

# MÉTODOS DE ESTUDIO EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

Marzo 2024

**Dr. Iván Gallegos Méndez**

Profesor Asociado

Director Médico Biobanco de Tejidos

Jefe de Servicio Anatomía Patológica

Hospital Clínico

Director(s) Departamento Anatomía Patológica

Universidad de Chile

Jefe Técnico Citolab

Uropatólogo Urofusión - APLAB

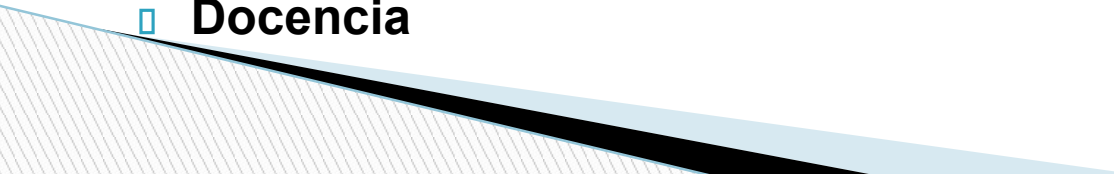
[igallegos@hcuch.cl](mailto:igallegos@hcuch.cl) / [igallegosmendez@gmail.com](mailto:igallegosmendez@gmail.com)

**La anatomía patológica en la actualidad estudia las enfermedades desde la morfología hasta la biología molecular .**

**La visión actual es de una especialidad de gran importancia en la comprensión de la enfermedad, su diagnóstico y tratamiento.**



# **FUNCIONES DE UN SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA**

- ▣ **Biopsias intraoperatorias o contemporáneas**
  - ▣ **Biopsias diferidas ( 12 a 15 mil anuales)**
  - ▣ **Citologías ginecológicas y misceláneas**
  - ▣ **Autopsias no médico-legales ( 1% egresos fallecidos)**
  - ▣ **Reuniones anátomo-clínicas**
  - ▣ **Comités oncológicos**
  - ▣ **Interconsultas y auditorías**
  - ▣ **Investigación**
  - ▣ **Docencia**
- 

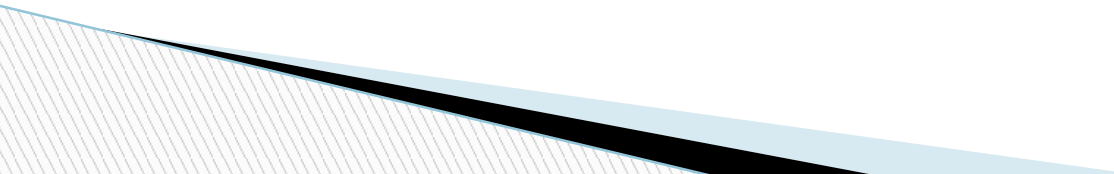
# METODOS DE ESTUDIO EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

- **Citología.**
- **Macroscopía.**
- **Histología básica.**
- **Histoquímica y técnicas especiales.**
- **Inmunohistoquímica.**
- **Inmunofluorescencia.**
- **Microscopía electrónica.**
- **Citometría de flujo.**
- **Patología molecular.**
- **Telepatología.**

# CITOLOGIA

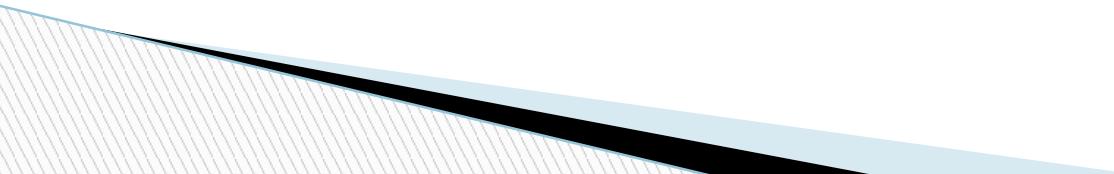
**Estudio de la morfología celular**

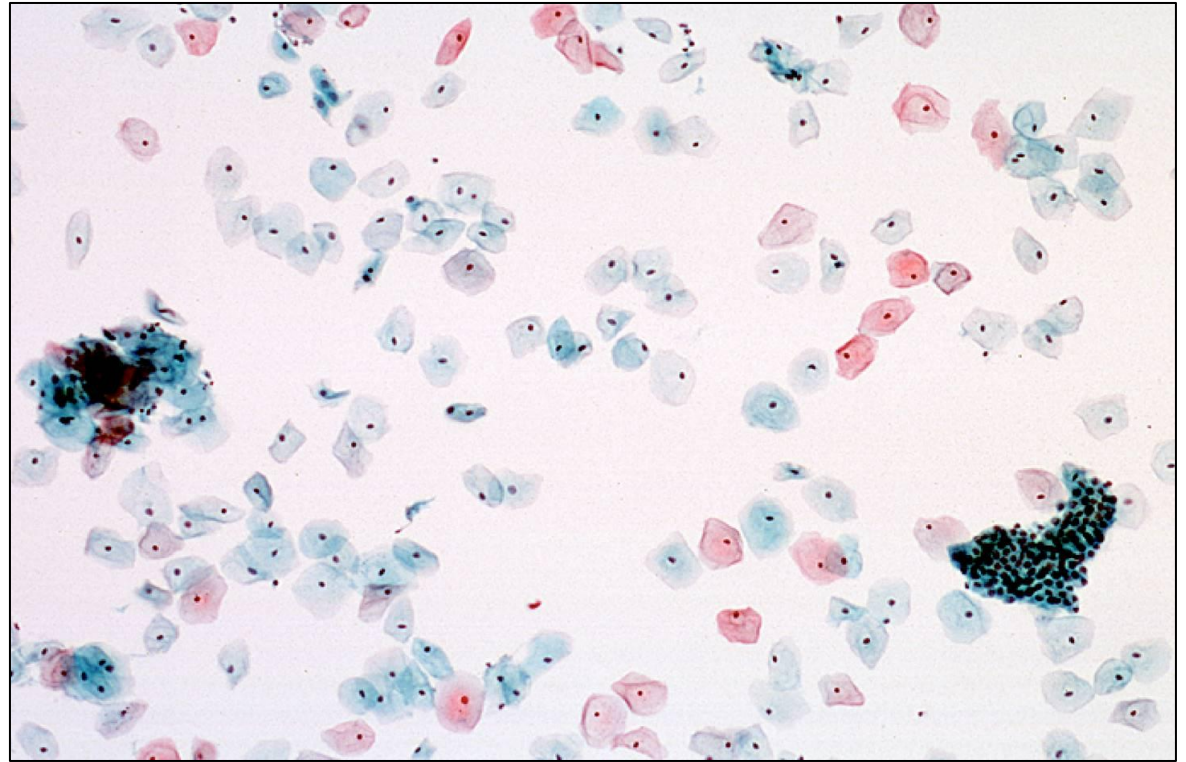
**Permite examinar las características nucleares y citoplasmáticas que diferencian unas células de otras en especial las de tipo neoplásicas.**

- **Exfoliativa (cuello uterino )**
  - **Aspirativa o por punción (mama, tiroides)**
  - **Fluidos líquidos o lavados de cavidades (Pleura, cavidad abdominal).**
  - **Raspado, impronta o aposición de tejidos.**
- 

# CASO CLINICO 1

Mujer de 30 años. Vida sexual activa.  
Asintomática. Control de salud laboral.  
Reglas en orden. Sin historia de embarazos.  
Examen ginecológico normal.





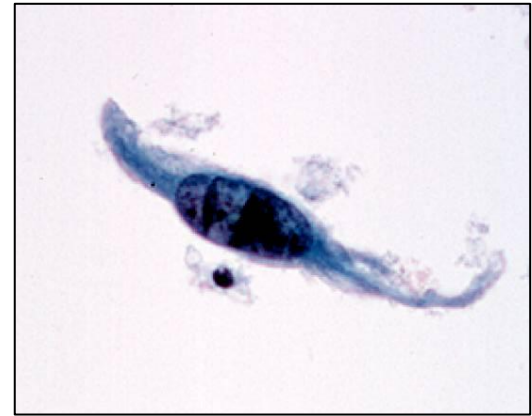
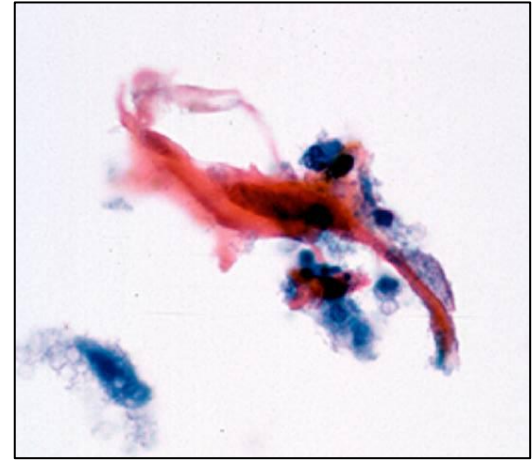
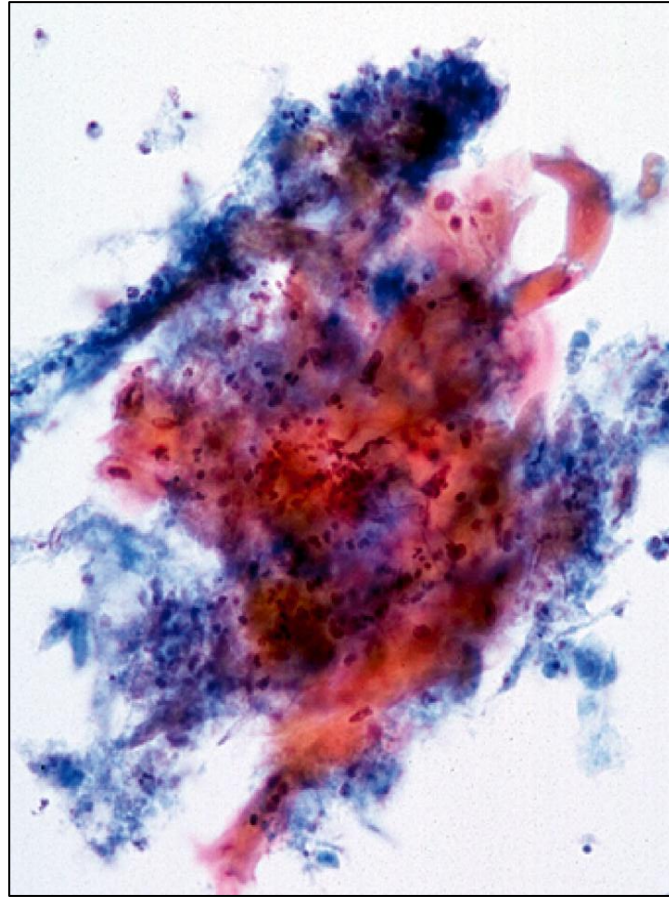
## CASO CLINICO 2

Mujer de 50 años. Vida sexual activa. Leucorrea de mal olor. Reglas en orden. Historia de 2 embarazos. Antecedente de condilomas vulvares.

Examen ginecológico cuello de superficie irregular, sangra fácil al tacto.







# Etapas de una BIOPSIA DIFERIDA

## 1. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

- Parcial: Biótomo, Punción, Muestras endoscópicas, Incisional, etc.
- Total: Tratamientos con intención curativa

### PIEZAS QUIRÚRGICAS



Bp Core

Mamótomo



Gastrectomía



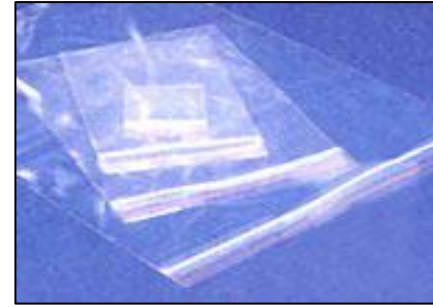
Anexo Uterino

## 2. ENVASE Y ROTULACIÓN

### El envase ideal

- frasco de plástico
- transparente
- tapa rosca
- boca ancha

Para que la muestra ingrese y salga con facilidad del frasco e impida la evaporación de la formalina.



**DATOS DEL PACIENTE**

Nombre  Rut:  Edad  Fecha   
Dirección  Teléfono   
Comuna  Fecha de nacimiento  Sexo   
Servicio o Pabellón  Cama

**DATOS DE SOLICITUD**

**TIPO DE EXAMEN**  Describe el otro tipo de Examen

**ÓRGANO - TIPO DE MUESTRA O TEJIDO DE DONDE PROCEDA LA BIOPSIA****DIAGNÓSTICOS****ANTECEDENTES CLÍNICOS****TIPO DE MUESTRAS**

Nº de Frascos  Nº de Bolsas  Nº de Láminas

Creado por: CUNEO BARBOSA, NICOLE  
Modificado por:

Fecha Creac.: 24/03/2019 15:57  
Fecha Modif.:

# 3. FIJACIÓN

La fijación es el proceso mediante el cual se detiene el proceso de autodigestión citoplasmática y nuclear, permitiendo que la célula mantenga la forma que tenía cuando era vital.

