



XXI CONGRESO COLOMBIANO DE CÁNCER

11, 12 Y 13 DE AGOSTO DE 2022
HOTEL INTERCONTINENTAL MEDELLÍN



PROGRAMA ¡MEDELLÍN 2022!

Con el aval de:



Instituto Nacional
de Cancerología-ESE
Colombia
Por el control del cáncer



HOSPITAL
UNIVERSITARIO
SAN IGNACIO
CIENCIA Y TECNOLOGÍA CON PROTECCIÓN SOCIAL



UNIVERSIDAD
DE ANTIOQUIA
Escuela de Nutrición y Dietética



ASOPROCÁNCER
Asociación Pro Congreso de Cancerología

MANEJO ÓPTIMO DE LA BIOPSIA EN CÁNCER DE PULMÓN. RETOS DEL PATÓLOGO

Dra. Irene Sansano

Médico adjunta, especialista en Anatomía
Patológica en el H.U. Vall d'Hebron, Barcelona.



1. **Introducción**
2. **Diagnóstico histológico en la muestra pequeña**
3. **Tipos de muestra**
4. **Biomarcadores: qué, a quién, quién y cómo**
5. **Flujo de trabajo**
6. **Mensajes finales**



1.INTRODUCCIÓN

- El tratamiento óptimo del paciente comienza con una muestra
- A menudo es difícil de obtener, pero es necesaria para la confirmación de malignidad y la clasificación diagnóstica
- A veces, esta muestra también se utiliza para la estadificación y la determinación de biomarcadores.

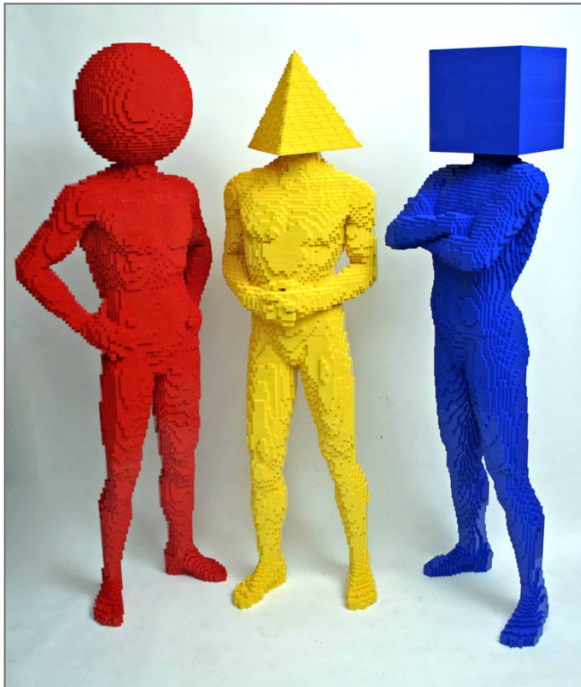


- Una muestra tomada de un paciente que ya tiene un diagnóstico también debe procesarse y evaluarse para evaluar el contenido y la adecuación del material

1.INTRODUCCIÓN

Cual es el papel del patólogo?

1. Confirmar la presencia de malignidad
2. Clasificar los tumores para guiar las determinaciones moleculares y el tratamiento

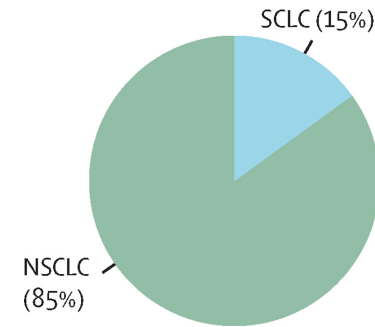


Diagnóstico histológico

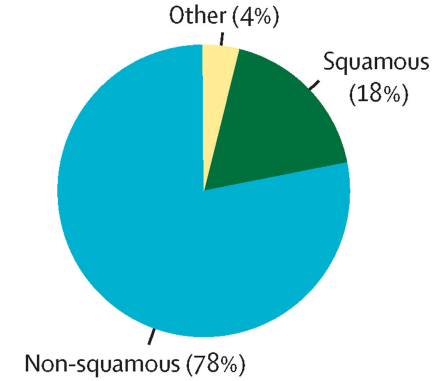
+

Determinación de biomarcadores

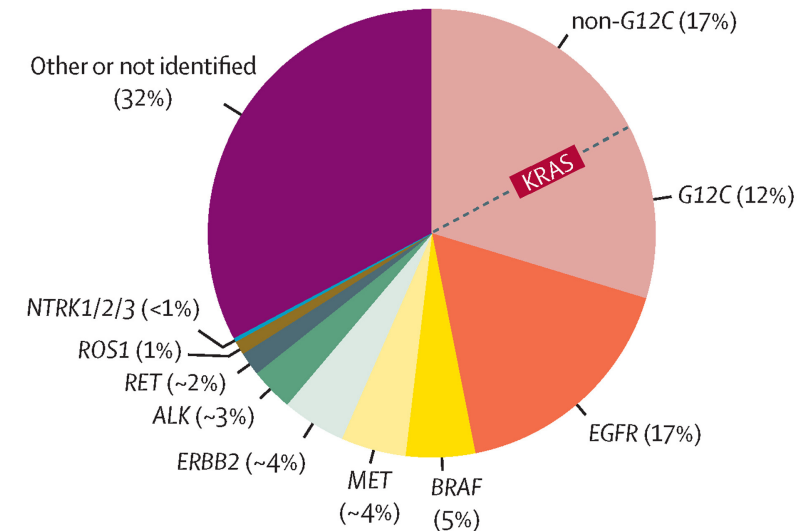
A Lung cancer histology



B NSCLC histology



C Oncogenic mutations in NSCLC



1.INTRODUCCIÓN

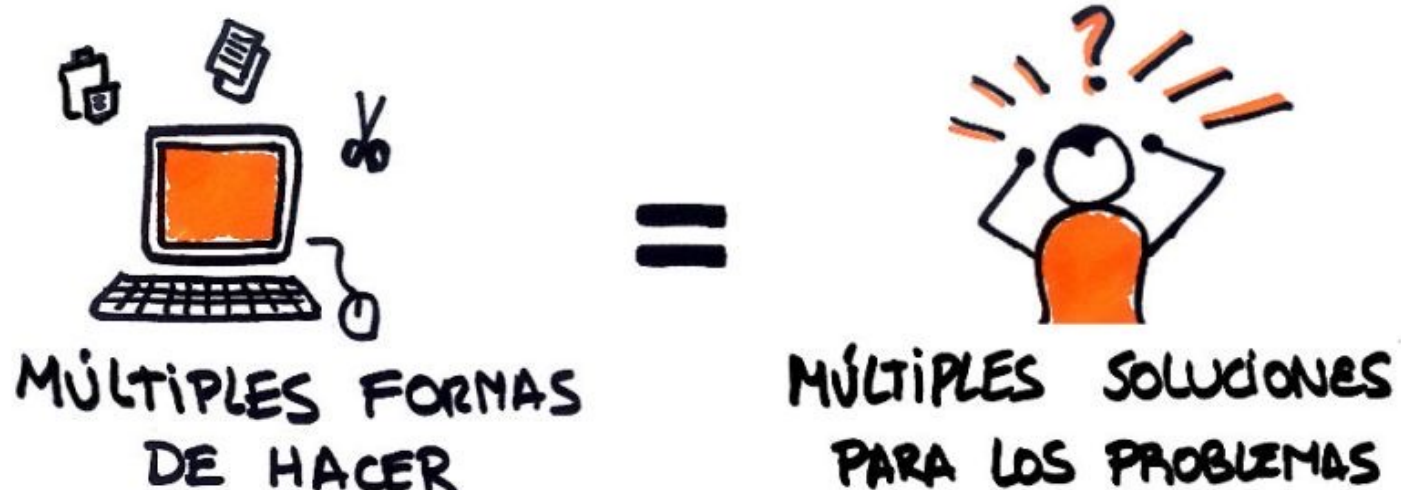
- Estadios avanzados
- Tumores poco accesibles
- Pacientes inestables
- Diagnóstico difícil
- Múltiples dianas
- Ensayos clínicos



