

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



PD-L1: EXPRESIÓN Y AMPLIFICACIÓN EN
CARCINOMA DE CÉLULAS NO PEQUEÑAS DE
PULMÓN.

POR:

DRA. VALERIA CABALLERO MALACARA

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA Y
CITOPATOLOGÍA

DICIEMBRE 2022.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

HOSPITAL UNIVERSITARIO
“DR. JOSÉ ELEUTERIO GONZÁLEZ”

SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA



PD-L1: EXPRESIÓN Y AMPLIFICACIÓN EN CARCINOMA DE
CÉLULAS NO PEQUEÑAS DE PULMÓN.

PRESENTA:

DRA. VALERIA CABALLERO MALACARA

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN
ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA

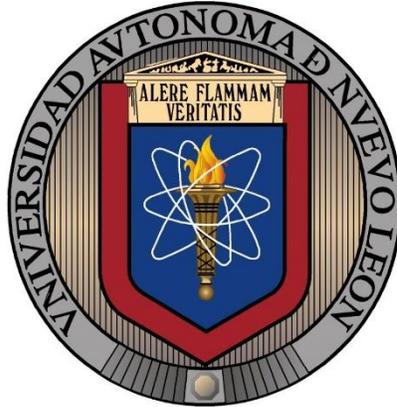
DIRECTORA: DRA. NATALIA VILCHES CISNEROS.

CO DIRECTORES: DR. MED. LUIS ÁNGEL CECEÑAS FALCÓN.
DR. RODOLFO FRANCO MARQUEZ.

MONTERREY, N.L., MÉXICO

DICIEMBRE 2022.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN.



PD-L1: EXPRESIÓN Y AMPLIFICACIÓN EN CARCINOMA DE
CÉLULAS NO PEQUEÑAS DE PULMÓN.

TESIS

DRA. VALERIA CABALLERO MALACARA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA.

DICIEMBRE 2022

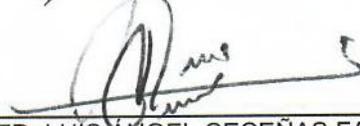
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
HOSPITAL UNIVERSITARIO
"DR. JOSÉ ELEUTERIO GONZÁLEZ"
SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA.

PD-L1: EXPRESIÓN Y AMPLIFICACIÓN EN CARCINOMA DE CÉLULAS NO
PEQUEÑAS DE PULMÓN.

APROBACIÓN DE TESIS.



DRA. NATALIA VILCHES CISNEROS
DIRECTORA DE TESIS.



DR. MED. LUIS ÁNGEL CECEÑAS FALCÓN.
CO DIRECTOR DE TESIS.



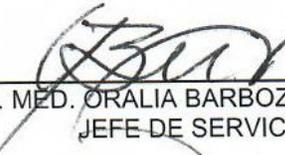
DR. RODOLFO FRANCO MARQUEZ
CO DIRECTOR DE TESIS.



DRA. NATALIA VILCHES CISNEROS.
COORDINADOR DE ENSEÑANZA.



DR. MED JUAN PABLO FLORES GUTIERREZ
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN



DRA. MED. ORALIA BARBOZA QUINTANA
JEFE DE SERVICIO



DR. MED. FELIPE ARTURO MORALES MARTÍNEZ.
SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS DE POSGRADO.

PD-L1: EXPRESIÓN Y AMPLIFICACIÓN EN CARCINOMA DE
CÉLULAS NO PEQUEÑAS DE PULMÓN.

PRESENTADO POR:

DRA. VALERIA CABALLERO MALACARA

Este trabajo se realizó en el **Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología** del **Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”** bajo la dirección de la Dra. Natalia Vilches Cisneros y la co dirección del Dr. Med. Luis Ángel Ceceñas Falcón y Dr. Rodolfo Franco Marquez.



Dra. Med. Oralia Barboza Quintana.
Jefe del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología.

Diciembre 2022.

AGRADECIMIENTOS.

A mis padres, quienes me han enseñado que con dedicación y esfuerzo todo se logra y a ser perseverante aún en la adversidad; que junto con mis hermanos han sido el mayor apoyo durante mi residencia; con ellos todo y sin ellos nada.

A mis compañeros residentes gracias por cada enseñanza, por cada día bueno y malo, por las risas y por los regaños, cada uno ha dejado una huella en mí, Mauricio, Melissa, Daniel, Itzel, Daynna, Max, Edwards, Adriana, Ary, Odilón, Rosario, Antonio, Héctor, Mau, Verónica, Mario, Hayde, en especial a Gaby quien fue más que mi compañera, mi amiga y un apoyo incondicional desde el primer año.

