en clínicos como en patólogos. La mayor parte de las veces no se requiere estudio intraoperatorio de los bordes de resección hepática, ya que son cada vez más frecuentes las segmentectomías, las cuales tienen un amplio margen. El estudio diferido de estas resecciones requiere el mapeo de la cicatriz del lecho vesicular en los casos en que se ha realizado la colecistectomía previamente, así como de los bordes laterales y profundos de sección quirúrgica.

Pólipos vesiculares y cáncer

Su frecuencia es de alrededor del 1% en las colecistectomías por litiasis. El 85% o más corresponden a lesiones no tumorales, sin embargo, todas deben estudiarse histológicamente. Por otro lado, el 10% de los cánceres vesiculares son de tipo polipóideo, en los cuales se debe buscar componente adenomatoso en los bordes. Los adenomas infrecuentemente se asocian a un cán-

cer, en nuestros casos de ocho adenomas que se asociaron a adenocarcinoma, dos medían menos de 5 mm³⁴, lo cual plantea dudas acerca del criterio sugerido en la literatura de que sólo los pólipos mayores de un cm. tendrían un potencial maligno.

Estudios complementarios

Las técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas tienen indicación precisa en los cánceres de la vesícula biliar. La mayor parte de las veces se utilizan en el diagnóstico diferencial en tumores poco diferenciados, o bien, para demostrar gránulos de neurosecreción u otros tipos histológicos. No han aparecido marcadores histológicos que contribuyan a mejorar significativamente la etapificación o pronóstico de la enfermedad.

La búsqueda del compromiso tumoral vascular mediante la tinción de Azul Victoria o el uso de anticuerpos antilaminina es útil, sin embargo, no se utilizan rutinariamente³⁵.

No está demás insistir en la importancia de que las muestras sean enviadas a la brevedad a la Unidad de Patología, a fin de obtener muestras en condiciones ideales para estudios inmunohistoquímicos, o bien, para técnicas de Biología Molecular. Estos últimos aportarán valiosa información respecto de la biología de esta neoplasia, permitirán comprender su patogenia y los hallazgos genético-moleculares contribuirán significativamente a terapias más específicas. La conservación de muestras de tejido fresco congelado en bancos de tumores adquirirán con el tiempo un valor incalculable. La obtención de fragmentos de tumor y mucosa adyacente a bajas temperaturas permite la extracción de ADN y ARN con la menor degradación posible, que es la principal limitante de los estudios moleculares. De esta manera, es altamente recomendable en los casos en que sea posible, congelar en criotubos fragmentos del tumor primario y/o metástasis.

Clasificación anatomopatológica

Proponemos la utilización de la clasificación TNM, a pesar de tener algunas discrepancias, sugerir una nueva clasificación no contribuiría a estandarizar los procedimientos de examen y diagnóstico anatomopatológico que se están sugiriendo. La etapificación de los pacientes se muestra en la Tabla 1.

TNM (AJCC/IUAC) (2002) (29)

T = tumor

N= ganglios locales y a distancia

M= metástasis

Tumor primario

Tx= no se puede precisar

T0= Sin Tumor

Tis= Carcinoma *in situ*

T1= Túnica muscular

a= Lámina propia

b= Muscular

T2= invasión del tejido conjuntivo perimuscular; no hay extensión más allá de la serosa ni adentro del hígado

T3= compromiso de serosa, infiltración de un órgano adyacente, hígado o alguna estructura como el estómago, duodeno, colon o páncreas, omento o conductos biliares extrahepáticos.

T4= El tumor invade la vena porta o la arteria hepática o invade múltiples órganos extrahepáticos o estructuras.

Ganglios linfáticos

NX: No pueden evaluarse los ganglios linfáticos regionales

N0: No hay metástasis en los ganglios linfáticos regionales

N1: Metástasis de ganglio linfático regional

Metástasis

Mx = No se puede establecer

M0 = Sin metástasis a distancia

M1 = Con metástasis a distancia

AGRADECIMIENTOS: este trabajo fue realizado en la Unidad de Anatomía Patológica del Hospital Hernán Henríquez Aravena de Temuco y Departamento de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de la Frontera, cuyo personal auxiliar, de secretaría, tecnólogos médicos y patólogos hicieron posible el procesamiento, informes y estudios de las piezas de colecistectomía tal y como se sugiere en esta presentación.