**MUCHO QUE HACER EN POCO
TIEMPO CON UNA MUESTRA
LIMITADA**

1.INTRODUCCIÓN

Cada centro debe elaborar su propia estrategia de acuerdo a sus características para obtener el máximo rendimiento de la muestra a mayor beneficio del paciente



1.INTRODUCCIÓN

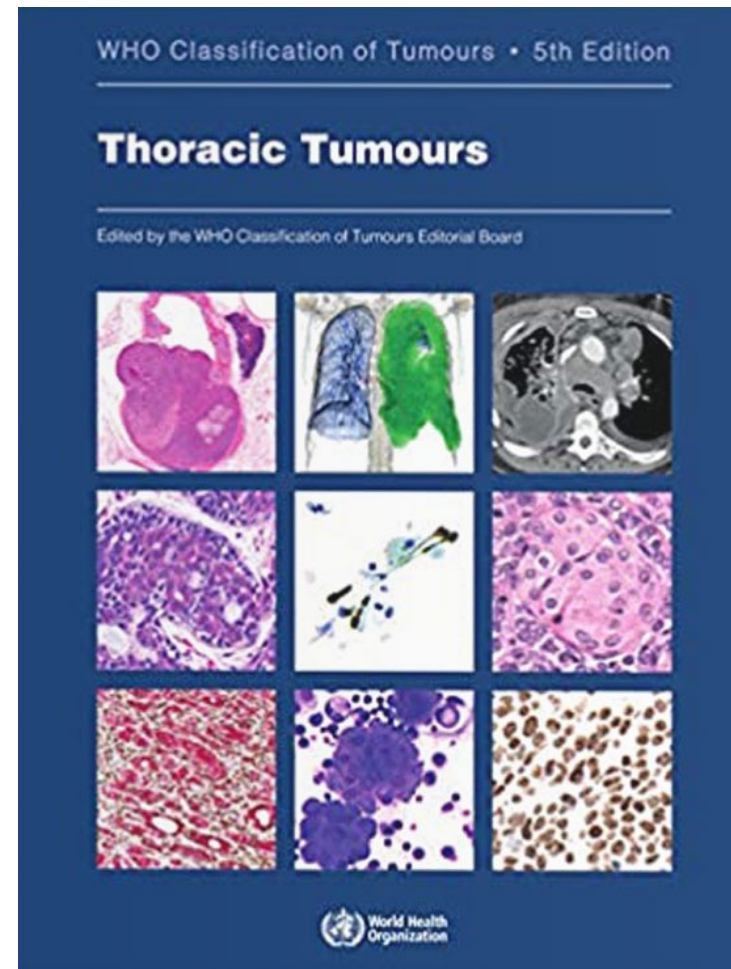
Algunos consejos

- Información en la petición de AP: antecedentes, estadiaje, tabaco
- Avisar si se trata de situaciones especiales: rebiopsia, biopsia para ensayo
- Controlar la hora de toma de la muestra
- Pinchar partes blandas en vez de hueso
- Es necesaria la figura de uno o más responsables de pulmón en AP



2. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO EN LA MUESTRA PEQUEÑA

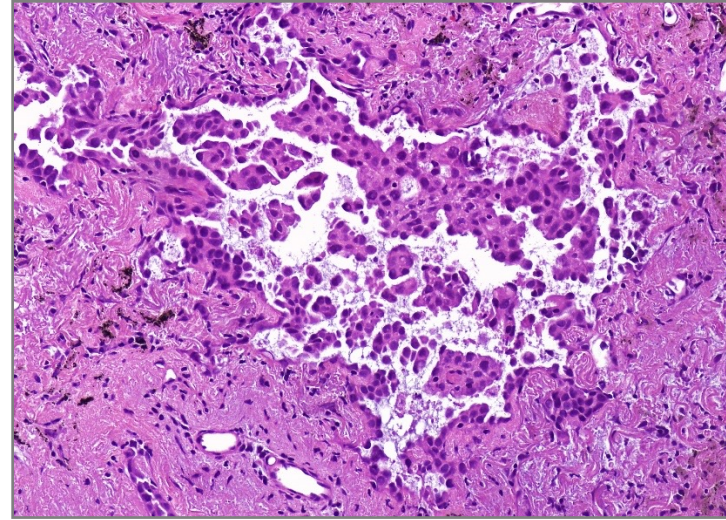
- Seguir criterios y recomendaciones para muestra pequeña



2. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO EN LA MUESTRA PEQUEÑA

Adenocarcinoma

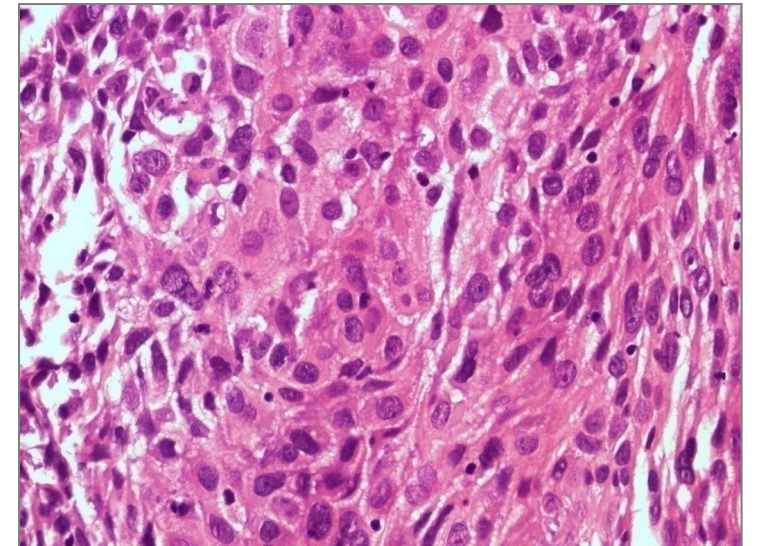
- Diferenciación glandular
Hasta un 20% de adenocarcinomas de pulmón son TTF1 -



MICROPAPILAS

Carcinoma escamoso

- Diferenciación escamosa



PUENTES
INTERCELULARES

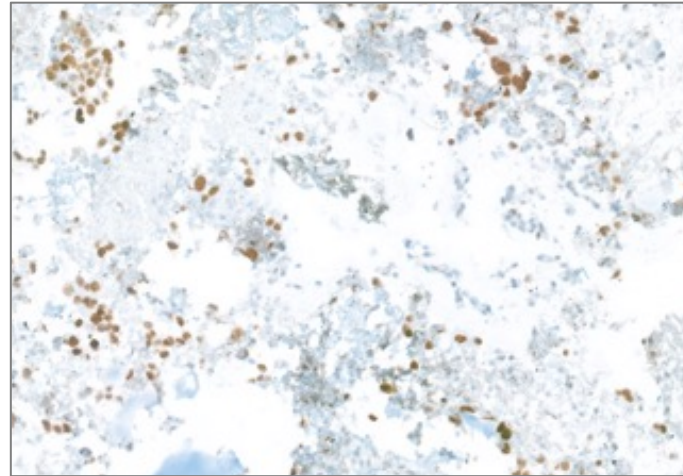
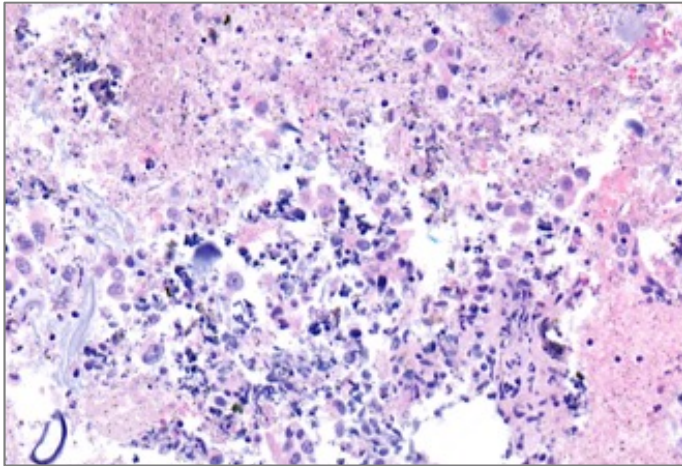
2. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO EN LA MUESTRA PEQUEÑA