A todos mis maestros, en especial a mi directora de tesis, Doctora Natalia, por siempre estar al pendiente de este trabajo, orientarme y enseñarme los diferentes procesos, por no darse por vencida a pesar de los obstáculos, además de siempre tener palabras de aliento y consejos cuando se presentaban situaciones difíciles. A la Dra. Oralia por abrirme las puertas de este servicio, a la Dra. Raquel y al Dr. Marco por su confianza, al Dr. Álvaro por sus enseñanzas, al Dr. Juan Pablo por su constancia hacia mí, al Dr. Ceceñas por su dedicación, al Dr. Rodolfo por sus consejos, a la Dra. Sofía y a la Dra. Barbara por ayudarme en los momentos de duda; a todos en general, quienes nunca se rindieron en mi enseñanza, compartieron sus conocimientos y experiencia desde el primer día.

A todo el personal técnico y administrativo por la ayuda brindada.

TABLA DE CONTENIDOS.

AGRADECIMIENTOS.....	6
INTRODUCCIÓN.....	8
MARCO TEORICO.....	10
ANTECEDENTES DIRECTOS.....	10
MARCADOR DE INMUNOHISTOQUÍMICA DE PD-L1.....	12
TRATAMIENTO CON ANTI PD-L1 Y ANTI PD-1.....	13
HIBRIDACIÓN IN SITU FLUORESCENTE (FISH).....	15
EPIDEMIOLOGÍA	16
CLASIFICACIÓN.....	17
TRATAMIENTO.....	19
ESTUDIOS MOLECULARES Y TERAPIA BLANCO.....	20
JUSTIFICACIÓN.....	22
OBJETIVOS.....	23
HIPOTESIS.....	24
MATERIALES Y METODOS.....	25
DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO.....	27
PLAN DE ANALISIS ESTADÍSTICO.....	29
CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	30
RESULTADOS.....	31
EXPRESIÓN DE PD-L1.....	31
RESULTADOS DEL FISH.....	34
RESULTADOS DE OTROS BIOMARCADORES.....	36
HALLAZGOS ADICIONALES.....	38
ANALISIS ESTADÍSTICO.....	39
DISCUSIÓN.....	40
CONCLUSIONES.....	42
BIBLIOGRAFÍA.....	44

INTRODUCCIÓN.

El cáncer de pulmón actualmente y a pesar de los avances, es la primera causa de muerte secundaria a cáncer a nivel mundial, mientras que en México se encuentra en el quinto lugar, según GLOBOCAN en 2020; aunque se han dado a conocer los principales factores de riesgo, como lo es el tabaco, del cual se calcula que cerca del 90% se desarrollan debido al mismo. ¹

Actualmente el cáncer de pulmón se divide en: carcinoma de células pequeñas y en carcinoma de células no pequeñas, dentro de este último, se incluyen los tipos histológicos de adenocarcinoma y sus variantes, carcinoma escamoso y el carcinoma de células grandes, así como otros subtipos de menor frecuencia como los tumores de tipo glándula salival o el carcinoma sarcomatoide. Se han dividido de esta manera debido a la histología, al pronóstico, así como a la terapia de estos. ²

Debido a los avances en las pruebas moleculares se han identificado diversas alteraciones o mutaciones en el grupo de los carcinomas de células no pequeñas, dentro de las cuales se encuentran EGFR, ALK, ROS1, PD-L1, BRAF, NTRK, entre otros, con lo cual se ha podido ofrecer terapia blanco a los pacientes.

Dentro de las terapias dirigidas resalta la inmunoterapia o la terapia anti-PDL1, debido a la gran variabilidad en la respuesta al tratamiento de los pacientes. Lo cual se ha relacionado a la heterogeneidad tumoral, lo cual se ve reflejado en el marcador de inmunohistoquímica para PD-L1, el cual se utiliza para definir los pacientes candidatos al tratamiento, además se cuentan con varias clonas del marcador y escalas para cada uno de ellos, de las cuales no todas han sido validadas.

Aquí recae la importancia de contar con un estudio que nos ayude a identificar con certeza a los pacientes que se pueden beneficiar de recibir la inmunoterapia, sin

tener este problema de la heterogeneidad, ya que la gran mayoría del material que se cuenta para estudios moleculares son biopsias pequeñas, por lo que un estudio que con la menor cantidad de tejido y sin ser afectado por esta heterogeneidad, sería idóneo.

Se ha reportado que la amplificación del gen PD-L1 por FISH es constante en todo el tumor, por lo que sin importar lo pequeña de la muestra o el sitio de la biopsia, el resultado sería el mismo, con lo cual algunos autores lo proponen como complemento del marcador de inmunohistoquímica, además hay reportes donde se ha visto que la respuesta a la inmunoterapia se asocia a la amplificación del gen.

No hay estudios donde se compare la amplificación del gen con la expresión del marcador de inmunohistoquímica, esto para saber si la amplificación está relacionado a la expresión y posteriormente verificar si la misma amplificación del gen se relaciona a la respuesta a la inmunoterapia.

La importancia de recibir inmunoterapia se ve reflejada en la supervivencia de los pacientes, ya que esta es mayor que en aquellos que solo reciben quimioterapia convencional.

MARCO TEÓRICO.