- La *formalina* es el fijador universal, tiene como componente activo el *formaldehído*
- La solución comercial de formaldehído es al 37-40 % que es la llamada “formalina” pura, al diluir esta solución 10 veces se alcanzará entonces la dilución de formaldehído al 4%
- Idealmente usar formalina tamponada o al menos neutralizada.

# 4. MACROSCOPIA



- RECEPCION DE LA MUESTRA
- MACROSCOPIA (Descripción)
- ENCAPSULACION



**ENCAPSULACION DE LA MUESTRA**

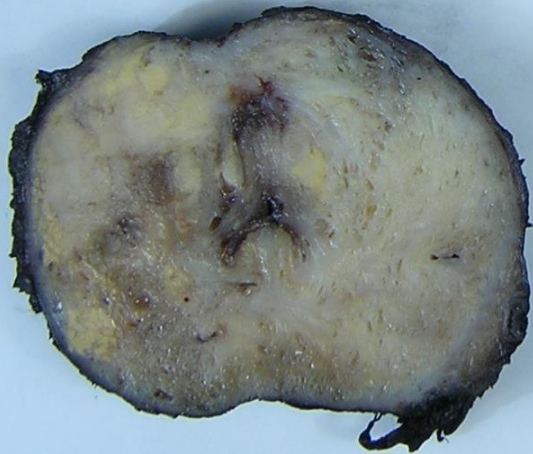
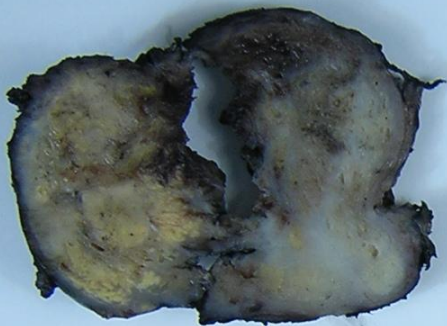
# 4. MACROSCOPIA

Descripción de la muestra recibida.

Selección de zonas para corte Histológico.

Protocolos predefinidos







# 5. PROCESAMIENTO

Proceso de deshidratación con alcoholes y de impregnación con xilol y parafina

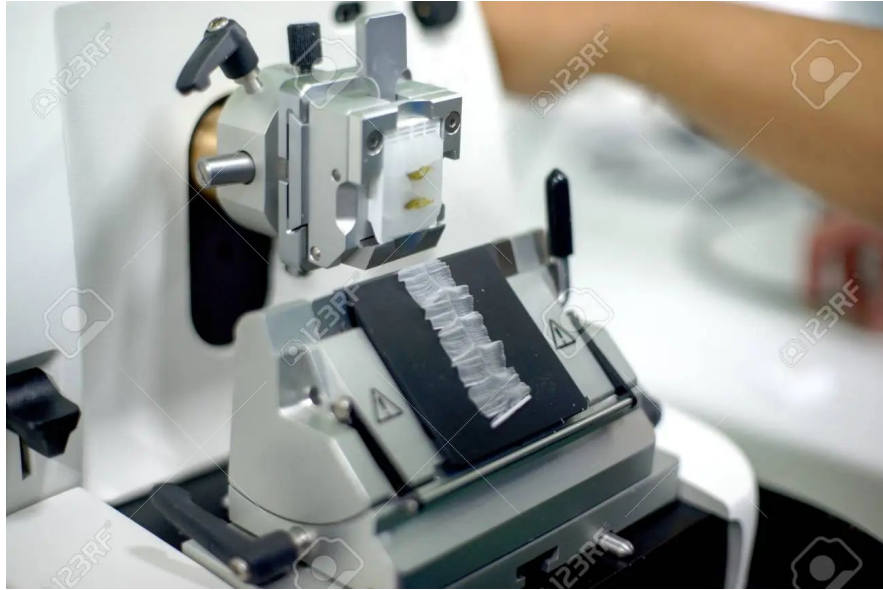


# 6. INCLUSIÓN

REALIZAR EL  
MOLDE DE  
PARAFINA QUE  
CONTIENE EL  
TEJIDO



# 7. CORTE Y TINCIÓN

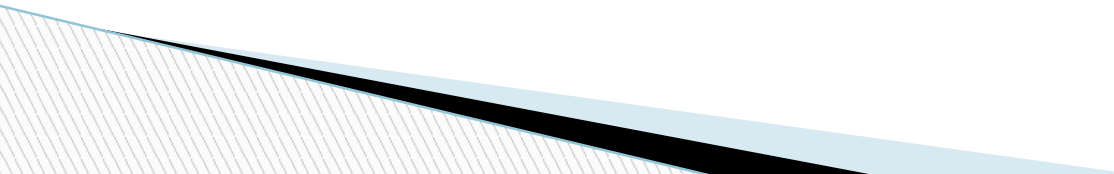


# 8. ANALÍTICA

- MICROSCOPIA
- TINCIONES COMPLEMENTARIAS
- INFORME ANATOMO PATOLÓGICO



# Reporte Prostatectomía

- Tipo Histológico.
  - Grado de Gleason.
  - Localización. Tamaño.
  - Márgenes Quirúrgicos. Extensión. Gleason.
  - Extensión Extraprostática. Focal o Establecida.
  - Estado de vesículas seminales.
  - Estado de los linfonodos.
- 

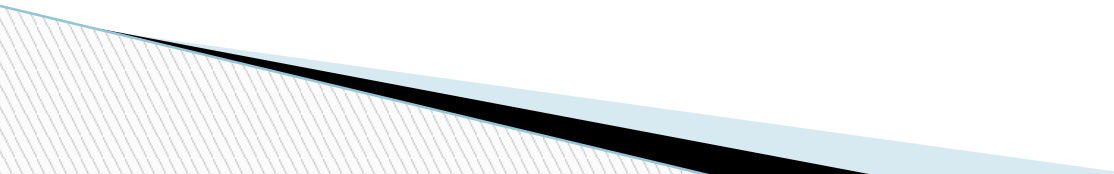
# ETAPIFICACIÓN FINAL DEL PACIENTE

- ▣ BASADA EN ELEMENTOS DEL EXAMEN CLÍNICO.
  - ▣ IMÁGENES RADIOLÓGICAS.
  - ▣ CINTIGRAMA ÓSEO
  - ▣ MARCADORES SEROLÓGICOS.
- ▣ BASADA EN EL ANÁLISIS ANATOMO-PATOLOGICO DE LA PIEZA QUIRÚRGICA.

CLÍNICA

PATOLÓGICA

# FLUJO DE DECISIONES

- ▣ DEFINIR ESTADIO DE LA ENFERMEDAD.
  - ▣ TRATAMIENTO ESPECÍFICO.
  - ▣ PRONÓSTICO.
- 

# 9. ARCHIVOS GENERADOS

## BASE DE DATOS

FileMaker Pro [Hospital.DIC\_2015\_2019]

219755

ALEJANDRA ANDREA FERNANDEZ NETTLE 47

8711358-2 2778211 8711358

GASTRIC POLIPO DE TRANVERSO

COLON DR. ALVARO URZUA

**EXAMEN MACROSCÓPICO**  
Un fragmento de tejido gástrico, regular, de 0,5 cm de longitud.

**EXAMEN HISTOLÓGICO** (Tinc. HE a Histoquímica)  
Muestra histológica por aspirado del tipo coláctico que es por glándulas acinares alargadas y dilatadas, revestidas por epitelio hiperplásico con abundantes células calcificadas dando al lumen y a la superficie un aspecto sandado, rodeadas por células mucocelulares, rodeadas por un estroma congestivo, con escaso infiltrado inflamatorio.

**DIAGNÓSTICO**  
- POLIPO HIPERPLÁSICO

THE TPAS

## INFORMES EN PAPEL



## LAMINAS HISTOLOGICAS



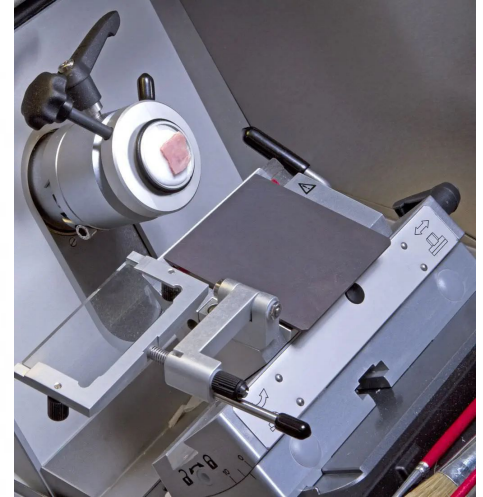
## INCLUSIONES





# BIOPSIA INTRAOPERATORIA

- ▣ Se procesa fijando el tejido por congelación durante el acto operatorio.
- ▣ Los cortes se realizan con un micrótopo de congelación o crióstato
- ▣ Las láminas se tiñen con HE , azul de toluidina u otra técnica
- ▣ El proceso demora entre 10 y 15 minutos dependiendo del número de cortes realizados y la complejidad del caso



# BIOPSIA INTRAOPERATORIA

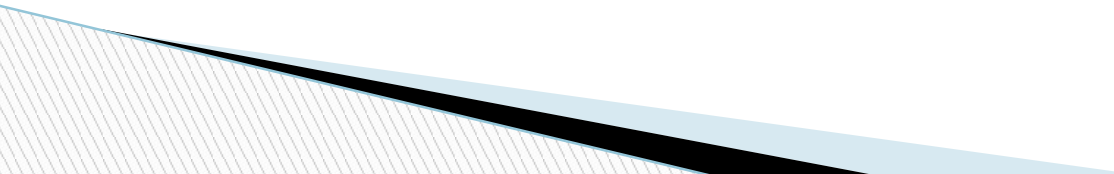
## INDICACIONES

1. Determinar la presencia y/o el carácter biológico de la lesión para decidir el tipo de cirugía.
2. Establecer si el tejido obtenido contiene material para hacer un diagnóstico o si se requiere de una muestra adicional.
3. Determinar el estado de los bordes quirúrgicos y la distancia a la lesión

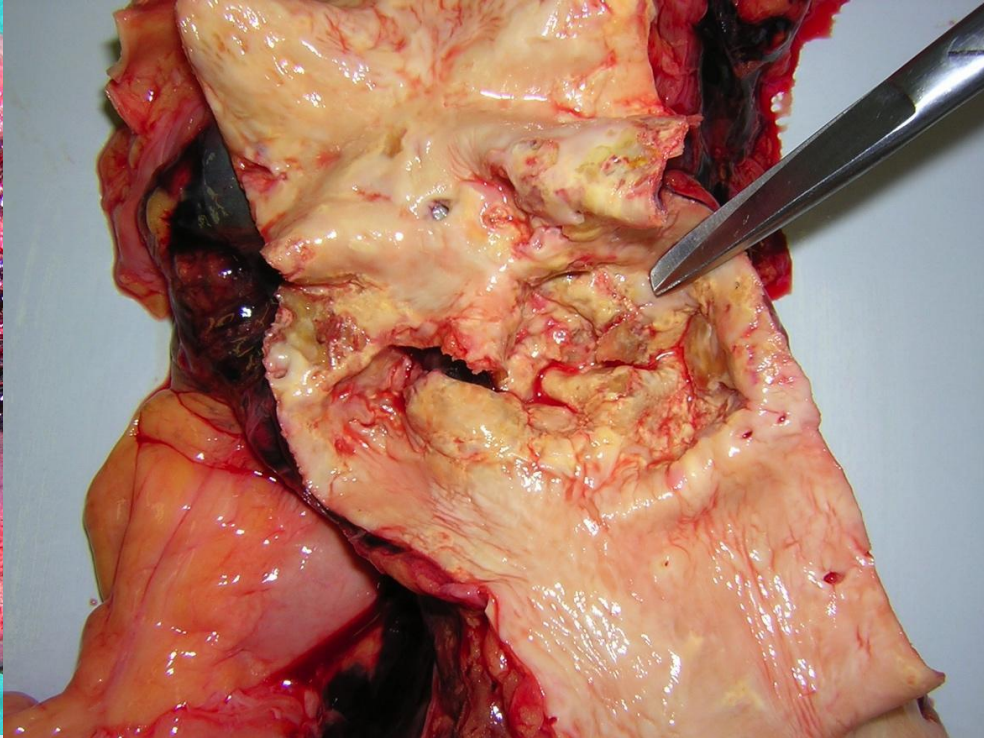
## CONTRAINDICACIONES

1. La muestra es tan pequeña que es imposible procesar suficiente tejido para cortes permanentes.
2. El tejido es grasa o está calcificado, incluso osificado
3. La muestra viene en formalina.