CARCINOMA DE CÉLULA NO PEQUEÑA (CCNP)

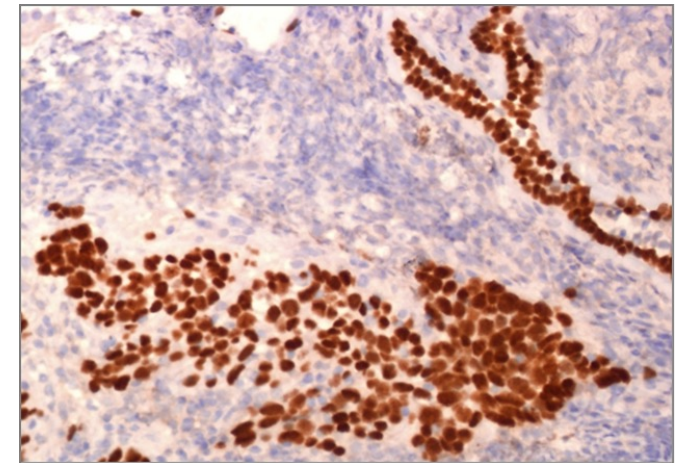
- No diferenciación morfológica de adenocarcinoma ni carcinoma escamoso
- Debe intentar clasificarse mediante el uso de RACIONAL de IHQ

TTF1: marcador nuclear de adenocarcinoma pulmonar

P40: marcador nuclear de carcinoma escamoso



CCNP, adenocarcinoma



CCNP, CE

2. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO EN LA MUESTRA PEQUEÑA

CCNP, no específico

- No diferenciación morfológica de adenocarcinoma, carcinoma escamoso ni carcinoma de célula pequeña
- TTF1 y p40-
- Masa pulmonar, antecedentes?, otras IHC (CK7)
- Pensar en la determinación de biomarcadores

SPECIAL ARTICLE

IASLC

Best Practices Recommendations for Diagnostic Immunohistochemistry in Lung Cancer

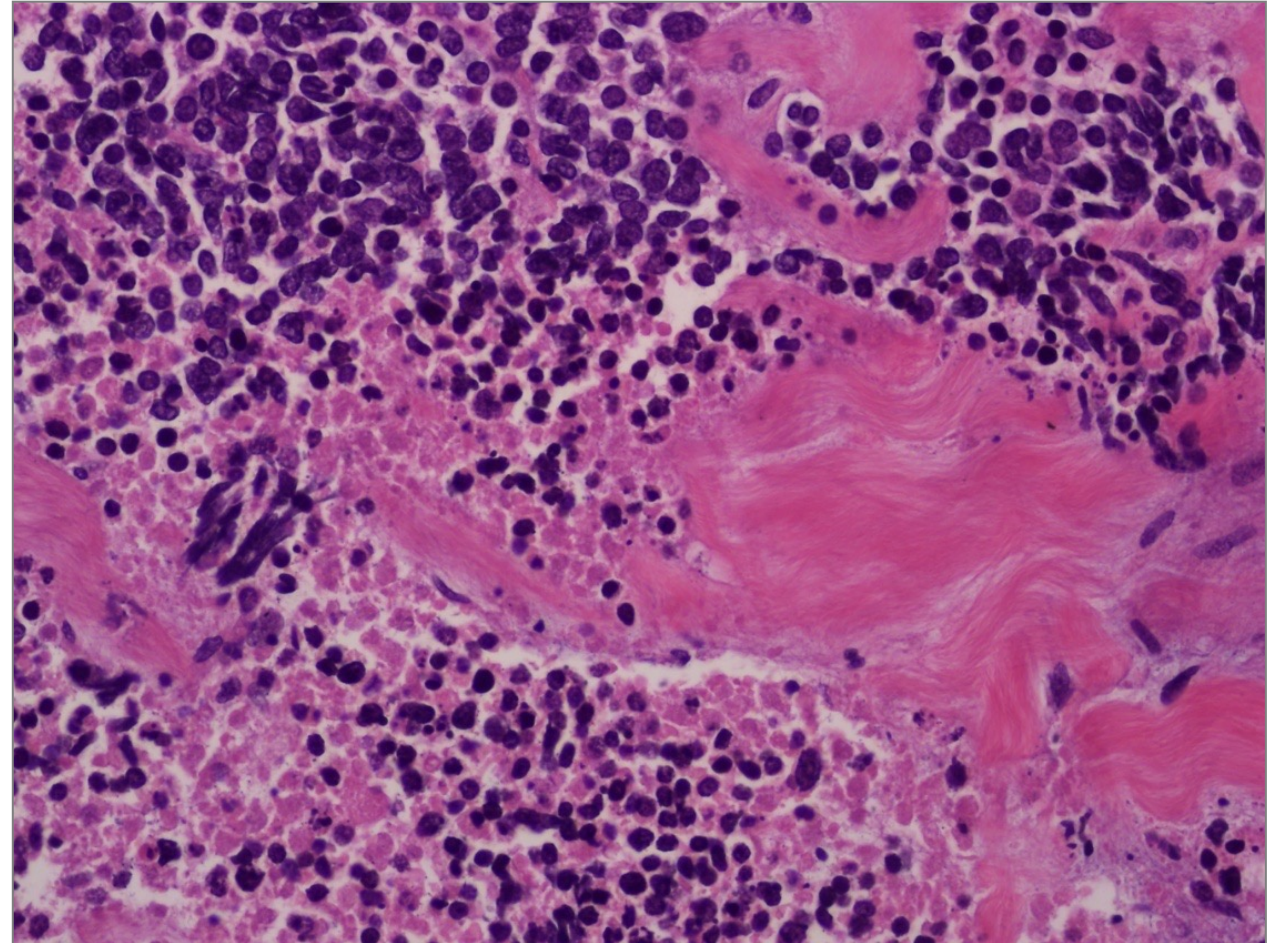
Yasushi Yatabe, MD, PhD,^{a,*} Sanja Dacic, MD,^b Alain C. Borczuk, MD,^c

Check for updates

2. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO EN LA MUESTRA PEQUEÑA

Carcinoma de célula pequeña

- Células de escaso citoplasma, presencia de necrosis, mitosis,...
- Hoy por hoy no se hace este diagnóstico sin IHC (basaloide, NUT, SMARC-A4)