El sistema inmune juega un rol importante en la monitorización y destrucción de las células neoplásicas, aunque puede ser evadida por las células tumorales y desarrollar tolerancia por medio de la regulación de los puntos inmunes; estos puntos inmunes, su función normal es la de proteger el tejido sano de infecciones, respuestas inmunes citotóxicas, aunque las células neoplásicas pueden tomar ventaja de estos mismos puntos para prevenir su destrucción.³

Uno de los mediadores de estos puntos es el PD-1, el cual se expresa en células T, linfocitos B y células NK; su ligando PD-L1 se expresa en linfocitos T, células epiteliales y endoteliales y células tumorales; la interacción entre PD-1 y su ligando PD-L1 juega un rol fundamental en el papel de regular el sistema inmune en respuesta a antígenos extraños. Las células cancerígenas pueden expresar PD-L1, por lo tanto, activan la señalización PD-1/PD-L1, permitiendo así evadir el reconocimiento inmune y lograr su sobrevivencia⁴. Para el cáncer de células no pequeñas de pulmón, la evidencia sugiere que la respuesta a inhibidores de PD-1 como el pembrolizumab y nivolumab o para los anticuerpos anti-PD-L1 como atezolizumab y durvalumab, se puede predecir por la expresión de PD-L1 en las células tumorales o en las células inmunes que infiltran el tumor.⁵

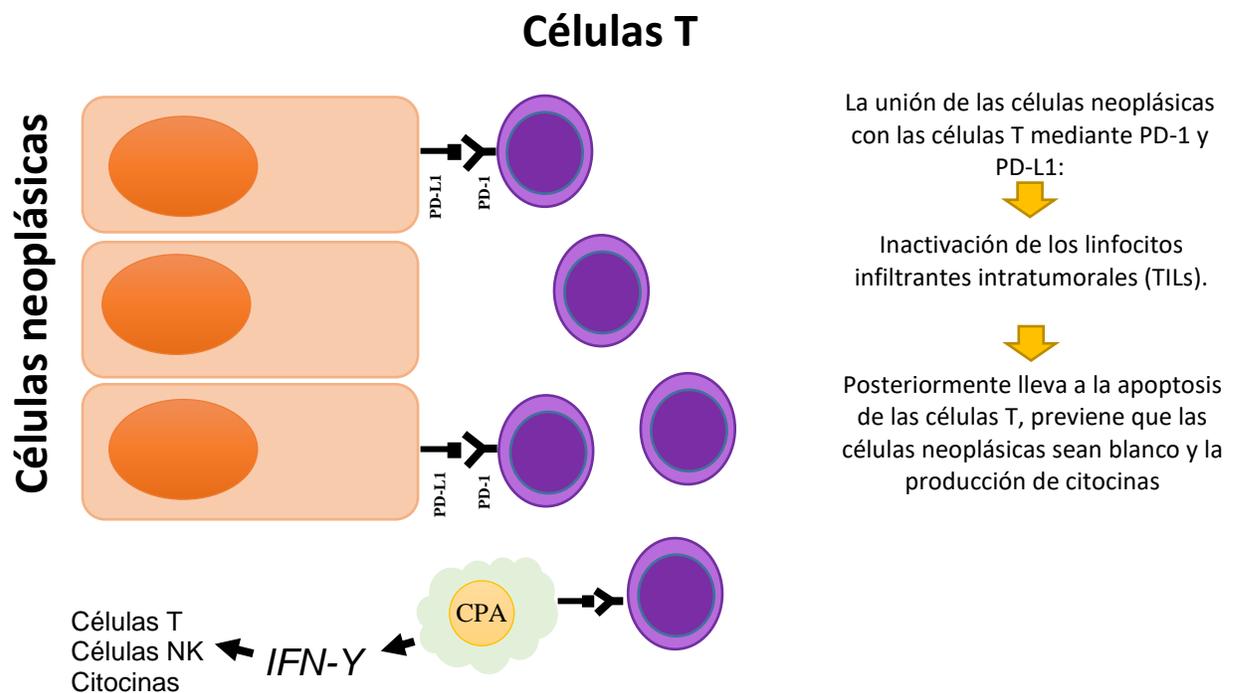
Antecedentes Directos:

El microambiente tumoral se caracteriza por la presencia de abundantes células inmunes, incluyendo macrófagos y linfocitos T, los cuales si están activados van a producir citocinas, interleucinas y factores de crecimiento. La función anti tumor que llevan a cabo estas células puede verse comprometido por la unión de algunos receptores de superficie, los cuales son llamados puntos inmunes, con ligandos específicos localizados en las células tumorales.

Este mecanismo es usado por las células tumorales, lo cual lleva a la inactivación de los linfocitos infiltrantes del tumor (TILs) logrando así la sobrevivencia del tumor;

por lo que la actividad de las células T puede verse inhibida por la interacción del receptor de muerte programada (PD-1), el cual es un punto inmune expresado en su mayoría en la superficie de las células T activadas, con sus ligandos específicos PD-L1 y PD-L2, expresados en las células tumorales (Esquema 1).⁶

Esta acción bloquea la activación de las células T, llevando así a la apoptosis de las mismas y previniendo hacer blanco a las células tumorales, así como la producción de citocinas.