# Autopsias

- ▣ **Franca disminución en los últimos años.**
  - ▣ **Causa multifactorial.**
  - ▣ **Muy útil en casos de muertes con evidencia morfológica.**
  - ▣ **Poco útil en casos de fallas funcionales.**
- 

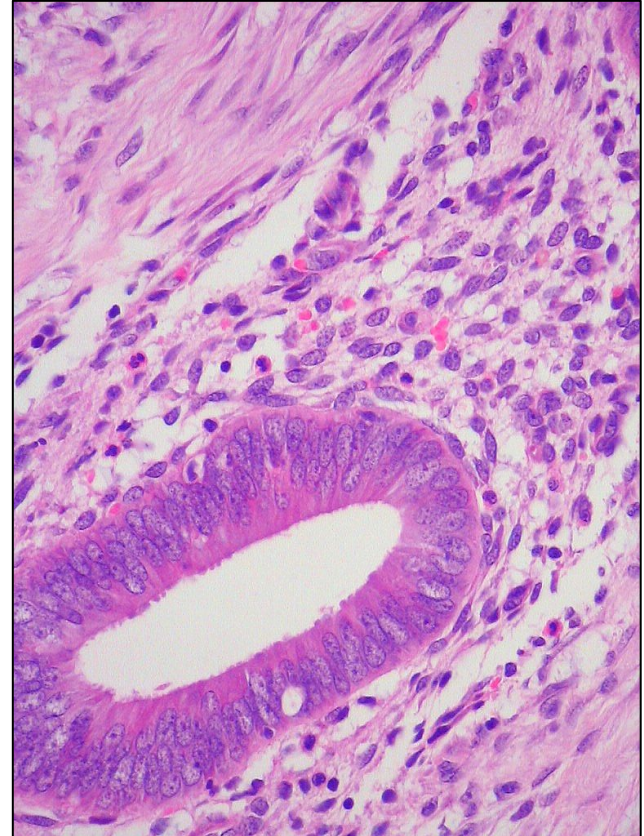
# Autopsias



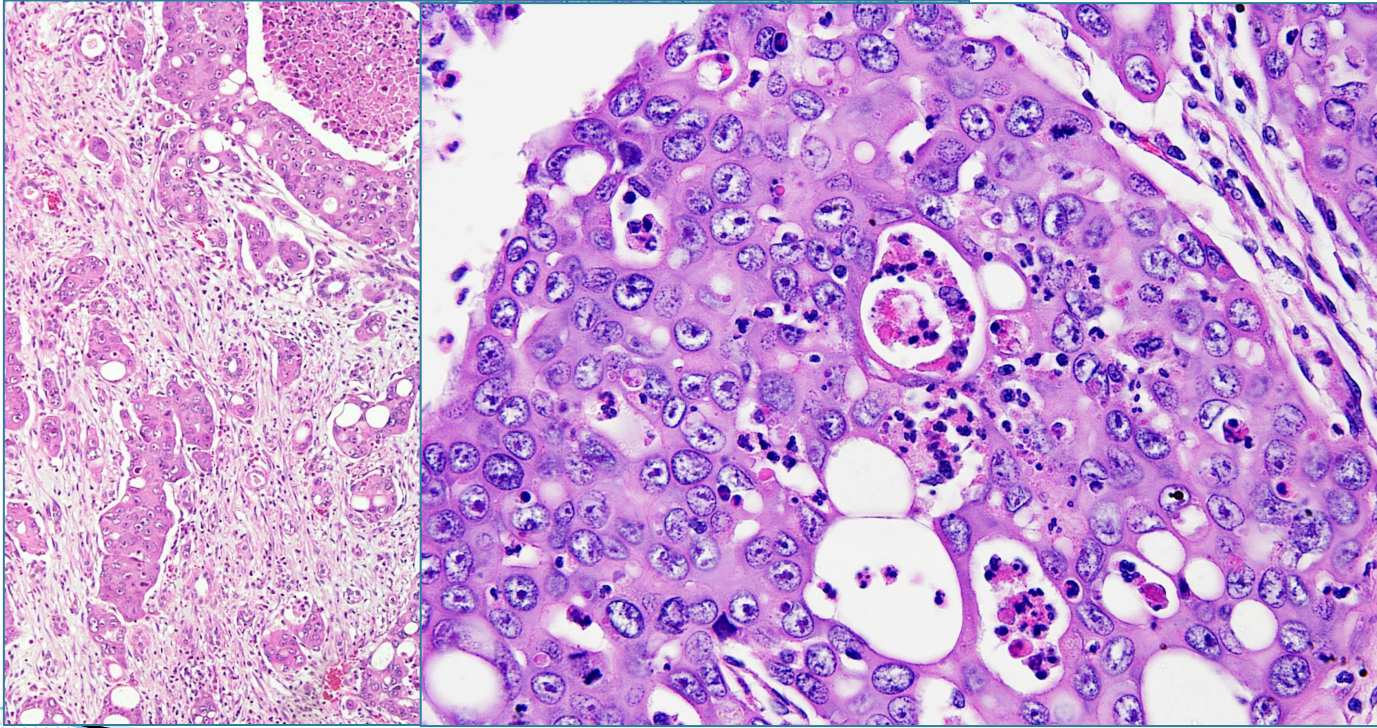
# TÉCNICAS DE TINCIÓN USADAS EN PATOLOGÍA

## TINCIÓN DE HEMATOXILINA EOSINA

- NÚCLEOS (AZULES/BASÓFILO)
- CITOPLASMA (ROSADO/EOSINÓFILO)



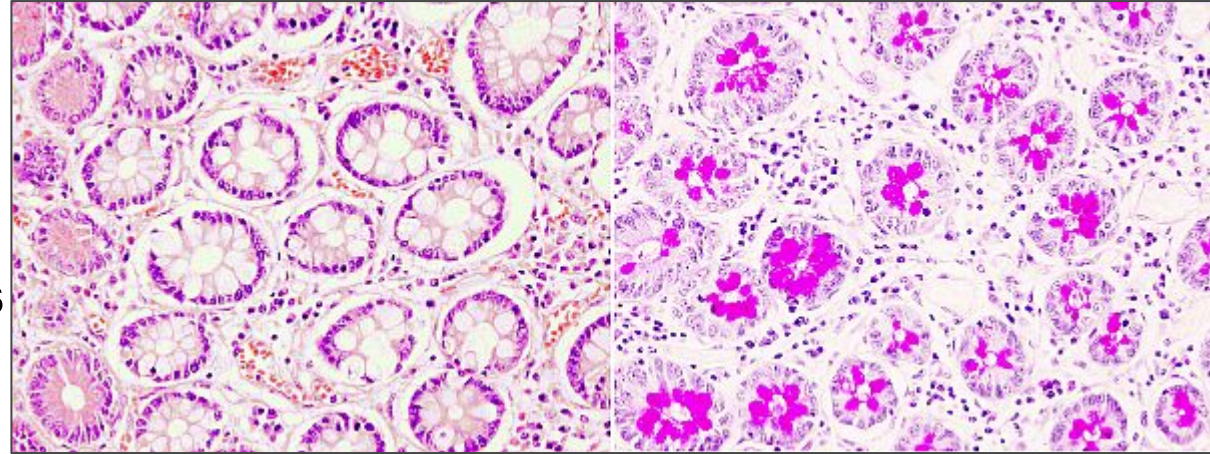
# Carcinoma Renal Medular



# Técnicas Histoquímicas

Existe una amplia gama de técnicas empleadas, se muestran algunas de ellas.

**PAS (ácido peryódico-Schiff)** :  
glicógeno y mucopolisacáridos  
neutros, también membranas  
basales y la mayoría de los  
hongos