3. TIPOS DE MUESTRA

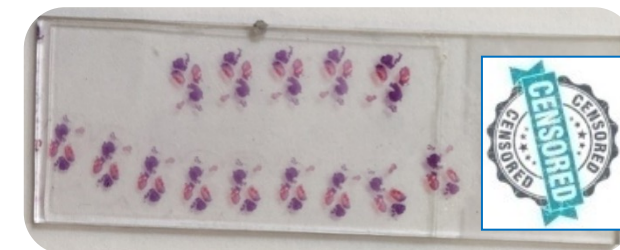
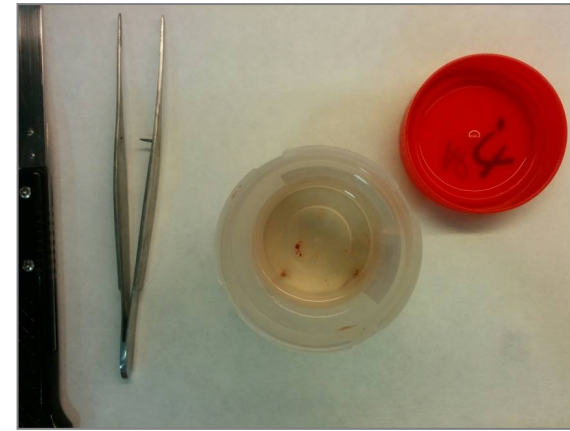
- Son válidas biopsias o citologías (dependiendo de la experiencia del laboratorio)
- En cualquier muestra, hay que tener en cuenta:
 - Porcentaje o número de células tumorales
 - Variables preanalíticas: tiempo y tipo de fijación, decalcificación
 - La técnica que se va a realizar

IHC	100 CT
FISH	100 CT
PCR	5%
NGS	20%

3. TIPOS DE MUESTRA

Biopsia percutánea/broncoscópica

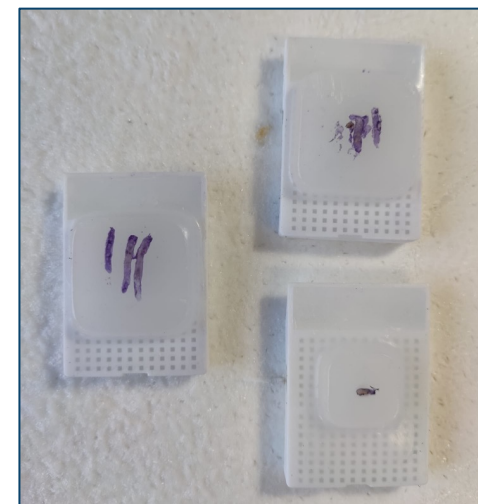
- Inmediatamente a formol tras la extracción
- Se procesan el mismo día de su obtención (12-24h de fijación)
- Se incluyen todos los fragmentos en el mismo cassette para su evaluación inicial
- Se realizan cortes en blanco de entrada (2/6)
- No se sería



3. TIPOS DE MUESTRA

Biopsia percutánea/broncoscópica

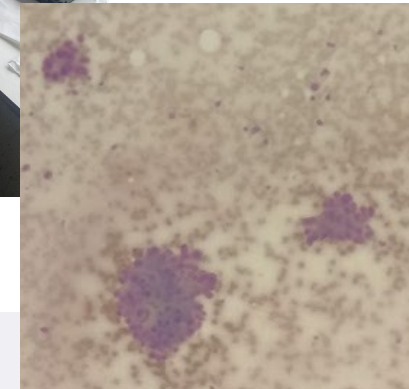
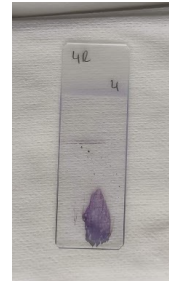
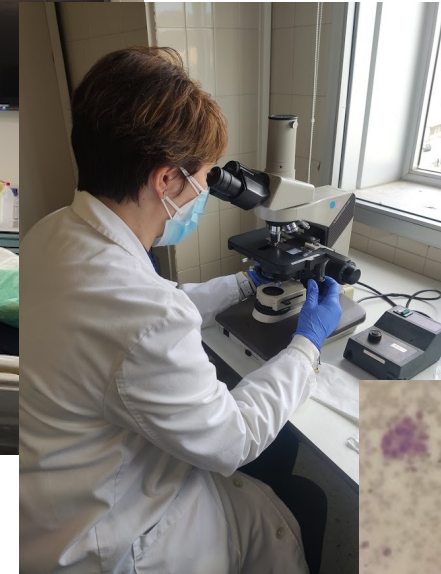
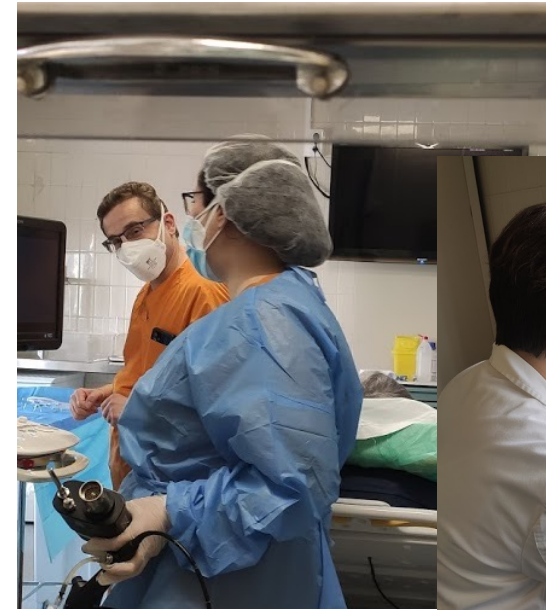
- Los cortes en banco se pueden usar para IHC o FISH (1x3-4µm)
- Se pueden cortar rollitos para PCR (3X10micras) o NGS (6X10µm)
- Los bloques se pueden rehacer si se quiere reservar material
- El material decalcificado no se usa para IHC (biomarcadores)



3. TIPOS DE MUESTRA

PAAF/EBUS

- Se realiza valoración ROSE con extensiones secadas al aire y teñidas con DQ
- Si es + con buena celularidad el siguiente pase se recoge en eppendorf y se conserva en frío
- El resto de extensiones se fijan en alcohol para tinción de Papanicolaou
- El lavado de aguja se procesa como citología líquida
- Si precipita BC se fija en formol
- Se pueden obtener BC mediante otras técnicas



Imágenes
propias y
cedidas por
la Dra Carme
Dinarès

3. TIPOS DE MUESTRA

PAAF/EBUS

- BC: son equivalentes a las biopsias (IHC, FISH, PCR, NGS)
- Material en fresco: PCR, NGS
- Extensiones: PCR/NGS (rascar), FISH (Papanicolaou)



Imágenes propias y cedidas por la Dra Carme Dinarès

3. TIPOS DE MUESTRA

Líquido pleural/pericárdico

- Se fija al llegar al laboratorio de Citología
- Se puede obtener BC
- Tener en cuenta el tiempo de isquemia al elegir la muestra y la técnica: NGS, PCR, FISH, IHC
- Si es un líquido es sospechoso de cáncer de pulmón avisar y mandar para procesar de inmediato



3. TIPOS DE MUESTRA

Collection and Handling of Thoracic Small Biopsy and Cytology Specimens for Ancillary Studies

Guideline From the College of American Pathologists in Collaboration With the American College of Chest Physicians, Association for Molecular Pathology, American Society of Cytopathology, American Thoracic Society, Pulmonary Pathology Society, Papanicolaou Society of Cytopathology, Society of Interventional Radiology, and Society of Thoracic Radiology

Sinchita Roy-Chowdhuri, MD, PhD; Sanja Dacic, MD, PhD; Mohiedean Ghofrani, MD, MBA; Peter B. Illei, MD;

- Recomendaciones para obtener material adecuado
- Que recoger y como hacerlo

3. TIPOS DE MUESTRA

Pieza quirúrgica

- Se recibe en fresco tras la extracción
- Es necesario prepararla para una correcta fijación e incluirla en las siguientes 48h
- Si procede, se selecciona el mejor bloque para biomarcadores
- Sirve para IHC, FISH, PCR o NGS
- Se puede macrodisecar para mejorar el % de tumor



4. BIOMARCADORES

- A los quirúrgicos con ganglios +
- A los no fumadores

Qué pedimos?

A quién?