Esquema 1. Interacción de células neoplásicas con las células T por medio de PD-1 y su ligando PD-L1. Abreviaciones: CPA (Célula Presentadora de Antígeno, IFN-γ (Interferón Gama).

La actividad de las células T antitumorales puede ser restablecida bloqueando los puntos inmunes usando anticuerpos anti-PD-1 y anti-PD-L1. Recientemente se ha demostrado que los niveles de expresión de PD-L1 en los tumores, siguiendo criterios, se puede predecir la respuesta a inmunoterapia. La proporción de tumor es el porcentaje de células tumorales viables que muestran una tinción en la membrana de manera completa o parcial, en cualquier intensidad.⁷

La inmunohistoquímica es ampliamente usada y es el único biomarcador autorizado para el uso de inhibidores PD-1/PD-L1 pero no siendo el más consistente o el mejor predictor de respuesta. Existen algunos problemas con el uso de la inmunohistoquímica para PD-L1; como por ejemplo, hay múltiples anticuerpos por inmunohistoquímica como las clonas 28-8, 22C3 y SP263, además de los métodos de evaluación para la expresión de PD-L1 que involucra los rangos de positividad así como las células que se tomaran en cuenta (ya sea células inmunes o tumorales); en diversos estudios se ha visto que la inmunohistoquímica no identifica de manera satisfactoria a todos los pacientes que responderán a la inmunoterapia, por último, uno de los factores más importantes es la heterogeneidad en la expresión de PD-L1 en los tumores.

Debido a que la expresión de PD-L1 es inducida por IFN γ en una respuesta adaptativa inmune, la heterogeneidad en la expresión de PD-L1 es un problema crítico e inevitable, especialmente cuando se utiliza en especímenes pequeños, ya que a menor cantidad de células y está marcada heterogeneidad, podemos tener una menor probabilidad de que tenga expresión del marcador.

MARCADOR DE INMUNOHISTOQUÍMICA DE PD-L1

La expresión de PD-L1 como ya se menciona puede ser heterogénea entre los tumores, en algunos estudios se ha comparado la expresión entre los sitios primarios y los metastásicos, demostrando una discrepancia significativa en su expresión; también el valor predictivo depende del subtipo histológico, es más relevante en el adenocarcinoma que en el espinocelular.³

En pacientes con cáncer de células no pequeñas con una alta expresión de PD-L1, siendo que aquellos con expresión mayor al 50%, son candidatos a terapia con primera línea, estos pacientes muestran una mejor respuesta a inmunoterapia así como una supervivencia mayor comparado con la quimioterapia convencional.⁶;

mientras aquellos que presenten una expresión de más del 1% para tratamiento como segunda línea.

A pesar de que la expresión de PD-L1 en la superficie de las células tumorales mediante inmunohistoquímica se mantiene como el método recomendado y el estándar para predecir la respuesta a inmunoterapia; pero se demostró que es todo menos un predictor de respuesta perfecto; ya que no todos los pacientes que presentan una expresión alta de PD-L1 responden a terapia o demuestran un beneficio clínico durable, aunque algunos pacientes que tienen tumores sin o baja expresión se beneficiaban de ella. ³

TRATAMIENTO CON ANTI PD-L1 Y ANTI PD-1

Los medicamentos disponibles para inmunoterapia son: nivolumab, pembrolizumab y cemiplimab-rwlc los cuales inhiben PD-1; atezolizumab y durvalumab los cuales inhiben PD-L1; aunque actualmente el pembrolizumab es el único autorizado por la FDA.

Se recomienda hacer la prueba para PD-L1 antes de iniciar tratamiento a todos los pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas metastásico; para terapia de primera línea en pacientes con igual o más del 50% de expresión de PD-L1 puede ser tratado con pembrolizumab solo o en combinación con quimioterapia basada en platinos, mientras que en pacientes con menos del 50% de expresión y negativo para el resto de las variantes moleculares, la opción es pembrolizumab en combinación con quimioterapia basada en platinos. Posteriormente como terapia subsecuente en pacientes con más del 1% de expresión también se puede utilizar nivolumab o atezolizumab. ⁸

En estudios clínicos randomizados internacionales como el KEYNOTE-024 y el KEYNOTE -042 en los cuales se evaluaron pacientes con TPS $\geq 50\%$ y $\geq 1\%$ respectivamente, en pacientes no previamente tratados con diagnóstico de

carcinoma de células no pequeñas metastásico sin sensibilidad a alteraciones EGFR/ALK, en los cuales se evidenció que el tratamiento con pembrolizumab mejoró la supervivencia sobre la quimioterapia en aquellos pacientes con expresión $\geq 50\%$, $\geq 20\%$ y $\geq 1\%$, además de una respuesta duradera (>15 meses), mejor tolerancia que la quimioterapia y al completar un esquema de 35 ciclos o de 2 años presentan una supervivencia del 91%.⁹

En pacientes que presentan expresión de $\geq 1\%$ de PD-L1 pero que además tienen alteraciones de oncogenes de terapia blanco, se prefiere darles tratamiento de primera línea para estos últimos, ya que presentan mayores índices de respuesta en comparación con la inmunoterapia, además de ser mejor tolerados.