**Mucosa de intestino grueso**

# **OTRAS TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS**

**Rojo Congo - Amiloide**

**Gram - Bacterias**

**Ziehl Neelsen - Bacilos ácido alcohol resistentes**

**Pearls - Fierro**

**Fontana Masson - Gránulos neurosecreción**

**Reticulina - Retículo**

**Von Kossa - Calcio**

**Giemsa - Hematología, bacterias.**

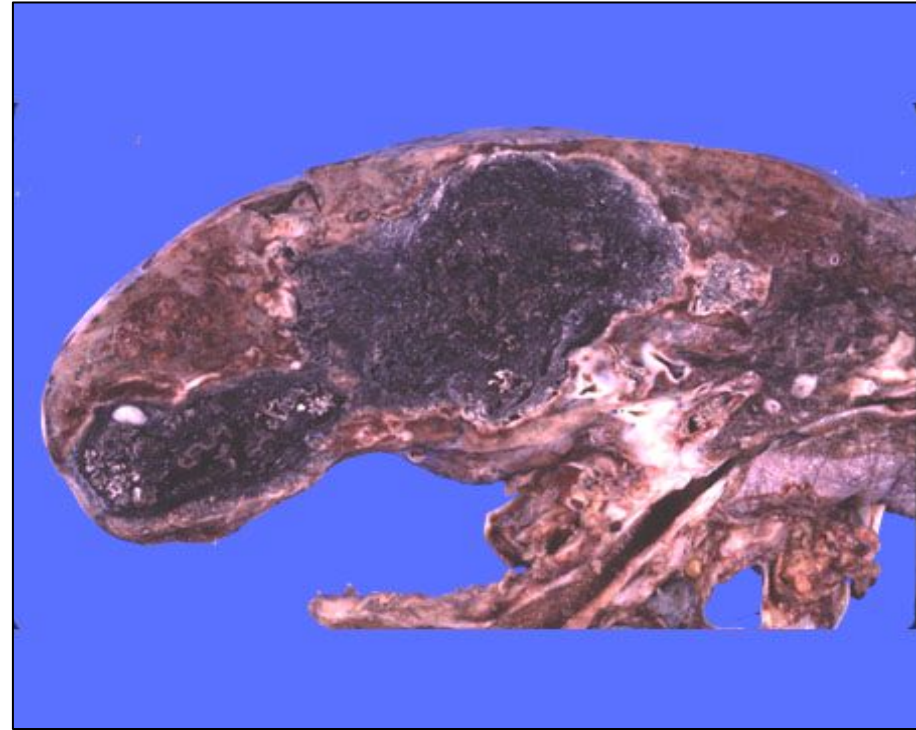
**Oil red O - Grasa**

**Luxol fast blue - Mielina**

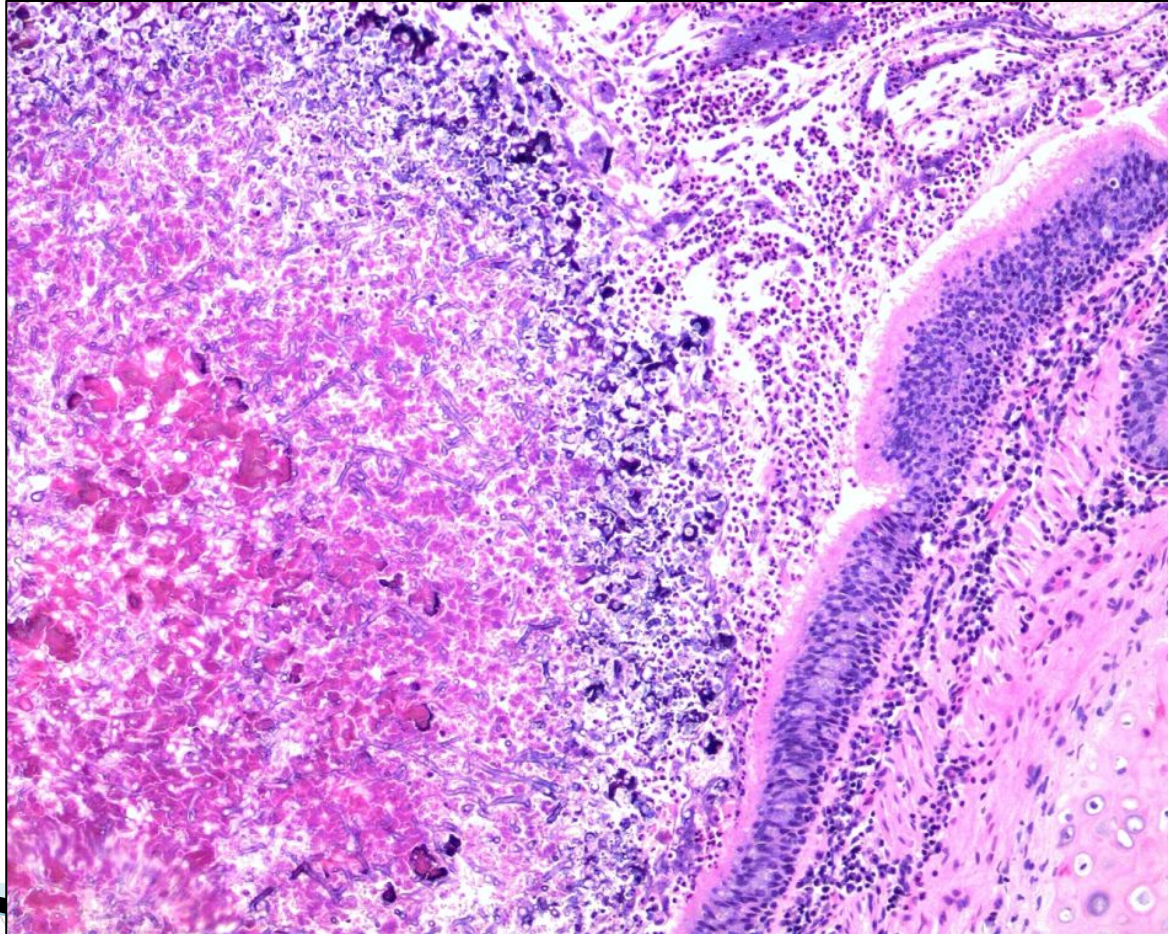


## CASO CLÍNICO 3

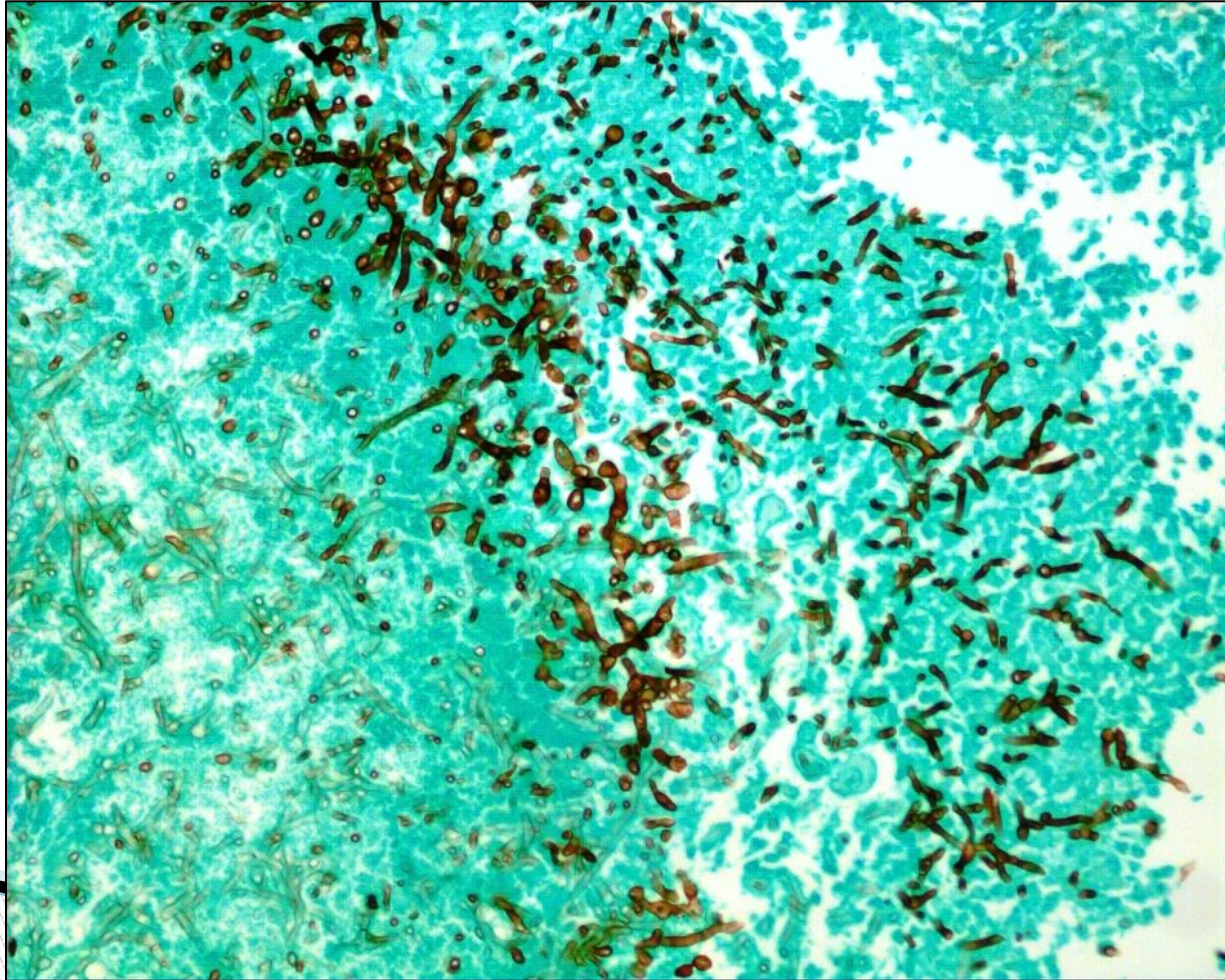
Hombre de 50 años,  
antecedente de neumonía  
cavitada. Persiste con tos  
varios meses después.  
TAC tórax cavidad  
pulmonar persistente.  
Obs. ¿Tumor?



## TINCIÓN HE



## TINCIÓN DE GROCOTT



# INMUNOHISTOQUÍMICA

Es la aplicación de principios inmunológicos en el estudio de células y tejidos.

- Altamente sensible y específica,
- Aplicable a material procesado en forma rutinaria
- Se puede correlacionar con los parámetros morfológicos
- Es compatible con la mayoría de los fijadores para tejidos
- Aplicable en citología.

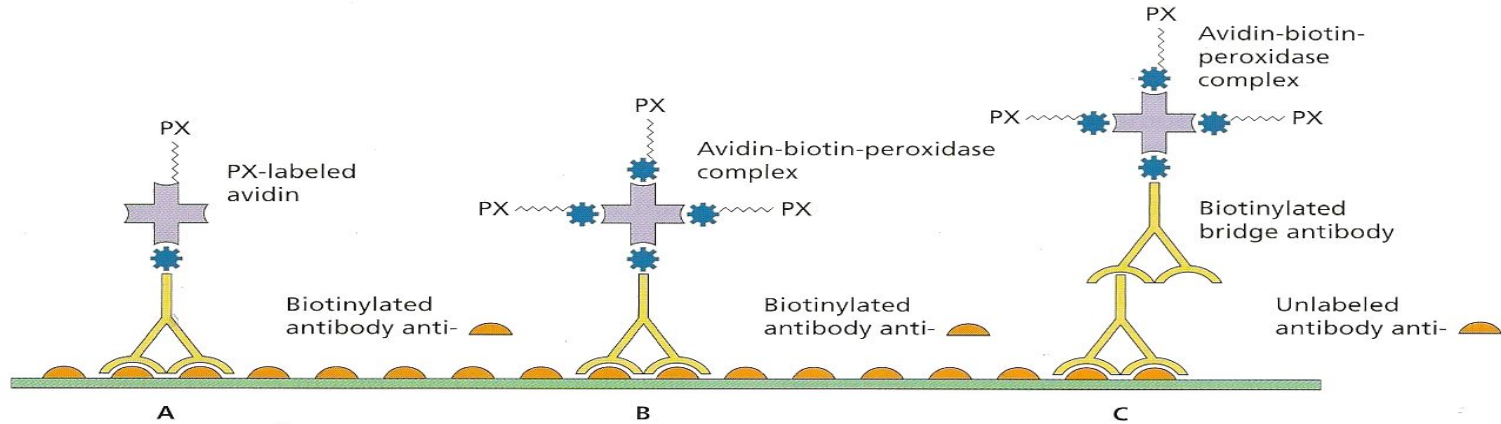


Fig. 3.10 Biotin-avidin immunoenzymatic techniques. Solid semicircle, antigen; PX, peroxidase; \*, biotin; shaded open cross, avidin. **A**, Biotinylated primary antibody method. **B**, Biotinylated peroxidase method. **C**, Avidin-biotin-peroxidase complex method. (From Falini B, Taylor CR. New developments in immunoperoxidase techniques and their application. *Arch Pathol Lab Med* 1983, **107**: 105-117)

## MÉTODO CON INMUNOENZIMATICO CON AVIDINA-BIOTINA

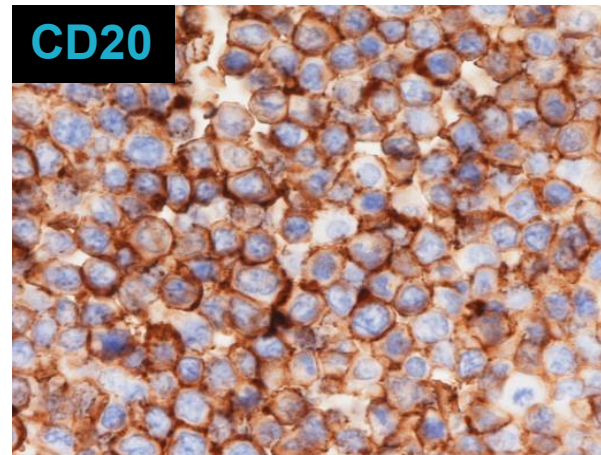
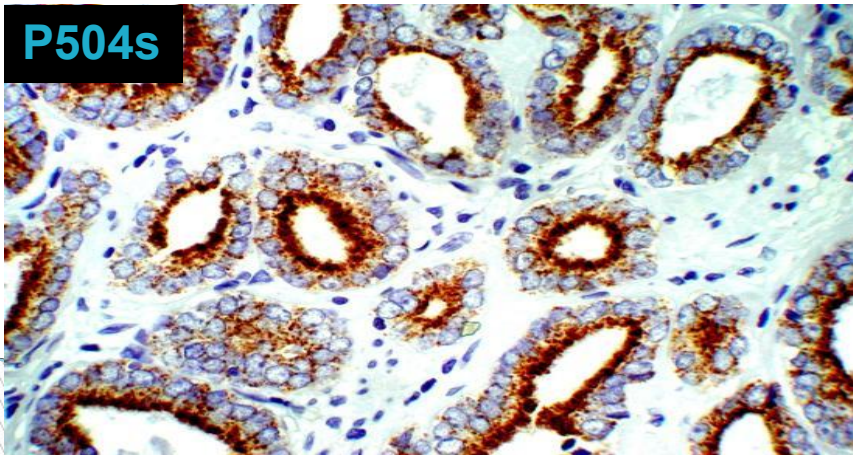
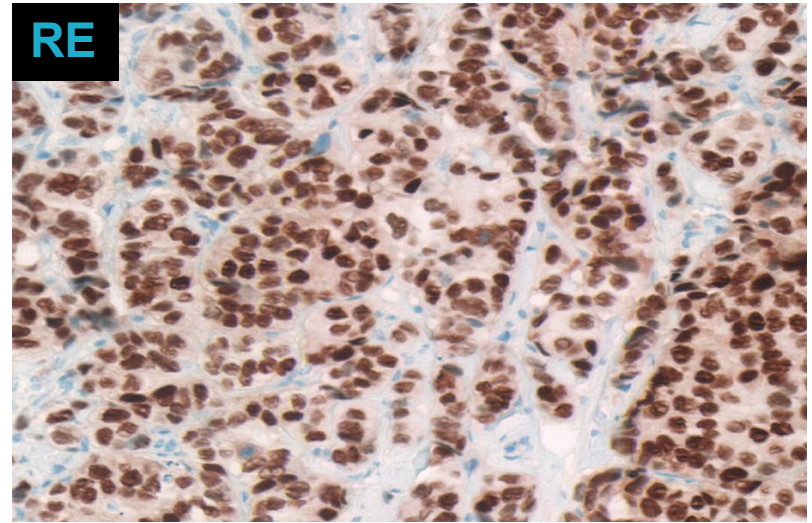
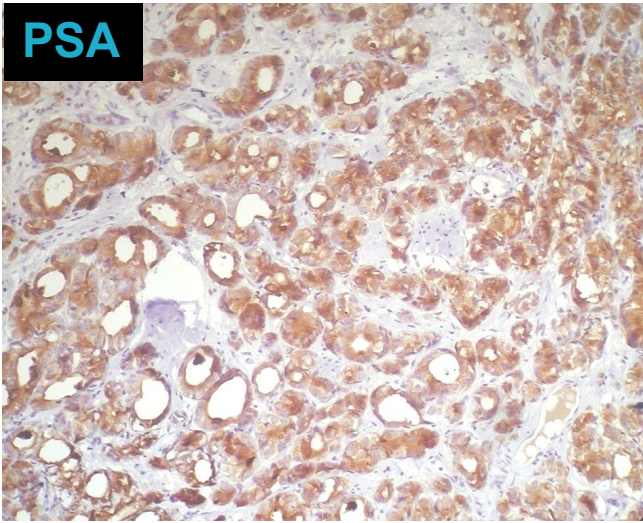
# SISTEMAS AUTOMATIZADOS