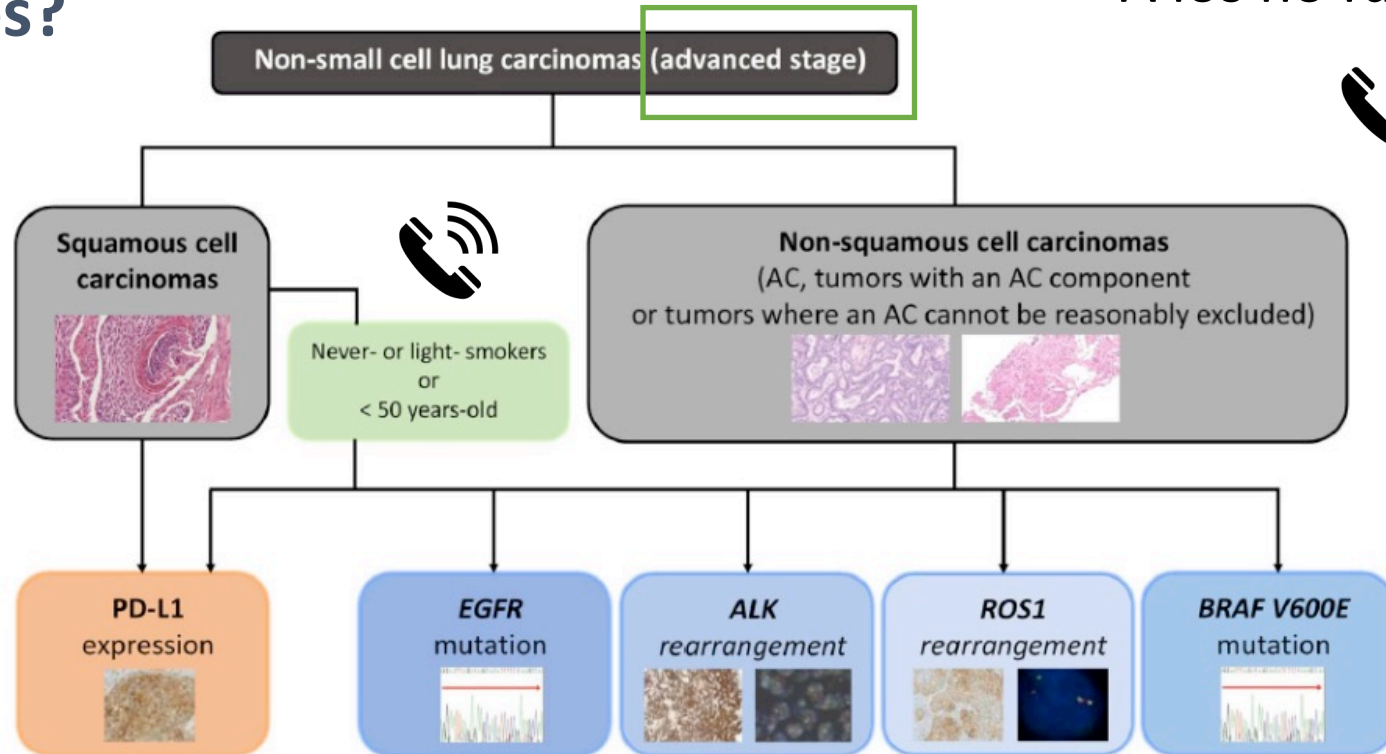


Fig. 1 Diagnostic algorithm for biomarker testing in patients with advanced NSCLC. AC adenocarcinoma, EGFR epidermal growth factor receptor, PD-L1 programmed death ligand-1

4. BIOMARCADORES

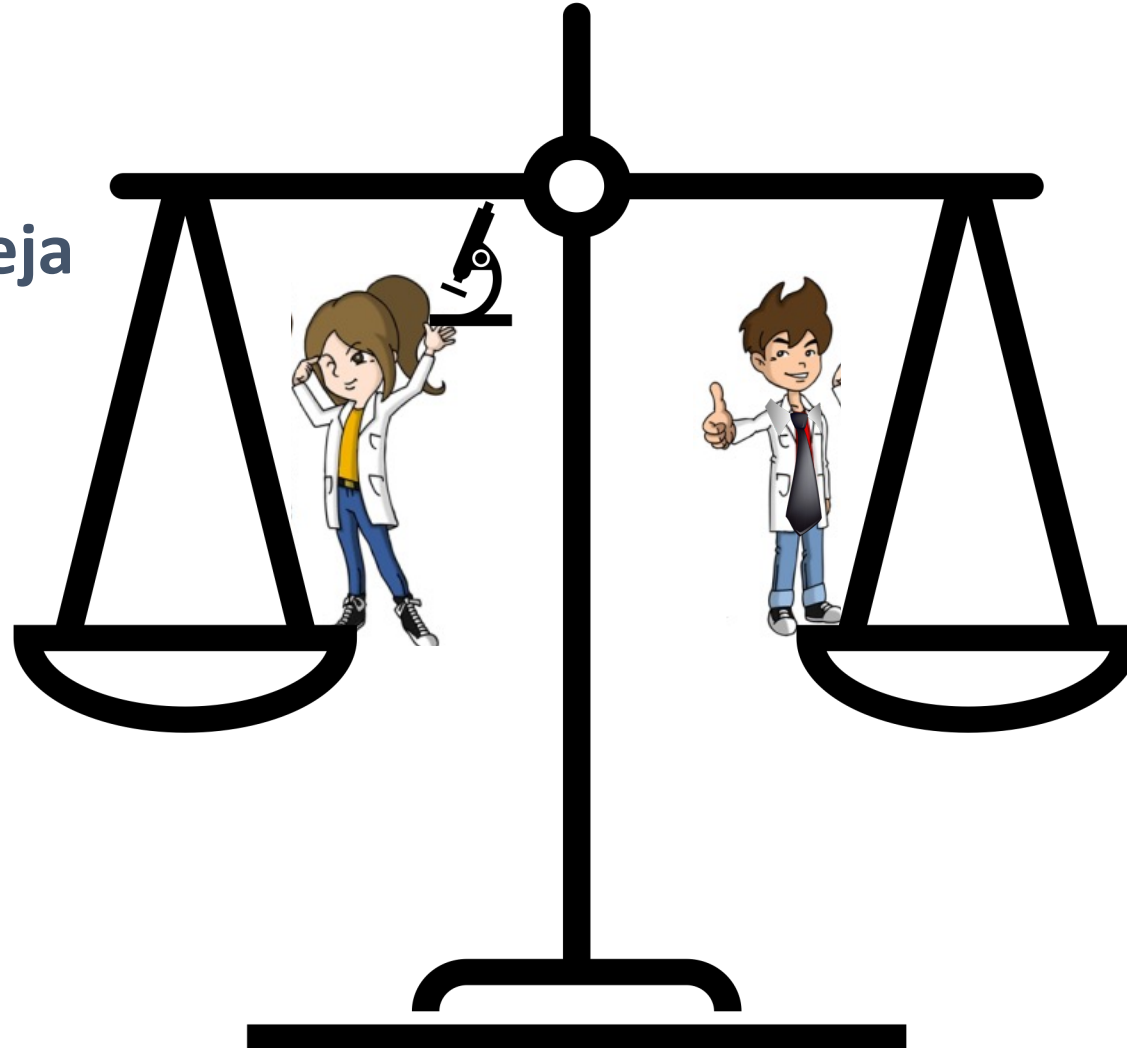
Quién los pide?

Determinación refleja

Resultados rápidos

Casos no tratables

Determinaciones redundantes



Petición del oncólogo

Solo pacientes tratables

Retraso en empezar las determinaciones

Pérdida de material

4. BIOMARCADORES

Quién los pide?