Para poder calcular el porcentaje de células tumorales positivas para el marcador de PD-L1, se utiliza la fórmula de la Escala de Proporción Tumoral por sus siglas en inglés TPS, que consiste en contar el porcentaje de células tumorales marcadas y dividir por el total de células tumorales, después multiplicarlo por 100, se resume de la siguiente manera:

$$\text{TPS(\%)} = \frac{\text{\# de células tumorales PD-L1 positivas}}{\text{Total de células tumorales viables}} \times 100.$$

Una célula positiva para el marcador de PD-L1 debe presentar al menos una tinción membranosa de manera parcial; dentro del total de células tumorales, hay que descartar las células necróticas o las no tumorales.¹⁰

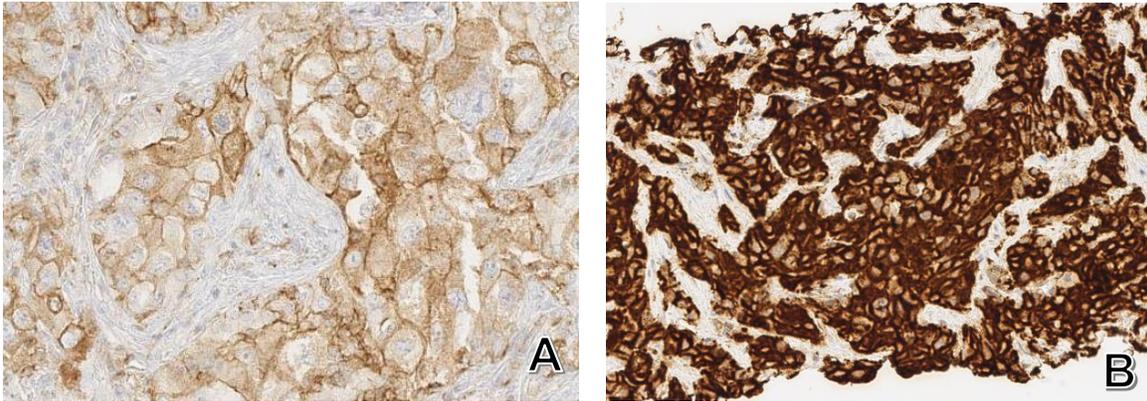


Imagen 1 A, B. Inmunohistoquímica para PD-L1, con tinción membranosa en las células

Debido a que actualmente la decisión para el uso de inmunoterapia en el tratamiento de pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas está en parte dependiente al estado de expresión de PD-L1, lo que hace más relevante el problema y que necesita más atención.

Hibridación In Situ Fluorescente (FISH).

El FISH o hibridación in situ, es una técnica que detecta secuencias de ácidos nucleicos en células o tejidos preservados mediante el empleo de una sonda que se dirige hacia un sitio en específico del cromosoma. ¹¹

El FISH es una técnica con menor consumo de tiempo en comparación a otros métodos citogenéticos, al usar esta técnica se pueden identificar anomalías genéticas específicas, como lo son las microdeleciones, amplificaciones y translocaciones, las cuales pueden ser fácilmente detectadas. ¹²

Esta técnica se ha convertido en el gold standard para detectar o monitorizar terapias específicas con respecto a las anomalías genéticas, ya que puede reconocer translocaciones, inserciones, deleciones y amplificaciones; un ejemplo

de su uso es para detectar la translocación BCR/ALB1 en la leucemia mieloide crónica o el rearreglo de ALK y ROS1 en los adenocarcinomas de pulmón.^{13 12}

Un incremento en el número de copias es un cambio que resulta debido a la ganancia de una fracción de una región de ADN, lo cual lleva a un incremento en la expresión; en ocasiones esto se relaciona con la carcinogénesis o con la progresión tumoral.¹⁴

Por lo que, con el FISH, debido a que es un estudio donde se analiza de manera directa el ADN, presenta una mayor confiabilidad que los marcadores de inmunohistoquímica, sin embargo, son pocos los estudios que han comparado el FISH con la inmunohistoquímica. En el estudio de *Yoshimura, et al*¹⁵, se observó que la amplificación del gen se veía de manera constante sin importar el tamaño de la muestra o el sitio de donde se tomara la biopsia; lo cual ayudaría a resolver el problema de la heterogeneidad que observar con el marcador de inmunohistoquímica, además con el FISH podríamos obtener un resultado certero con tamaño de biopsias pequeñas.