# INDICACIONES

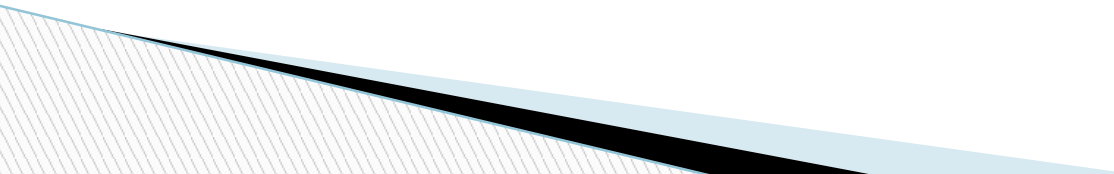
- \* **Tipificación de estirpe celular**
- \* **Diagnóstico diferencial de neoplasias**
- \* **Tipificación de neoplasias hematológicas (linfomas y leucemias).**
- \* **Factores pronósticos**

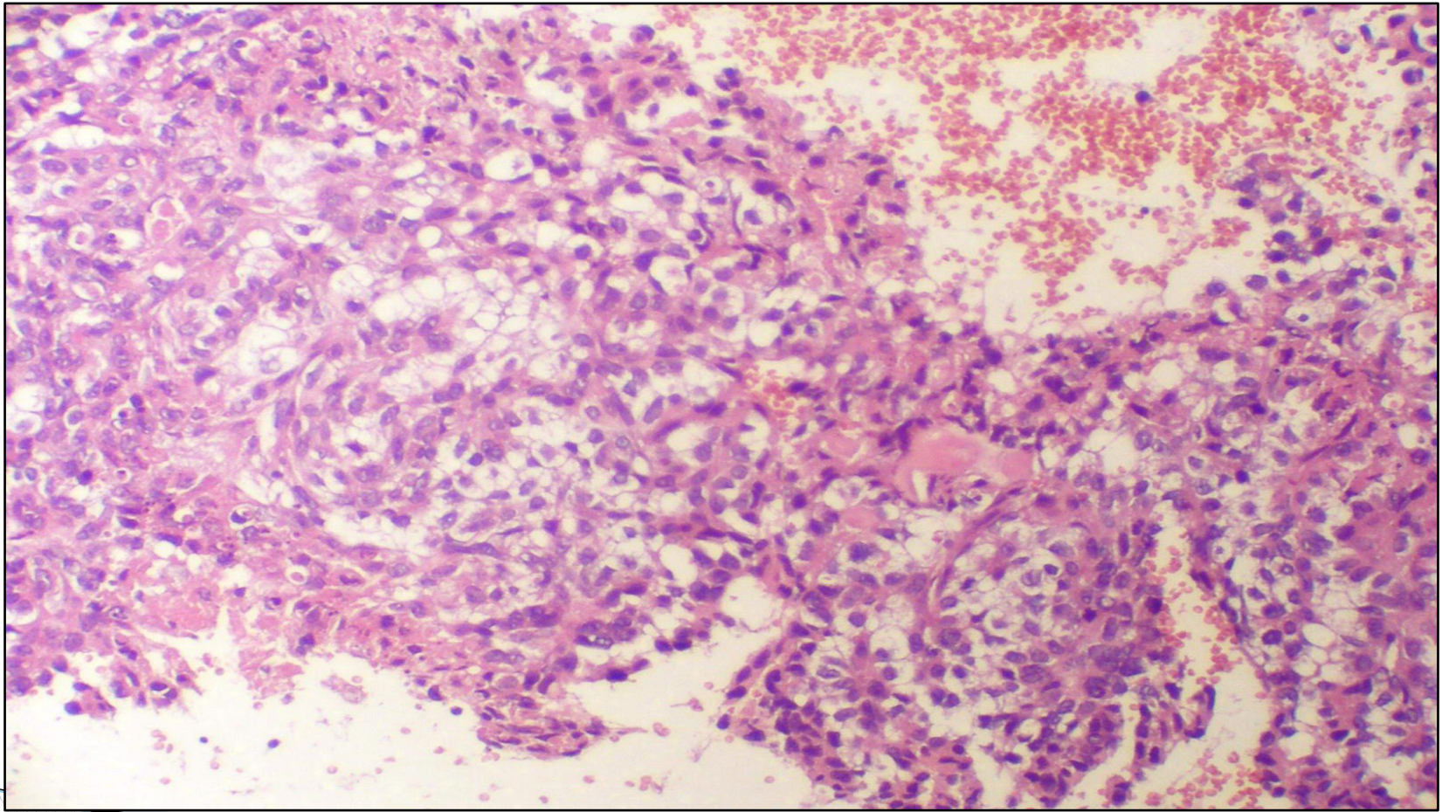
**Útil, rápida, costo razonable, pues se usan paneles de anticuerpos para diagnóstico.  
Se requiere tejido muy bien conservado**