Determinación consensuada



- La **patóloga** de manera consciente
- En las situaciones consensuadas con Oncología
- Escogiendo la mejor muestra
- Gestionando el material para las diferentes determinaciones
- Siempre intentando preservar tejido para ensayos u otras determinaciones

4. BIOMARCADORES

Cómo se determinan?

EGFR

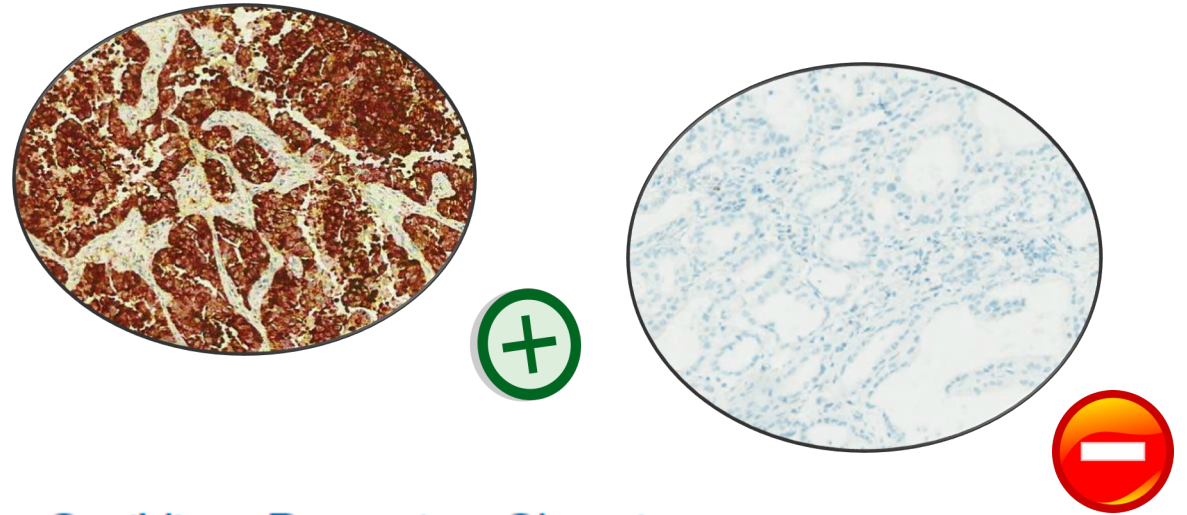
- PCR a tiempo real
- Dos plataformas: COBAS y THERASCREEN
- Ambas informan de manera cualitativa de la presencia de las mutaciones más frecuentes de EGFR



4. BIOMARCADORES

Cómo se determinan?

ALK



FDA Approval 6-12-2015

VENTANA ALK (D5F3) CDx Assay is intended for the qualitative detection of the ALK protein in FFPE NSCLC tissue stained with a BenchMark XT automated staining instrument. It is indicated as an aid in identifying patients eligible for treatment with XALKORI® (crizotinib).

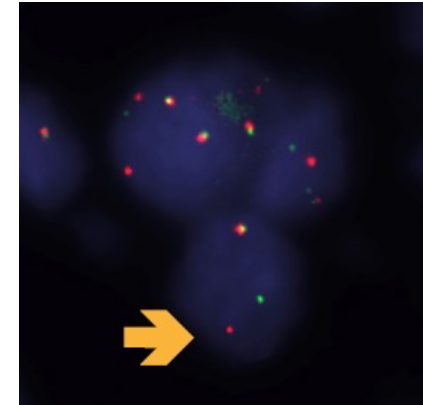
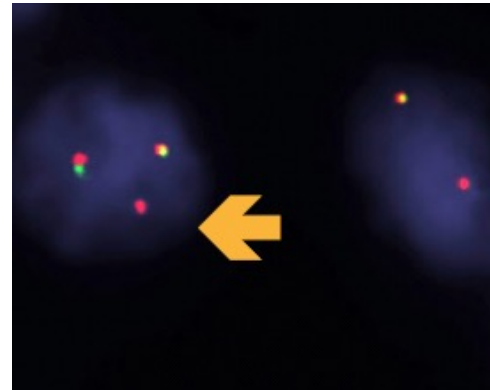
OptiView Detection Chemistry

- Tinción citoplasmática granular fuerte
- Positiva o negativa
- No requiere confirmación

4. BIOMARCADORES

Cómo se determinan?

ALK



- Sonda tipo break-apart
- Señales separadas/rojas aisladas

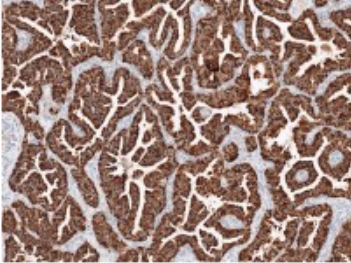


4. BIOMARCADORES

Cómo se determinan?

ROS1

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody



Catalog Number:	790-6087
Ordering Code:	08404160001
Quantity:	50 tests
Controls:	Reactive alveolar type II pneumocytes (positive), ROS1 positive cell lines (positive)
Clone Name:	SP384
Species:	Rabbit
Localization:	Cytoplasmic
Regulatory Status:	IVD

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody is intended for laboratory use in the qualitative detection of ROS1 protein in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue stained with VENTANA BenchMark IHC/ISH instruments.

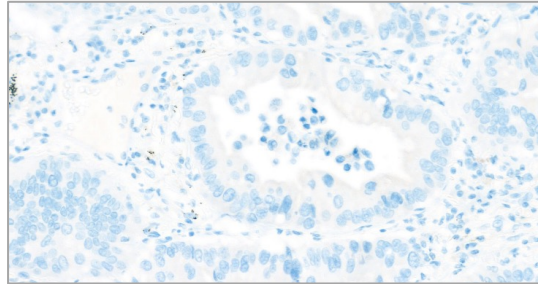
- No hay anticuerpo aprobado por FDA
- No hay criterios de valoración establecidos
- Sirve para cribado, seguido de confirmación por FISH/NGS

4. BIOMARCADORES

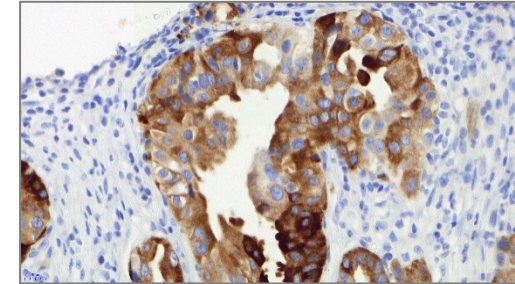
Cómo se determinan?

ROS1

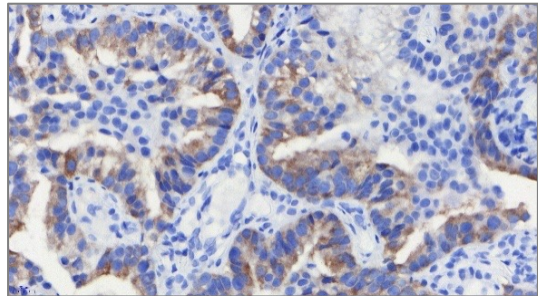
- Tinción citoplasmática de patrón e intensidad variables



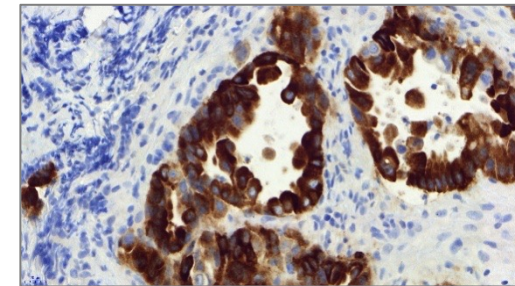
0



2+



1+



3+



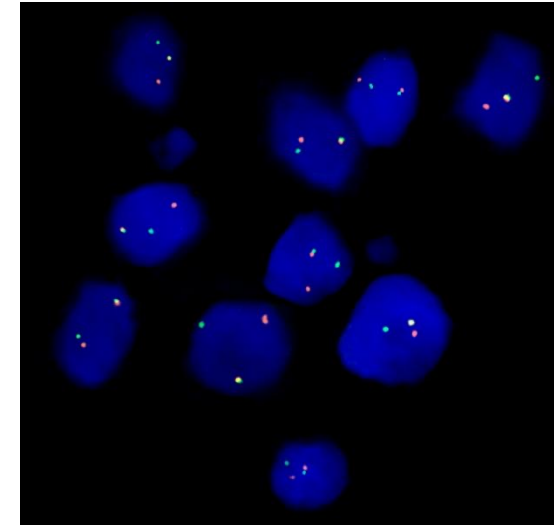
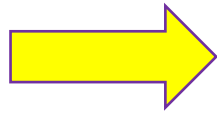
$$\text{HSCORE} = (0)\% + (1+)\% + (2+)\% + (3+)\% = X/300$$

4. BIOMARCADORES

Cómo se determinan?