Una de las desventajas de realizar FISH es el alto costo del equipo, así como la necesidad de un técnico especializado para realizarlo y un patólogo capacitado, por lo que no es de fácil acceso.

EPIDEMIOLOGÍA.

El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte a nivel mundial secundaria a enfermedades neoplásicas; correspondiendo a nivel nacional la cuarta causa de muerte, siendo los hombres quienes presentan una mayor incidencia; las edades de riesgo o con mayor incidencia es en el grupo de edad de 50- 60 años; a nivel nacional los estados del norte del país los que presentan un mayor riesgo de mortalidad. Con una mortalidad de 7100 personas por año, los pacientes más afectados son los mayores de 70 años.

En México, hasta mediados de los 90 se identificó un incremento en la mortalidad por esta neoplasia, presentándose una disminución en la misma en las últimas 2 décadas, debido a que se ha resaltado que el principal factor de riesgo es el humo del tabaco, además de que se han tomado medidas para disminuir su consumo como el aumento en los impuestos, advertencias de sus peligros, prohibiciones sobre su publicidad, promoción, patrocinio, así como de los lugares para su consumo. Aunque el humo del tabaco es el principal factor, también hay otros descritos como las exposiciones laborales, contaminación del aire, como puede ser el humo de leña o al exterior con el material particulado.

Actualmente en nuestro país no hay programas para detección temprana en grupos de riesgo, a pesar de ser conocidos los factores de riesgo; En Estados Unidos se recomienda realizar anualmente una tomografía computarizada en pacientes de 55-80 años se ha observado una disminución en el número de casos, ya se ha por la implementación de estas medidas o por la accesibilidad a los servicios de salud; otro factor importante para alta tasa de mortalidad radica que entre el 98-99% de los pacientes son diagnosticados en estadios avanzados. 1

CLASIFICACIÓN.

Desde la cuarta edición del libro de la OMS en el 2015 hasta en su última actualización, divide el cáncer de pulmón en dos grupos debido a su biología, pronóstico y terapia: como carcinoma de células pequeñas de pulmón y carcinoma de células no pequeñas de pulmón; en el cual en este último constituye casi el 80% de los cáncer de pulmón; en este mismo se incluyen 2 tipos: el no escamoso (adenocarcinoma, carcinoma de células grandes y otros subtipos) y el carcinoma espinoelular ¹⁵, esta clasificación permanece igual en la última versión.

El adenocarcinoma se define como un tumor maligno epitelial con diferenciación glandular, producción de mucina o con expresión de marcadores de neumocitos; este corresponde aproximadamente al 40% de los casos de cáncer de pulmón;

puede presentar un patrón de crecimiento acinar, papilar, micropapilar, leipídico o sólido, se clasifica según el patrón de acuerdo con cuál es el que predomina. Este tiende a tener una diseminación a través de la vía linfática o hematógena, usualmente encontramos metástasis en hígado, hueso, cerebro y glándulas adrenales, además de que la pleura es otra ruta de metástasis. La localización más común es la periferia.

El carcinoma espinocelular es un tumor epitelial maligno que presenta queratinización y/o puentes intercelulares, o es morfológicamente un carcinoma indiferenciado no de células pequeñas que expresan marcadores de diferenciación escamosa. Corresponde al 25-30% de los casos de cáncer de pulmón. Tiende a tener un comportamiento agresivo, involucrando estructuras adyacentes mediante invasión directa; su localización más común es en el bronquio principal o lobar.

El uso de inmunohistoquímica incrementa la precisión del diagnóstico para que así de esta manera se pueda evitar de lo más posible usar el diagnóstico de carcinoma de células no pequeñas, de tipo no específico, se recomienda que solo sea en aquellos casos en los que un diagnóstico específico no pueda ser posible por morfología o por marcadores de inmunohistoquímica.