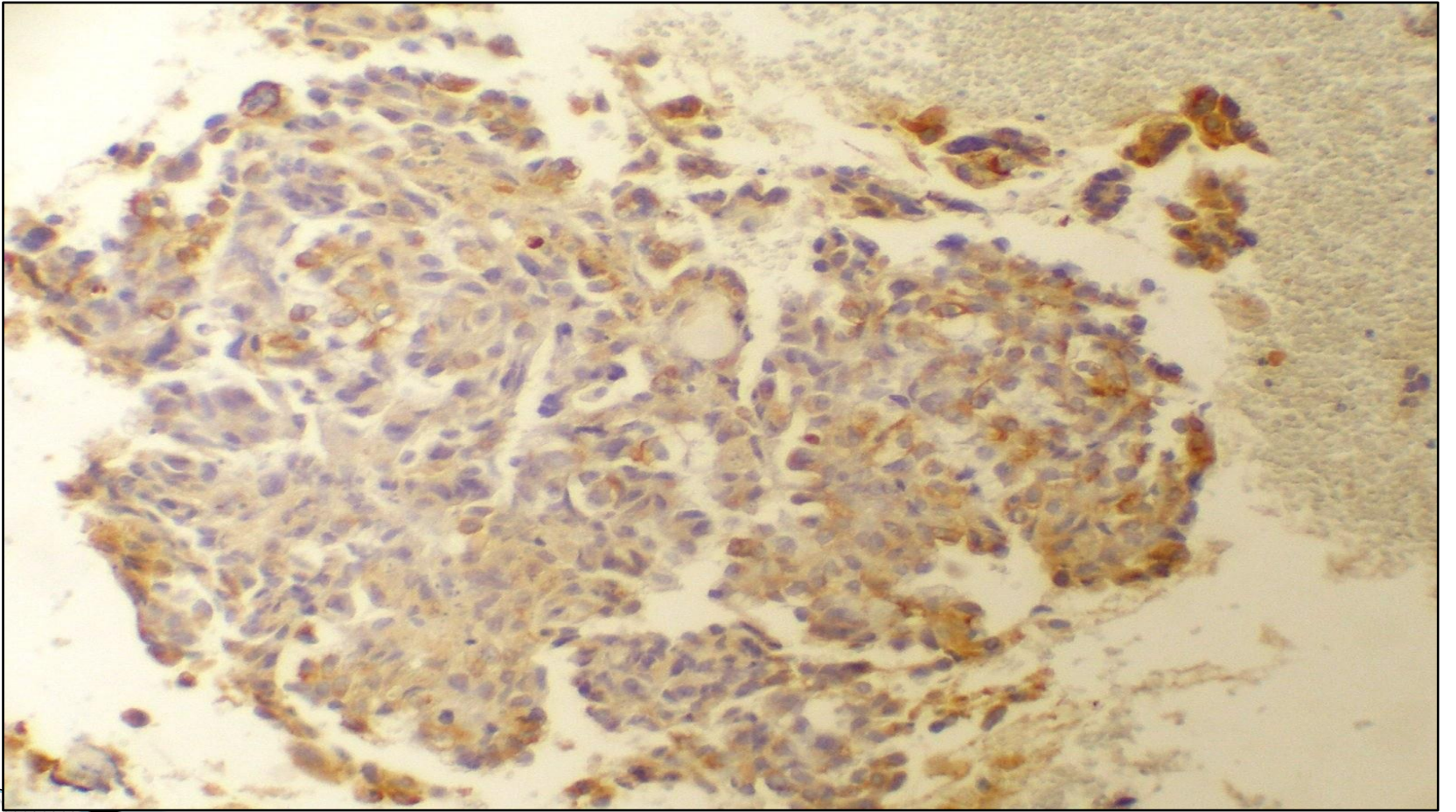




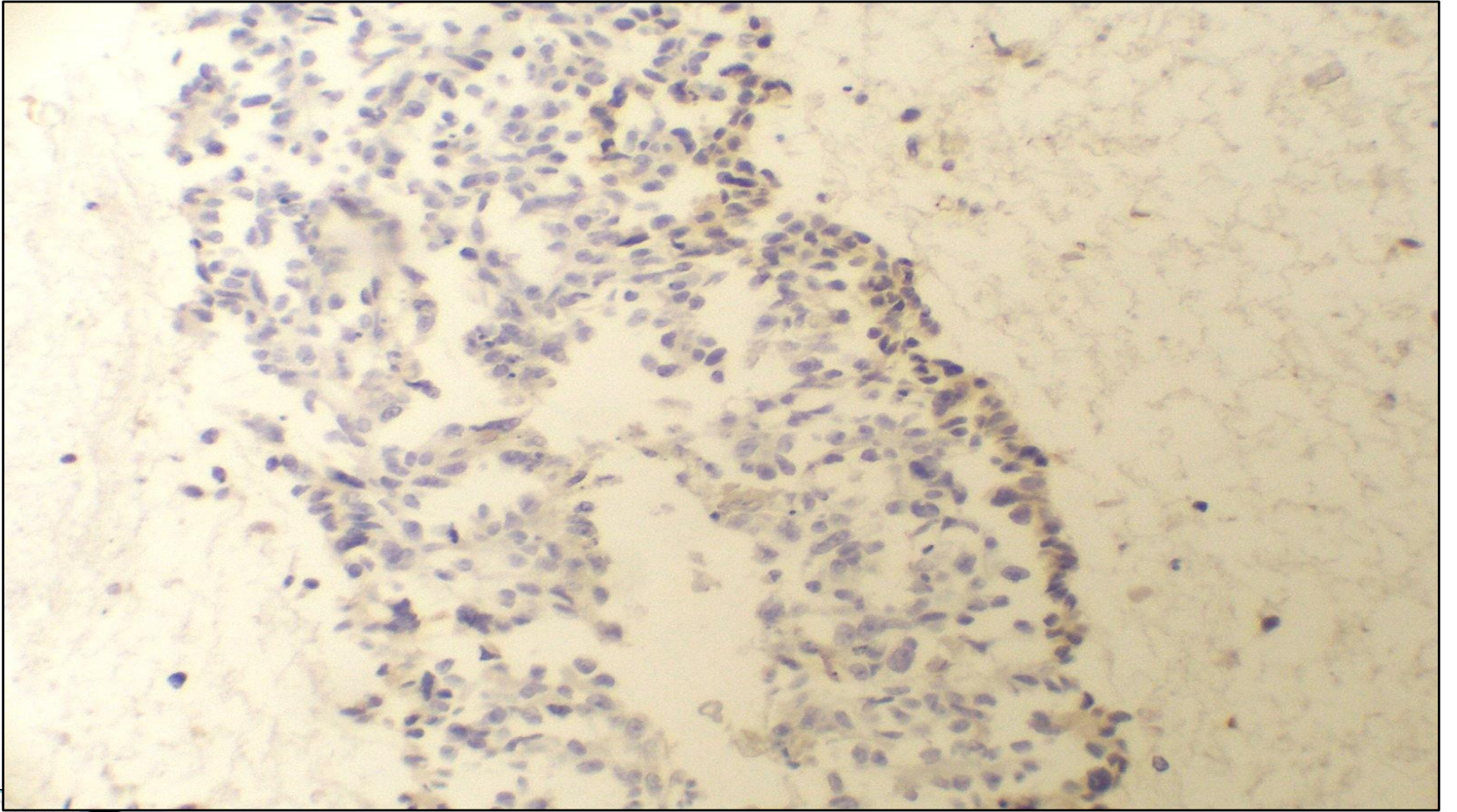
# Caso Clínico 4

- Hombre de 55 años
  - Fumador.
  - Fractura patológica de fémur.
- 

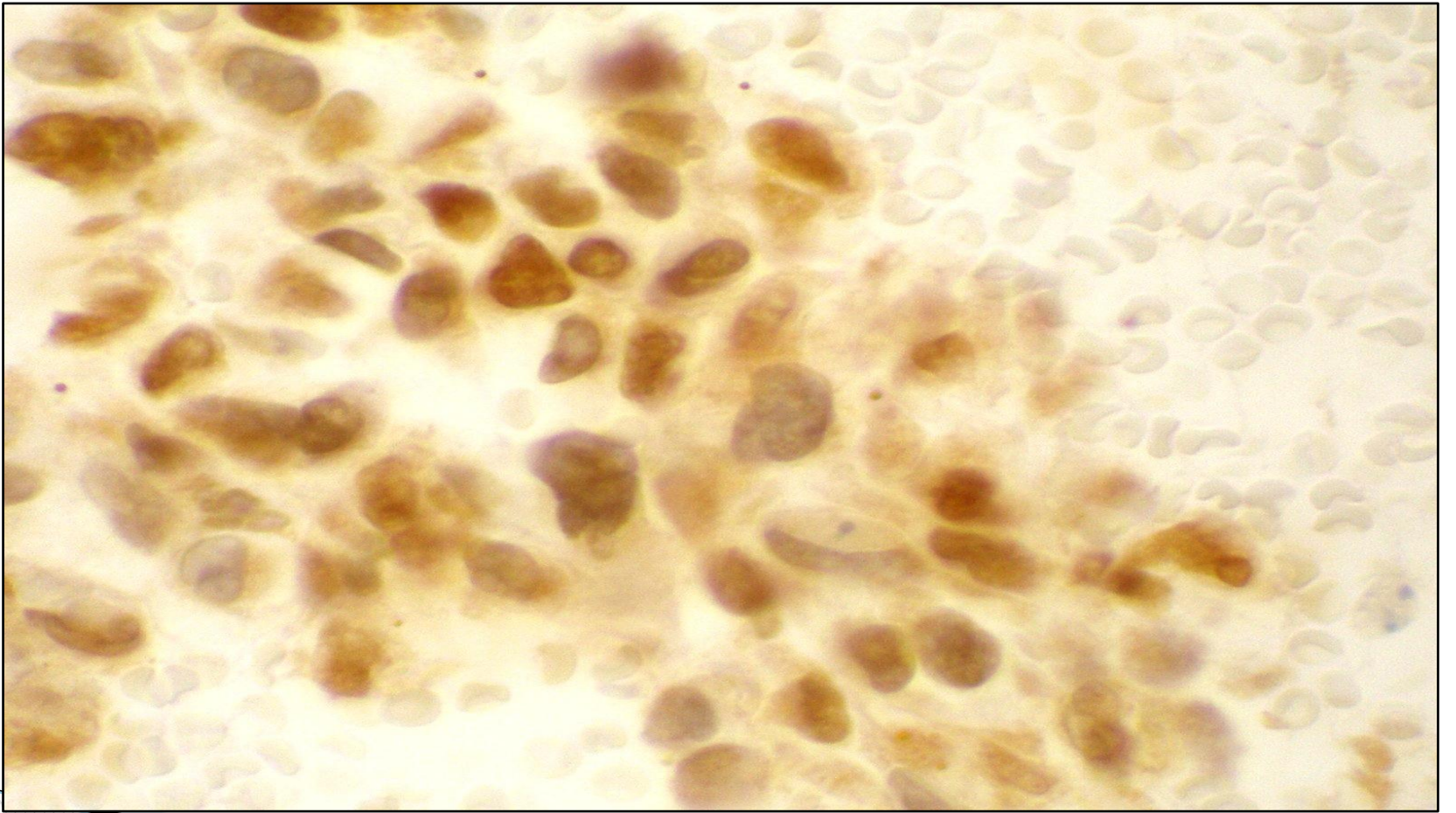




**CITOKERATINA 7**



**CITOKERATINA 20**



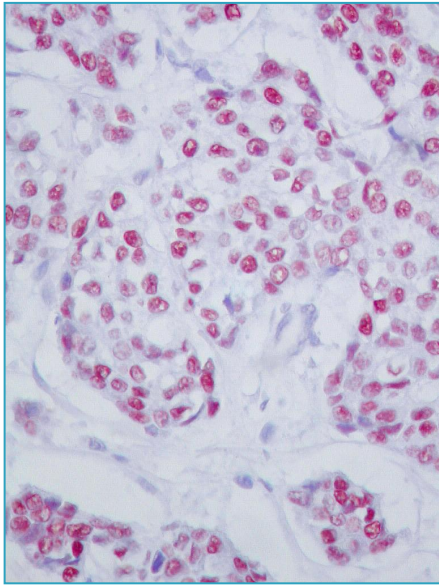
**TTF-1**

# Diagnóstico

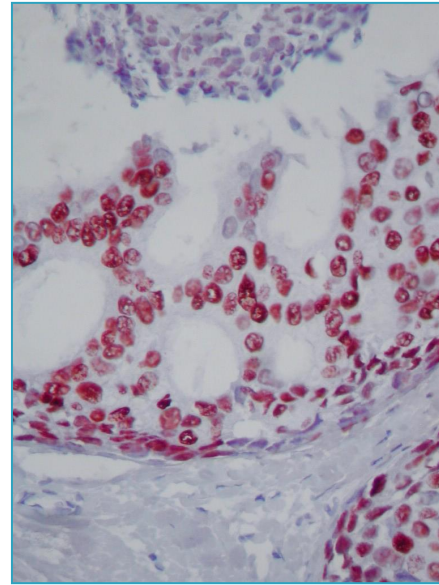
- ▣ **ADENOCARCINOMA PULMONAR METASTÁSICO EN HUESO.**

# **INMUNOHISTOQUÍMICA: USO FACTORES PRONÓSTICOS**

## **RECEPTORES HORMONALES: Cáncer mamario**



**Receptores de estrógenos**



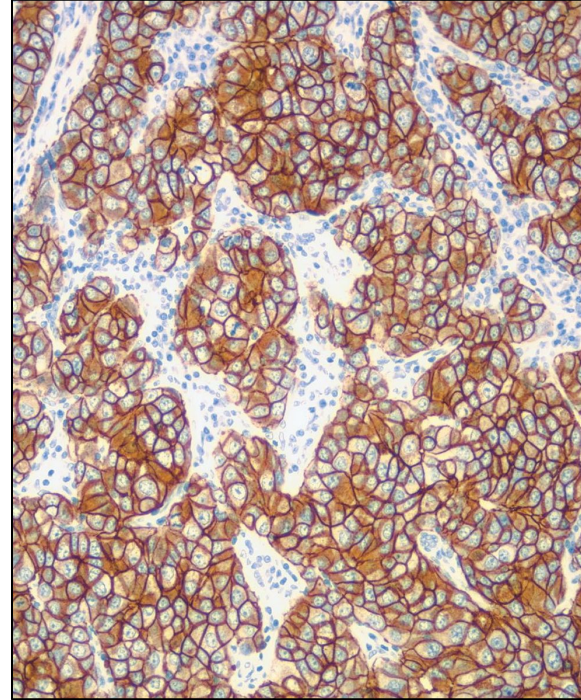
**Receptores de progesterona**

# Oncogen c-erbB-2 (HER2):

**Amplificado en el 30% de los carcinomas de mama.**

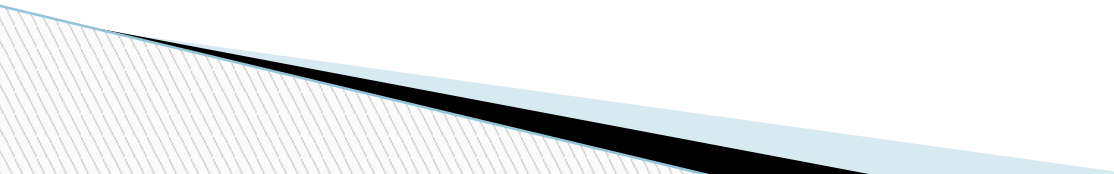
**Factor pronóstico de la supervivencia total y del periodo libre de enfermedad en pacientes con cáncer y ganglios linfáticos positivos.**

**Asociada con un pobre grado histológico, extensión a ganglios axilares y número de ganglios afectados**

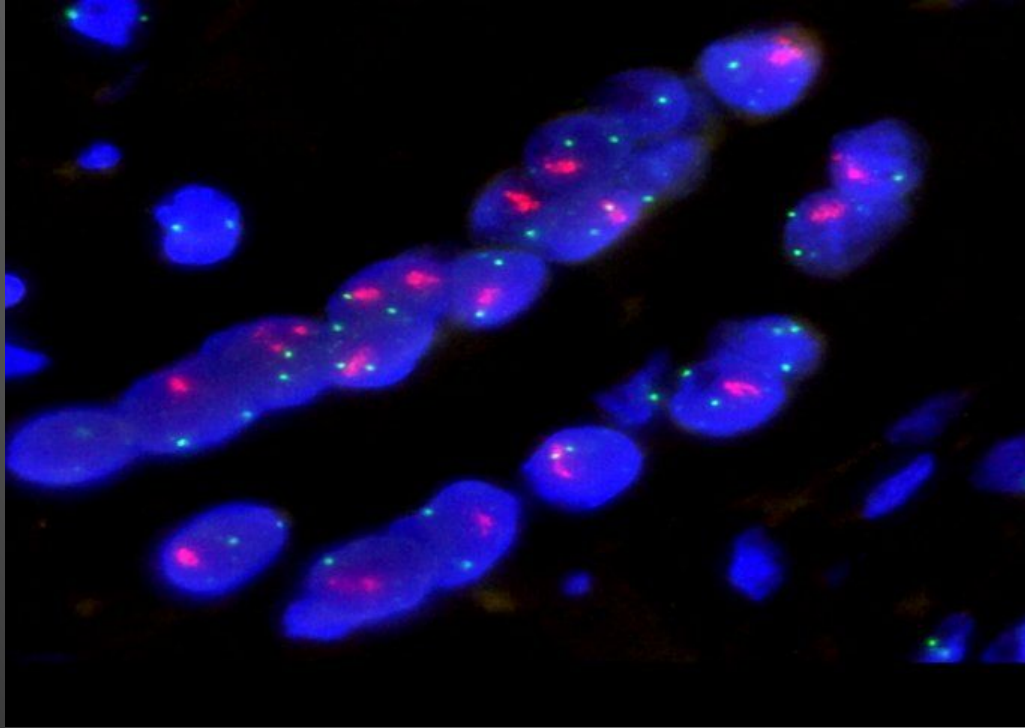




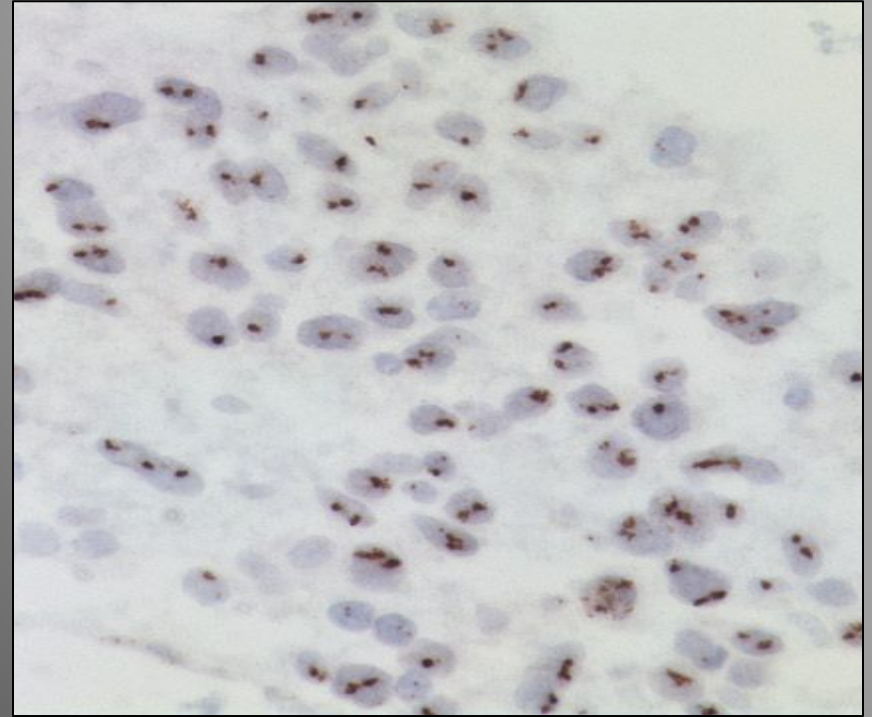
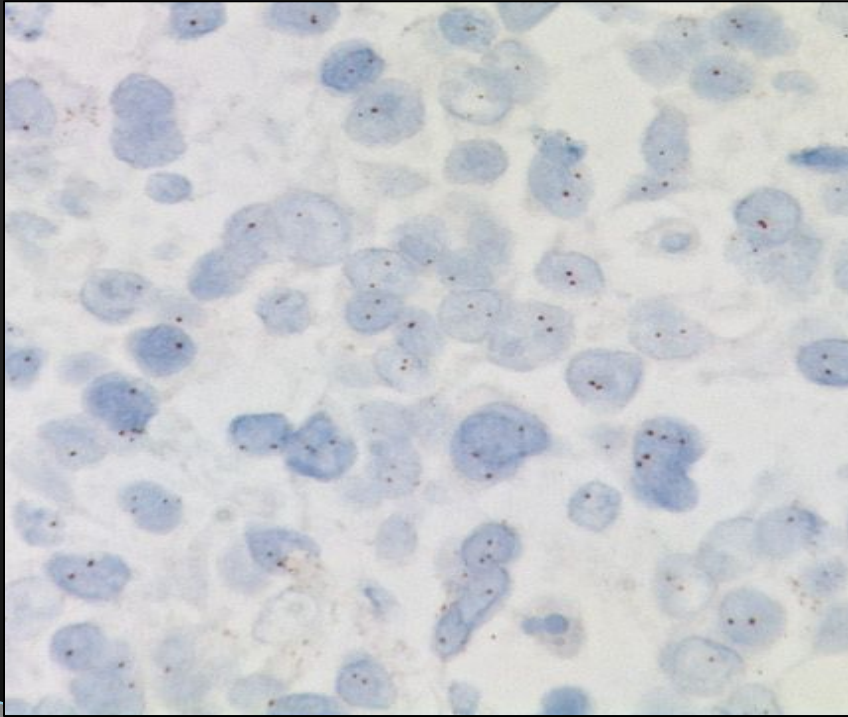
# Técnicas de Hibridización