ROS1

- Hscore<50 = NEGATIVE
- Hscore>50

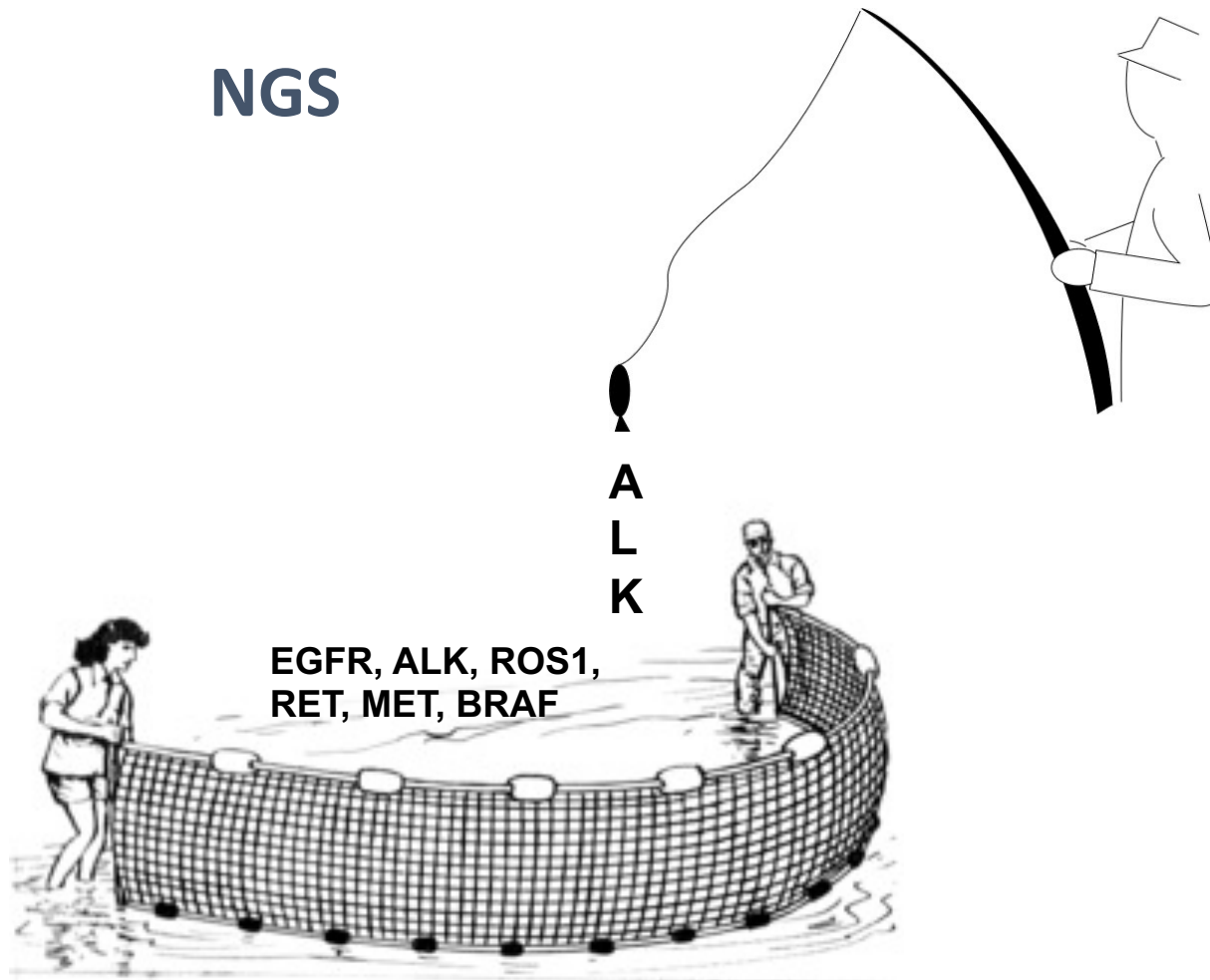


- Vysis 6q22 ROS1 Break Apart FISH Probe
- Valoración similar a ALK
- Señales separadas/verdes aisladas

4. BIOMARCADORES

Cómo se determinan?

NGS



- Secuenciación dirigida
- Pequeñas cantidades de DNA/RNA
- Alteraciones de significado conocido

4. BIOMARCADORES

Cómo se determinan?

NGS

- Oncomine Precision Assay
- Ion Torrent Genexus System

DNA hotspots (45)					
<i>AKT1</i>	<i>CDKN2A</i>	<i>FGFR1</i>	<i>HRAS</i>	<i>MTOR</i>	<i>RAF1</i>
<i>AKT2</i>	<i>CHEK2</i>	<i>FGFR2</i>	<i>IDH1</i>	<i>NRAS</i>	<i>RET</i>
<i>AKT3</i>	<i>CTNNB1</i>	<i>FGFR3</i>	<i>IDH2</i>	<i>NTRK1</i>	<i>ROS1</i>
<i>ALK</i>	<i>EGFR</i>	<i>FGFR4</i>	<i>KIT</i>	<i>NTRK2</i>	<i>SMO</i>
<i>AR</i>	<i>ERBB2</i>	<i>FLT3</i>	<i>KRAS</i>	<i>NTRK3</i>	<i>TP53</i>
<i>ARAF</i>	<i>ERBB3</i>	<i>GNA11</i>	<i>MAP2K1</i>	<i>PDGFRA</i>	
<i>BRAF</i>	<i>ERBB4</i>	<i>GNAQ</i>	<i>MAP2K2</i>	<i>PIK3CA</i>	
<i>CDK4</i>	<i>ESR1</i>	<i>GNAS</i>	<i>MET</i>	<i>PTEN</i>	


CNVs (14)	
<i>ALK</i>	<i>FGFR1</i>
<i>AR</i>	<i>FGFR2</i>
<i>CD274</i>	<i>FGFR3</i>
<i>CDKN2A</i>	<i>KRAS</i>
<i>EGFR</i>	<i>MET</i>
<i>ERBB2</i>	<i>PIK3CA</i>
<i>ERBB3</i>	<i>PTEN</i>

Fusions (18)		
<i>ALK</i>	<i>FGFR3</i>	<i>RET</i>
<i>AR</i>	<i>MET</i>	<i>ROS1</i>
<i>BRAF</i>	<i>NRG1</i>	<i>RSPO2</i>
<i>EGFR</i>	<i>NTRK1</i>	<i>RSPO3</i>
<i>ESR1</i>	<i>NTRK2</i>	
<i>FGFR1</i>	<i>NTRK3</i>	
<i>FGFR2</i>	<i>NUTM1</i>	

4. BIOMARCADORES

Cómo se determinan?