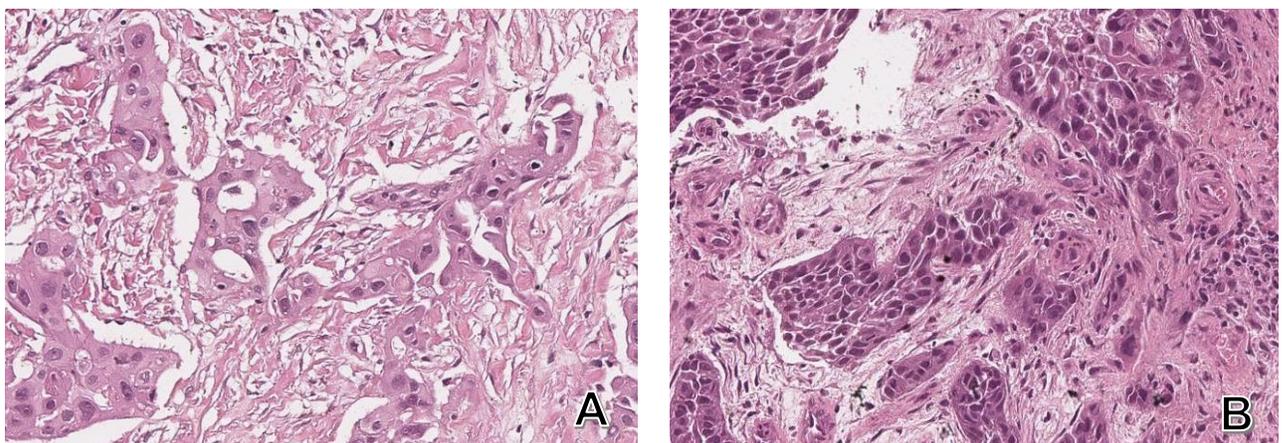
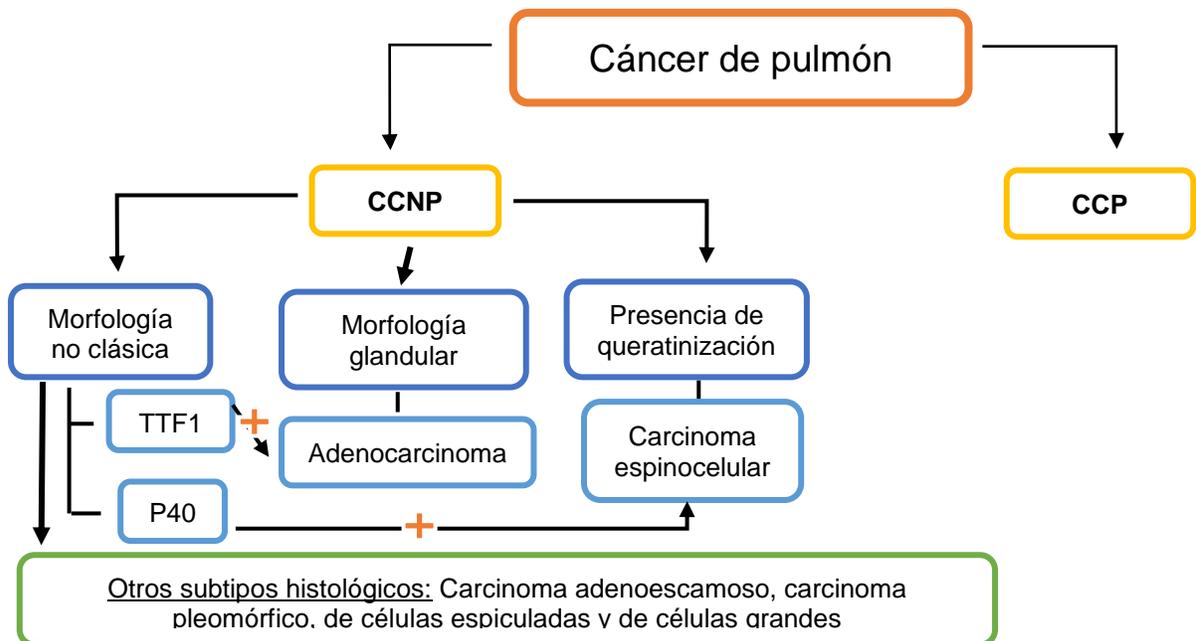


Imagen 2. Corte histológico de un adenocarcinoma de pulmón (A), en el cual se observa proliferación de glándulas en un estroma desmoplásico; y un carcinoma espinocelular (B) en el cual observamos nidos de células con núcleos hiper cromáticos en un estroma desmoplásico.

Los marcadores que están aceptados para la identificación de la diferenciación son el TTF1 y Napsin A para adenocarcinoma, mientras que para el carcinoma espinocelular está el p40, el cual actualmente es el más específico y sensitivo, aunque también está el p63 y la CK5/6. ⁷

TRATAMIENTO

El tratamiento es dependiente del estadio, el cual depende del tamaño del tumor, el tamaño de la invasión, así como las estructuras que invade y de la presencia de ganglios linfáticos positivos para metástasis; En los estadios tempranos donde no presentan metástasis a ganglios linfáticos, son tumores pequeños y/o periféricos está indicada la cirugía con o sin adyuvancia dependiendo de las características del paciente. En estadios avanzados se requiere tratamiento sistémico, antes de la inmunoterapia y de la terapia blanco, el estándar era el uso de carboplatino, cisplatino, gemcitabina o taxanes. ¹⁶



Esquema 2. Algoritmo diagnóstico recomendado por la OMS, si la morfología glandular es franca se puede catalogar como adenocarcinoma y si presenta queratinización como un carcinoma espinocelular, en caso de que no presentar la morfología clásica o para corroborar, se recomienda realizar TTF1, si es positivo apoya el diagnóstico de adenocarcinoma, P40 positivo apoya el diagnóstico de carcinoma espinocelular.

Abreviaciones: CCNP (Carcinoma de Células No pequeñas), CCP (Carcinoma de Células Pequeñas).