- **Hibridación in situ:** Complementación de pares de bases entre dos hebras sencillas mediante sondas (DNA, RNA) reveladas con cromógeno
  - **FISH:** técnica de hibridación con sonda fluorescente
  - **CISH:** técnica de hibridización con cromógeno (similar a inmunohistoquímica)
- 

# C-erbB-2: FISH

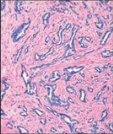
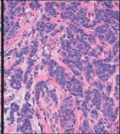
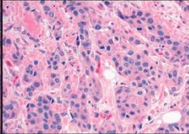
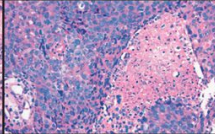
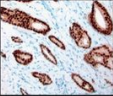
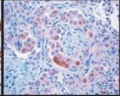
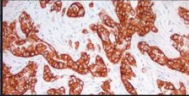
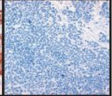


# C-erb-B2 / Her 2 neu: CISH



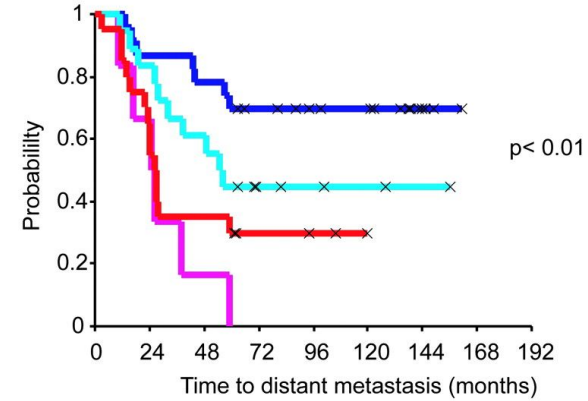


# Cáncer de Mama Clasificación Molecular aplicada a Inmunohistoquímica

Molecular Subtype	Luminal (A and B)		HER2	Basal
Genetic profile	↑ Luminal CKs and ER-related genes (A>B) B ↑ in proliferation-related genes		↑ HER2-related genes	↑ Basal CKs
Histologic correlates				
	A Lower-grade ER+	B Higher-grade ER+	High-grade, +/- apocrine features	High-grade, sheet-like, necrosis, inflammation *See exceptions
Surrogate markers				
	A Strong ER+, PR+/-, HER2-, low Ki67	B Weaker ER+, PR+/-, HER2+/-, ↑ Ki67	HER2+, +/- ER/PR	ER/PR- HER2-  CK5/6+/- EGFR+/-
Prognosis	Good	Intermediate	Worse	Worse
Response to chemotherapy	Lower	Intermediate	Higher	Higher
Targeted therapies	Hormone therapies		HER2-targeted therapies	Currently investigational

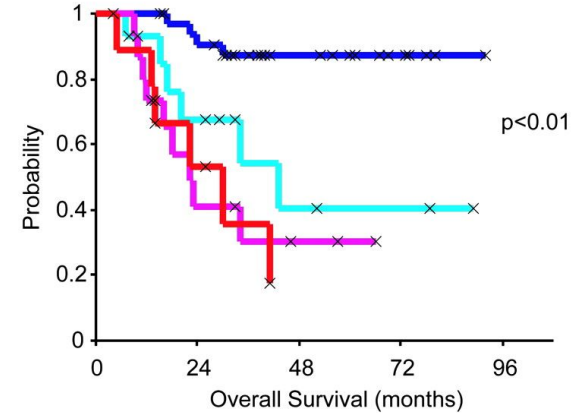
# Cáncer de Mama

A van't Veer data set

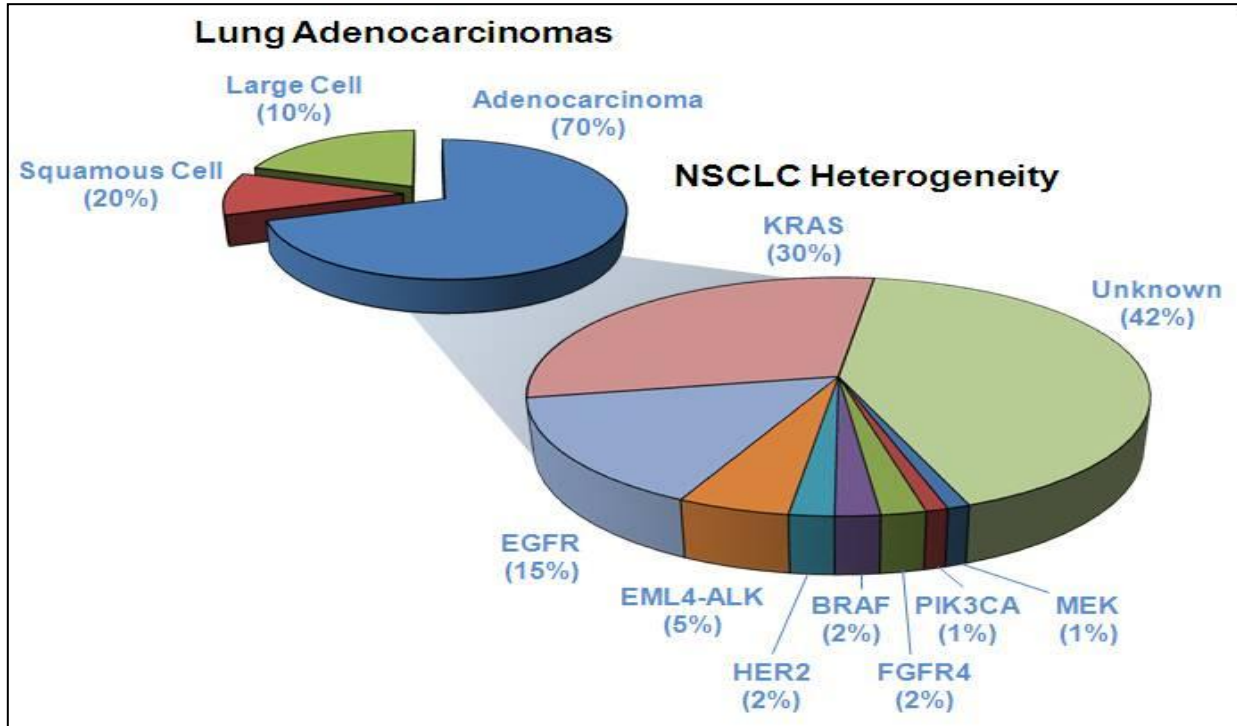


× Censored, ■ Luminal A, ■ Luminal B, ■ Basal, ■ ERBB2+

B Norway/Stanford data set

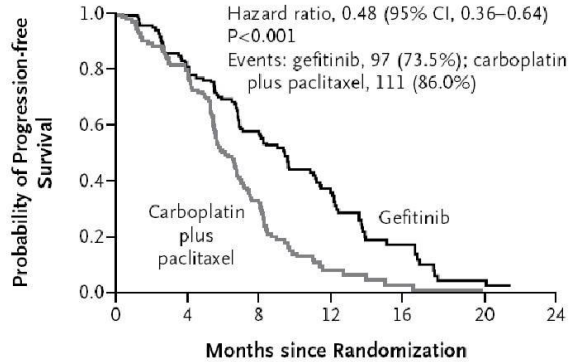


# Molecular Subtyping: Driver Mutations in NSCLC



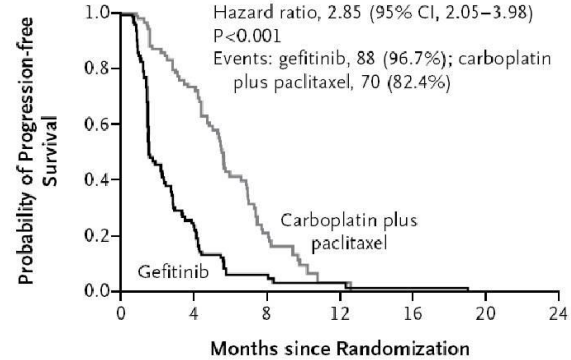
# SOBREVIDA LIBRE DE PROGRESIÓN Y GLOBAL ADENOCARCINOMA PULMONAR. IPASS-trial

## EGFR-Mutation-Positive



No. at Risk	0	4	8	12	16	20	24
Gefitinib	132	108	71	31	11	3	0
Carboplatin plus paclitaxel	129	103	37	7	2	1	0

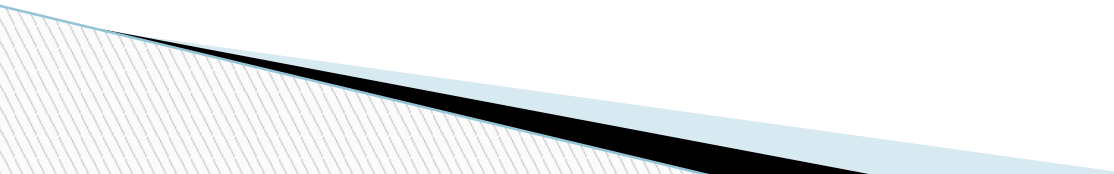
## EGFR-Mutation-Negative



No. at Risk	0	4	8	12	16	20	24
Gefitinib	91	21	4	2	1	0	0
Carboplatin plus paclitaxel	85	58	14	1	0	0	0



# Tipos de participación en investigación

- **Casos Clínicos.**
  - **Series de Tumores: Diagnóstico.**
  - **Series de tumores: Seguimiento y Pronóstico.**
  - **Series de tumores: Patología Molecular.**
  - **Control de calidad.**
  - **Biobanking.**
- 

# Microarrays de Tejido

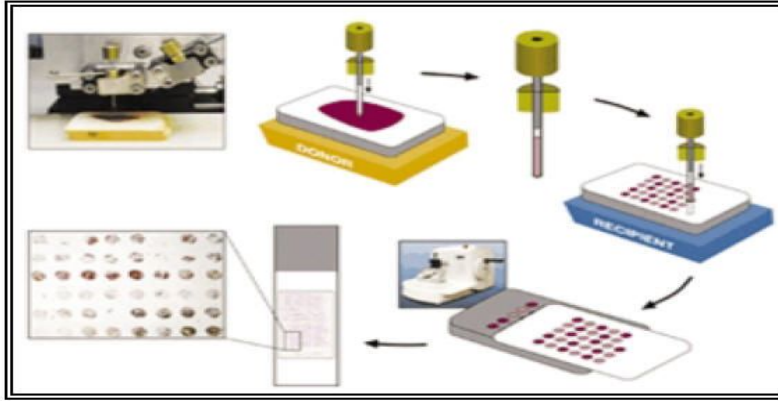
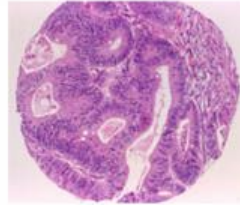


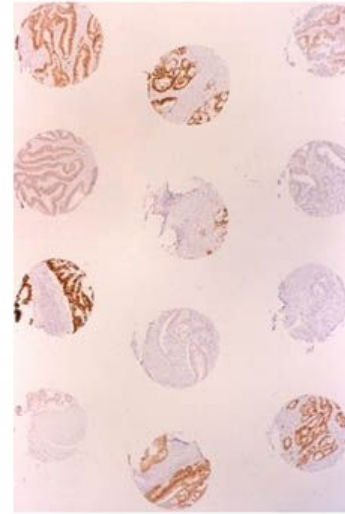
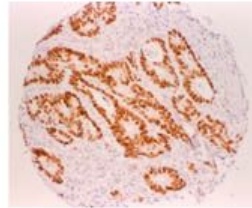
FIGURA 2. Representación de todo el proceso de creación de una laminilla de TMA.