Tabla 1
ESTADIOS DE PACIENTES CON CÁNCER VESICULAR

	T	N	M
Estadio 0	Cis	N0	M0
Estadio IA	T1	N0	M0
Estadio IB	T2	N0	M0
Estadio IIA	T3	N0	M0
Estadio IIB	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
Estadio III	T4	Cualquier N	M0
Estadio IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

REFERENCIAS

- Serra I, Yamamoto M, Calvo A, Cavada G, Baez S, Endoh K, *et al.* Association of chili pepper consumption, low socioeconomic status and longstanding gallstones with gallbladder cancer in a Chilean population. *Int J Cancer* 2002; 102(4): 407-11.
- Puschel K, Sullivan S, Montero J, Thompson B, Diaz A. Cost-effectiveness analysis of a preventive program disease in Chile. *Rev Med Chil* 2002; 130(4): 447-59.
- Serra I. Has gallbladder cancer mortality decrease in Chile?. *Rev Med Chil* 2001; 129(9): 1079-84.
- Medina E, Kaempffer AM. Cancer mortality in Chile: epidemiological. *Rev Med Chil* 2001; 129(10): 1195-202.
- Nervi F. Cancer of the gallbladder in Chile. *Rev Med Chil* 2001; 129(9): 979-81.
- Medina E, Kaempffer AM. Adult mortality in Chile. *Rev Med Chil* 2000; 128(10): 1144-9.
- Roa I, Araya JC, Wistuba I, Villaseca M, de Aretxabala X, Burgos L. Gallbladder cancer in the IX Region of Chile. Impact anatomopathological study of 474 cases. *Rev Med Chil* 1994; 122(11): 1248-56.
- Jiron MI, Silva H, Whittle C, Fuster F, Madrid AM, Brahm J, *et al.* Gallbladder polyps. 2d Consensus Workshop of the Chilean Hepatology Association. *Rev Med Chil* 1994; 122(11): 1316-7.
- Roa I, Araya JC, Wistuba I, Villaseca M, de Aretxabala X, Burgos L. Gallbladder cancer in the IX Region of Chile. Impact of the anatomopathological study of 474 cases. *Rev Med Chil* 1994; 122(11): 1248-56.
- Klinger J, De la Fuente H, Olivares P, Torres C, Cartagena C. Carcinoma of the gallbladder: a 10-year experience in Chile. *Ann Chir* 1994; 48(7): 656-7.
- de Aretxabala X, Roa I, Burgos L, Araya JC, Fonseca L, Wistuba I, *et al.* Gallbladder cancer in Chile. A report on 54 potentially resectable tumors. *Cancer* 1992; 69(1): 60-5.
- Chianale J, del Pino G, Nervi F. Increasing gallbladder cancer mortality rate during the last decade in Chile, a high-risk area. *Int J Cancer* 1990; 46(6): 1131-3.
- Csendes A, Becerra M, Smok G, Medina E, Maluenda F, Morales E. Prevalence of gallbladder neoplasms in cholecystectomies. *Rev Med Chil* 1991; 119(8): 887-90.
- Csendes A, Burgos AM, Csendes P, Smok G, Rojas J. Late follow-up of polypoid lesions of the gallbladder smaller than 10 mm. *Ann Surg* 2001; 234(5): 657-60.
- Roa I, de Aretxabala X, Roa J, Araya JC, Villaseca M, Guzman P, *et al.* Is gallbladder cancer a disease with bad prognosis?. *Rev Med Chil* 2002; 130(11): 1295-302.
- Gallardo JO, Rubio B, Fodor M, Orlandi L, Yanez M, Gamargo C, *et al.* A phase II study of gemcitabine in gallbladder carcinoma. *Ann Oncol* 2001; 12(10): 1403-6.