NGS



Genexus | Ion Torrent

Samples Runs Monitor Results Assays

Results / 2021_03_02 / OPA DNA-Fus-w2.6.0 / DNA_21_926_RNA_21_927

DNA_21_926_RNA_21_927 Summary QC Variants Plugins


SNVs/Indels Fusions CNVs Filter Variant Matrix Summary (5.14) (2 of 1008 Variants) Visualization Export Columns

User Classification	Locus	Oncomine Variant Class	Oncomine Gene Class	Genes (Exons)	Read Counts	Type	Call	No Call Reason
Classification	chr2:42543190 - chr2:29446394	Fusion	Gain-of-Function	EML4(18) - ALK(20)	969	Fusion	PRESENT	NA

[1] La patóloga hace el diagnóstico y selecciona el área tumoral

[2] Se corta para extracción de ácidos nucleicos

manual / concentración



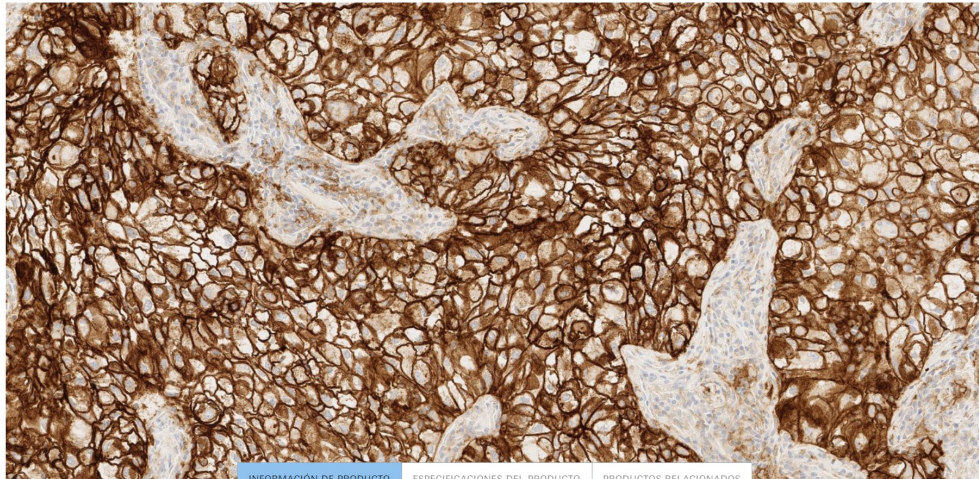
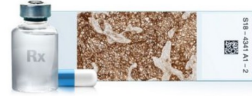
Modificado sobre imagen creada por Dra Marta Sesé

4. BIOMARCADORES

Cómo se determinan?

Prueba VENTANA PD-L1 (SP263) (CE-IVD)

Prueba IHQ predictiva



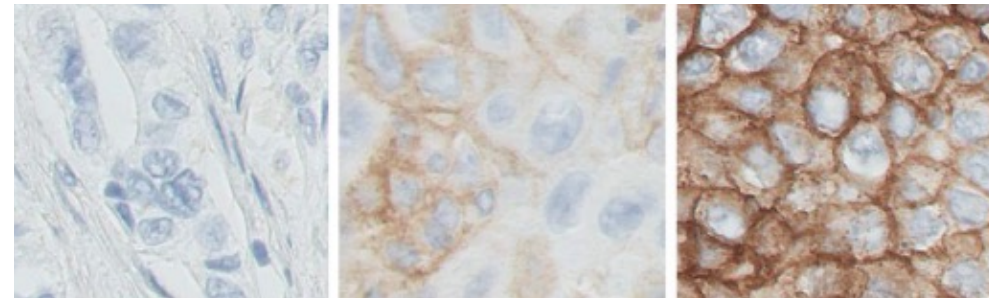
INFORMACIÓN DE PRODUCTO ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO PRODUCTOS RELACIONADOS

Exclude from scoring:

- Cytoplasmic staining
- Immune cells
- Normal cells
- Necrotic cells

PD-L1

- Diferentes anticuerpos y criterios de valoración
- En pulmón se usa fundamentalmente el Tumor Proportion Score (TPS)



- % de células tumorales con expresión de cualquier intensidad y al menos parcial en la membrana sobre el total de células tumorales

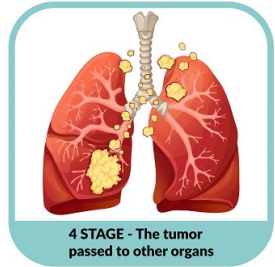
5. FLUJO DE TRABAJO

- Se evalúa cada caso (clínica, diagnóstico, estadiaje muestras disponibles,...)
- Se escoge la mejor muestra (% tumor, calidad)
- NGS siempre que se pueda (coste/beneficio)
- Se intenta preservar tejido (en citología si se puede)
- Ante resultados fallidos/dudosos se prueba otra técnica/muestra

**Molecular Testing Strategies for Pulmonary
Adenocarcinoma**

An Optimal Approach With Cost Analysis

5. FLUJO DE TRABAJO

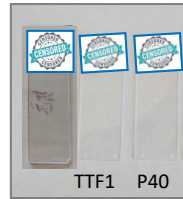


ESTADIO AVANZADO

6-14d

1-3D

CCNP no E

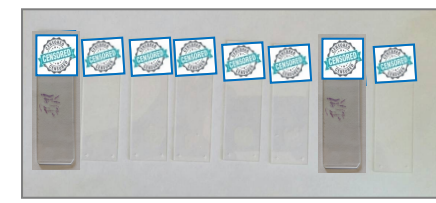


CE

>20%

PD-L1 (IHC) (2-3D)

EGFR, ALK, ROS1,...NGS 5-10D



3-5D

5-20%

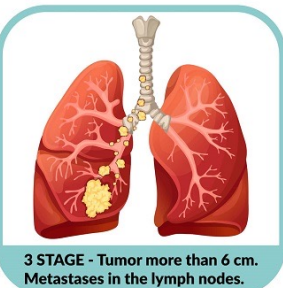
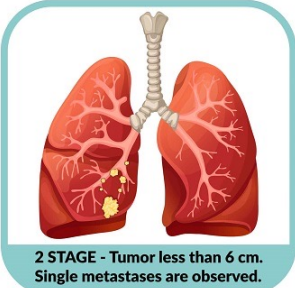
ALK,ROS1 (IHC/FISH) (2-3D)

EGFR (PCR) 3-5D

PD-L1 (2-3D)

PD-L1 (2-3D)

5. FLUJO DE TRABAJO



ESTADIO LOCALIZADO

7D

10-14d



CCNP no E

> Ib (>3CM y/o PI1)

N1/N2

EGFR (PCR) 3-5D

EGFR, ALK, ROS1,...NGS 5-7D

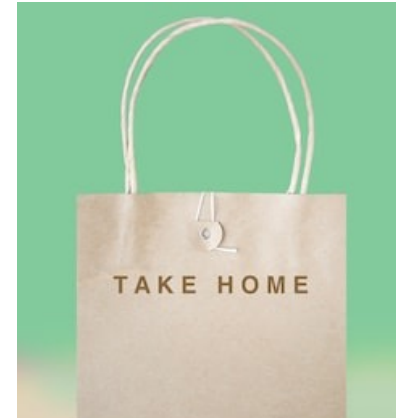
PD-L1 (IHC) (2-3D)

CE

PD-L1 (2-3D)

6. MENSAJES FINALES

- Es imprescindible la colaboración multidisciplinar para el óptimo manejo de la muestra
- Se ha de elaborar un plan a la medida de cada centro
- Hay que conocer las limitaciones de cada muestra y tecnología
- Tener como objetivo hacer el máximo con poco tejido en el menor tiempo posible





**Muchas gracias por su
atención**