TMA: CARCINOMA DE COLON

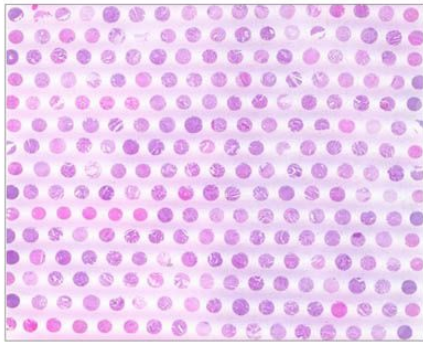


IHQ

p53



TMA: CARCINOMA DE COLON. H&E

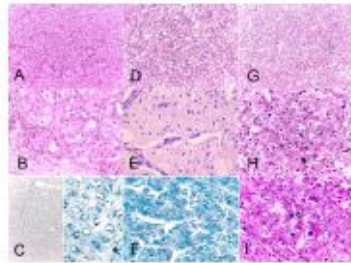


# Renal Oncocytoma and Chromophobe Renal Cell Carcinoma: Main Morphological Differences and Proposal of a Simple Histochemical and Immunohistochemical Panel to separate them

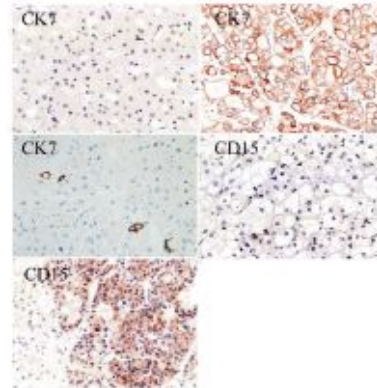
Gallegos Ivan\*, Carrasco Gonzalo, Fernandez Cristina, Castillo Octavio and Valdevenito Raul

Hospital Clinico, University Of Chile, Clinica Indisa, Chile

\*Corresponding author: Ivan Gallegos MD, Hospital Clinico, University Of Chile, Clinica Indisa, Chile, Tel: 56-2-9788641; E-mail: [igallegosmendez@gmail.com](mailto:igallegosmendez@gmail.com)

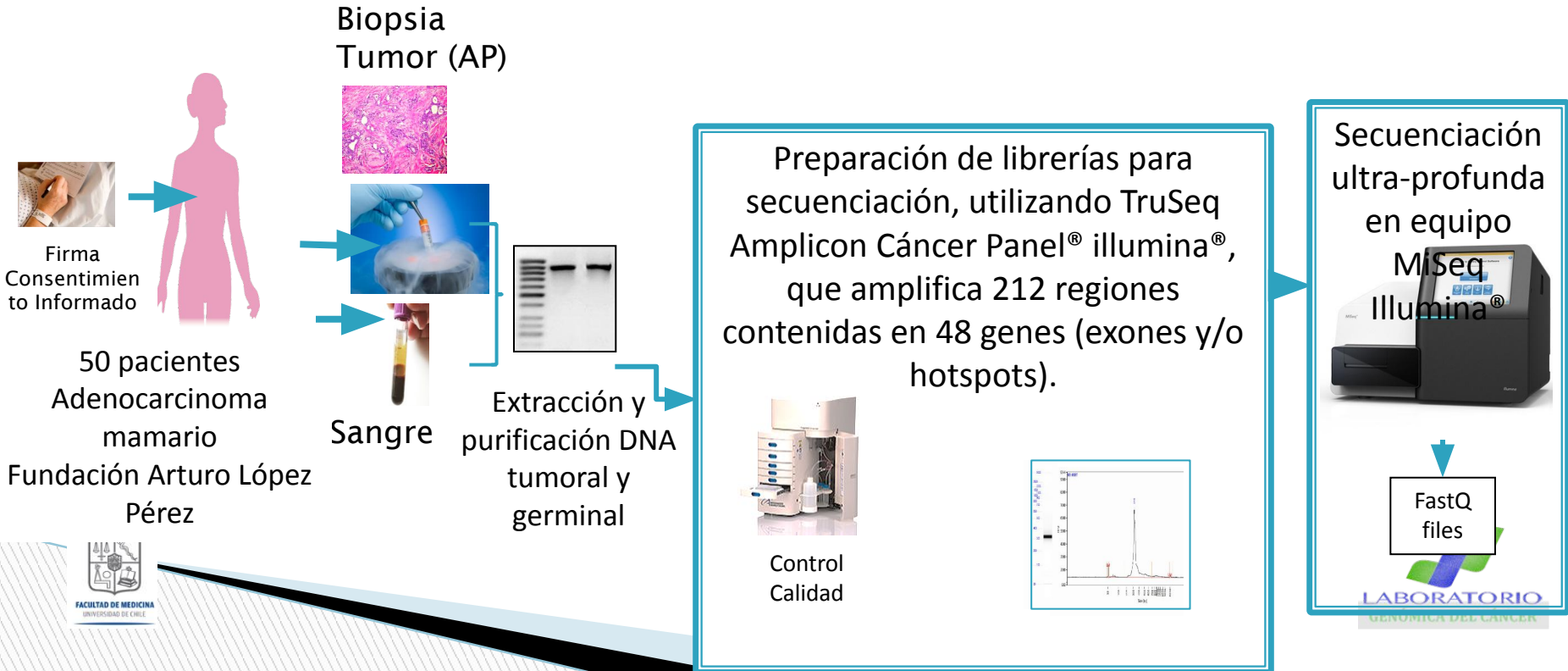


**Figure 1:** Renal Oncocytoma and Chromophobe Renal Cell Carcinoma. H&E low and high power views and Hale's colloidal iron stain. A: RO, low power view (HE, 10x); B: RO, note the rounded, cytological bland uniform nuclei (HE, 40x); C: RO, negative HCl with apical staining (HCl, 40x); D: ChRCC, low power view (HE, 2x); E: ChRCC, note some "raisinoid" nuclei with irregular contour (HE, 40x); F: ChRCC, intense and diffuse positivity for HCl (HCl, 40x)



**Figure 2:** Representative examples of positives and negatives immunostainings for CK7 and CD15 in renal oncocytomas (RO) and chromophobe renal cell carcinomas (ChRCC) (CK7-CD15, 40x).

# PROYECTO FONDEF D111029: "Incorporación de la secuenciación de última generación (NGS) en el cuidado del paciente con cáncer".



# RESULTADOS TUMORSEC

Mutaciones encontradas con posible asociación terapéutica.

## DESCRIPCIÓN

### TERAPIAS ASOCIADAS A BIOMARCADOR(ES)

GEN	MUTACION	Cambio en cDNA	Frecuencia Alélica	Efecto
ARID1A	p.G1515C	c.4540A>C	0.08	Predicha driver
BRAF	p.V600E	c.1799T>A	0.06	Driver conocida

Gen	Mutación	Terapias	Predicción	Nivel de evidencia	Tipo tumoral asociado a la evidencia
BRAF	V600E	Vemurafenib		A	Melanoma, Erdheim-Chester Disease, Hairy cell leukemia,
BRAF	V600E	Trametinib		A	Melanoma
BRAF	V600E	Drabafenib		A	Melanoma
BRAF	V600E	Dabrafenib+Trametinib		A	Melanoma, NSCLC, Ganglioglioma, xantastrocitoma pleomórfico, astrocytoma pilocítico, glioma encapsulado, glioma difuso.

En la muestra analizada se encontraron mutaciones en los genes ARID1A (G1515C) y BRAF (V600E).

**ARID1A:** Las mutaciones encontradas se asocian a una mayor sensibilidad a inhibidores de EZH2, PD1, PARP y ATR. Todos los antecedentes son derivados de estudios preclínicos en cáncer de ovario y otros tumores sólidos. A la fecha, no hay evidencia clínica (nivel A o B) que sustente la validez de este biomarcador.

**BRAF:** Existe evidencia clínica de que la mutación V600E se asocia a una respuesta positiva a inhibidores de BRAF (Vemurafenib, Drabafenib) y/o inhibidores de MEK (Cobimetinib, Trametinib) en melanoma, cáncer de tiroides, cáncer colorrectal, cáncer pulmonar de células no pequeñas, glioma difuso, glioma encapsulado, ganglioglioma, entre otros.

La siguiente Tabla resume los principales antecedentes relacionados con las mutaciones encontradas y las asociaciones terapéuticas con evidencia clínica.

# Born the University of Chile Biobank



## Universidad de Chile inauguró Biobanco de tejidos

PUBLICADO : 25 Septiembre 2013



Gracias a un esfuerzo conjunto entre la Facultad de Medicina de Universidad de Chile y el Hospital Clínico, el Centro de Investigación y Tratamiento del Cáncer de dicha Universidad (CITC) inauguró el Biobanco de Tejidos.

El objetivo de esta nueva unidad es contar con una plataforma para la investigación, que posibilite el almacenamiento de muestras de tejidos humanos y su información asociada, de manera de generar estudios sobre diversas patologías, en especial de las oncológicas. Según explica el doctor Gonzalo Fernández, director del Biobanco de Tejidos, "esta unidad nos permitirá almacenar de manera segura muestras biológicas de pacientes, con las cuales podremos realizar estudios biológico-moleculares para avanzar en la comprensión y tratamiento de enfermedades y otras condiciones que afectan a las personas".

Lunes, 10 de Diciembre de 2012 00:00

Con el apoyo de proyecto U-Redes

Facultad de Medicina de la U. de Chile inauguró Biobanco de Tejidos

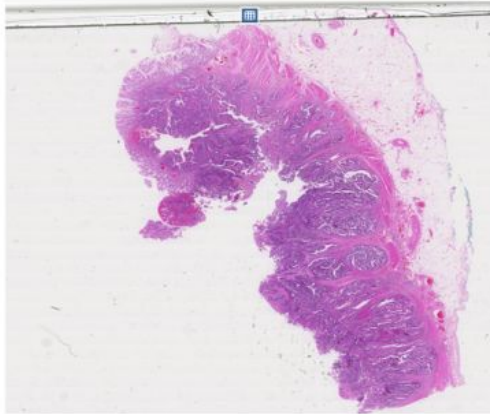


Doctores Miguel O'Ryan, Carlo Paolinelli, Gustavo Stefanoff, Tuomas Mirtti, Tiina Vesterinen y Osvaldo Llanos, subdirector médico de HCUCh.

In december of 2012 is opened the University of Chile BioBank by a joint effort of the Center for research and treatment of Cancer, Faculty of Medicine and Clinical Hospital of University of Chile.

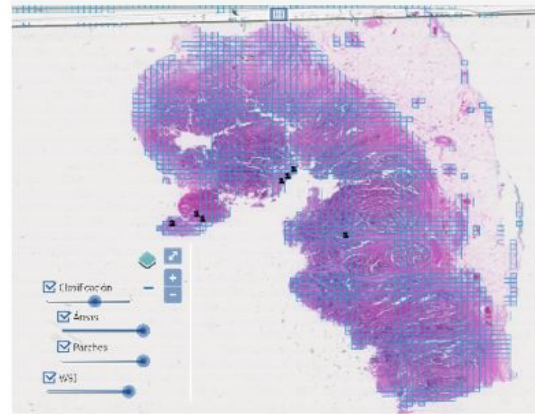
# PATOLOGÍA DIGITAL, IA, DEEP LEARNING

WSI de Tejido



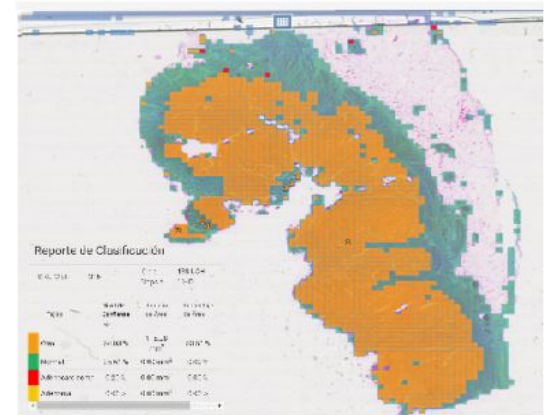
Whole Slide Image WSI

WSI de Tejido con Parches



Parches

WSI con Mapa de Clasificación



# The Future of Anatomical Pathology

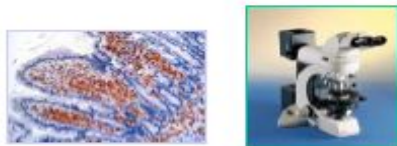
From Glass



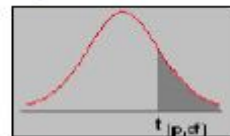
To Digital



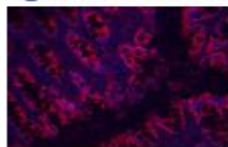
From Quasi-quantitative



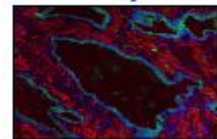
To Dynamic Range



From Single Biomarker



To Multiplexing



From Dx



To enabling Rx





# **SUMARIO ROL DE ANATOMÍA PATOLÓGICA**

- ▣ DIAGNÓSTICO**
  - ▣ ETAPIFICACIÓN**
  - ▣ DEFINIR TRATAMIENTO**
  - ▣ DEFINIR PRONÓSTICO**
  - ▣ COOPERACIÓN CON ESTUDIOS CIENTÍFICOS**
  - ▣ MEDICINA TRASLACIONAL**
- 