17. Roa I, Araya JC, Villaseca M, Roa J, de Aretxabala X, Ibacache G. Gallbladder cancer in a high risk area: morphological features and spread patterns. *Hepato-gastroenterology* 1999; 46(27): 1540-6.
18. de Aretxabala XA, Roa IS, Burgos LA, Araya JC, Villaseca MA, Silva JA. Curative resection in potentially resectable tumours of the gallbladder. *Eur J Surg* 1997; 163(6): 419-26.
19. Wistuba, II, Gazdar AF, Roa I, Albores-Saavedra J. p53 protein overexpression in gallbladder carcinoma lesions: an immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1996; 27(4): 360-5.
20. Roa I, Araya JC, Villaseca M, De Aretxabala X, Riedemann P, Endoh K, *et al.* Preneoplastic lesions and gallbladder cancer: an estimate of the period required for progression. *Gastroenterology* 1996; 111(1): 232-6.
21. Wistuba, II, Sugio K, Hung J, Kishimoto Y, Virmani AK, Roa I, *et al.* Allele-specific mutations involved in the pathogenesis of endemic gallbladder carcinoma in Chile. *Cancer Res* 1995; 55(12): 2511-5.
22. Serra I, Calvo A, Baez S, Yamamoto M, Endoh K, Aranda W. Risk factors for gallbladder cancer. An international collaborative case-control study. *Cancer* 1996; 78(7): 1515-7.
23. The new TNM classification in gastroenterology (1997). *Endoscopy* 1998; 30(7): 643-9.
24. Albores-Saavedra J, Henson DE, Sobin LH. The WHO Histological Classification of Tumors of the Gallbladder and Extrahepatic Bile Ducts. A commentary on the second edition. *Cancer* 1992; 70(2): 410-4.
25. Gallbladder. In: American Joint Committee on Cancer: AJCC Cancer Staging Manual. Philadelphia, Pa: Lippincott-Raven Publishers 5th ed, 1997; 103-08.
26. Kapoor VK, Sonawane RN, Haribhakti SP, Sikora SS, Saxena R, Kaushik SP. Gall bladder cancer: proposal for a modification of the TNM classification. *Eur J Surg Oncol* 1998; 24(6): 487-91.
27. Roa I, de Aretxabala X, Araya JC, Villaseca M, Roa J, Gilda IT, *et al.* Morphological prognostic elements in gallbladder cancer. *Rev Med Chil* 2002; 130(4): 387-95.
28. Roa I GP, Ibacache G, Araya J, Villaseca M, de Aretxabala X, Roa J, Muñoz S. Cáncer de la vesícula biliar en colecistectomías por litiasis. *Rev Esp Patol* 2004; 37(3): 279-85.
29. Gallbladder. In: American Joint Committee on Cancer: AJCC Cancer Staging Manual. 6th ed. New York, NY: Springer, 2002; 139-44.
30. Albores-Saavedra J, Shukla D, Carrick K, Henson DE. *In situ* and invasive adenocarcinomas of the gallbladder arising from Rokitansky-Aschoff sinuses: a cases. *Am J Surg Pathol* 2004; 28(5): 621-8.
31. Roa I, Araya JC, Wistuba I, de Aretxabala X. Gallbladder cancer: anatomic and anatomo-pathologic considerations. *Rev Med Chil* 1990; 118(5): 572-9.
32. Yamaguchi A, Hachisuka K, Isogai M, Tsubone M. Carcinoma in situ of the gallbladder with superficial extension into the Rokitansky-Aschoff sinuses and mucous glands. *Gastroenterol Jpn* 1992; 27(6): 765-72.
33. General rules for Surgical and pathological studies on Cancer of Biliary Tract. 2 ed. JSBS 1986.
34. Roa I, de Aretxabala X, Morgan R, Molina R, Araya JC, Roa J, *et al.* Clinicopathological features of gallbladder polyps and. *Rev Med Chil* 2004; 132(6): 673-9.
35. Roa I, Guzman P, Araya JC, Villaseca M, Roa JC, Ibacache G, *et al.* Tumor invasion in gallbladder cancer. Importance of blood vascular tumor infiltration diagnosis. *Rev Med Chil* 1998; 126(1): 42-8.