ESTUDIOS MOLECULARES Y TERAPIA BLANCO.

Se han identificado numerosas alteraciones genéticas las cuales impactan en la selección de la terapia ya que actualmente existen terapias blanco para algunas de estas alteraciones, por lo que es importante que a las biopsias o especímenes quirúrgicos se realicen los estudios necesarios para saber si los pacientes son candidatos a terapias blanco; uno de los principales problemas para realizarlas, es la cantidad de material por lo que actualmente se pide optimizarlo, haciendo un grupo de marcadores de inmunohistoquímica pequeño, para que el resto pueda ser utilizado en estudios moleculares.

Las alteraciones genéticas juegan un rol muy importante, ya que estas son esenciales para la sobrevivencia de las células tumorales, al identificarlas en el tumor, el paciente puede recibir tratamiento dirigido a esta alteración, y así llevar a la inactivación de la misma y ocasionar la muerte de las células tumorales. Por lo que el nombre de terapia blanco se refiere a que el medicamento está dirigido especialmente a una mutación.

Un biomarcador predictivo es un indicador de la eficacia de un tratamiento; las pruebas moleculares de los biomarcadores que actualmente están aprobadas para selección de tratamiento en cáncer de pulmón de células no pequeñas son:

- EGFR: el cual se ha observado en el 15% de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma, teniendo una mayor prevalencia en pacientes asiáticos; esta alteración usualmente se observa en pacientes no fumadores o poco fumadores y con histología de adenocarcinoma.
- Mutaciones en BRAF V600E: es la mutación más frecuente de BRAF, se presenta en el 1-2% de los pacientes con adenocarcinoma de pulmón, este se observa típicamente en pacientes fumadores.
- Rearreglos en el gen ALK: alrededor de un 5% de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma, aunque también se ha observado en

adenoescamoso, se observa generalmente en pacientes que no han fumado o tienen poca exposición al mismo.

- Rearreglos en ROS1: ocurren en alrededor del 1-2% de los pacientes, con mayor frecuencia en aquellos que son negativos para la mutación de EGFR, KRAS y fusiones en ALK, este se recomienda para pacientes con neoplasias no escamosas metastásicas.
- NTRK genes de fusión: ocurren en un 0.2% de los pacientes, y usualmente no se sobreponen con otras alteraciones genéticas.
- Mutaciones METex14: se presentan en el 3-4% de los adenocarcinomas y en una menor proporción en aquellos con morfología distinta, puede suceder como mutación, sustitución de bases y deleciones, lo cual dificulta evaluar todas las alteraciones; es más frecuente en mujeres de edad avanzada y no fumadoras.
- Rearreglos RET: ocurre en el 1-2% de los pacientes, con mayor frecuencia en aquellos con histología de adenocarcinoma; ocurre tanto en pacientes fumadores como en no fumadores.
- Mutaciones KRAS: se calcula que se presenta en un 25% de los pacientes con adenocarcinoma, siendo esta la alteración más frecuente. Su prevalencia se asocia al humo de cigarro.

Tipo no escamoso	Carcinoma espinocelular
• PD-L1 (IHQ), EGFR, ALK, ROS1, BRAF	• PD-L1 (IHQ)

Esquema 3. Biomarcadores recomendados para pacientes con carcinoma de células no pequeñas¹⁹. IHQ (Inmunohistoquímica)

JUSTIFICACIÓN.

Debido a que actualmente el uso de terapias dirigidas ha ido en aumento, es importante el tener un marcador o estudio que garantice que el paciente responderá al uso de ese medicamento, por lo que se quiere realizar en este estudio es comparar la positividad que presenta PD-L1 por inmunohistoquímica contra la amplificación que se obtendrá mediante el FISH, para poder saber si mediante el FISH podemos eliminar la heterogeneidad que se observa en la inmunohistoquímica, para posteriormente este pueda ser la base para comprobar si podría ser un estudio que nos asegure de una mejor manera la respuesta a los medicamentos anti-PD-L1

OBJETIVOS

Objetivo general:

Describir resultados de la amplificación mediante FISH y expresión del marcador de inmunohistoquímica, así como su correlación entre ambos, para poder identificar si aquellos que presentan una mayor expresión también presentan la amplificación y por ende los que sean negativos tampoco presenten amplificación.

Objetivos secundarios:

- Observar cuales subtipos de cáncer de células no pequeñas son los que presentan una mayor expresión de PD-L1.
- Describir si aquellos pacientes que presentan una mayor expresión de PD-L1 también presentan alguna otra mutación.

HIPÓTESIS

Existe correlación entre los resultados del marcador de inmunohistoquímica PD-L1 y su amplificación mediante FISH.

Hipótesis nula:

No existe correlación entre los resultados del marcador de inmunohistoquímica PD-L1 y su amplificación mediante FISH.

Hipótesis alterna:

La amplificación de PD-L1 está relacionada a un subtipo histológico.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Diseño metodológico del estudio:

Es un estudio observacional, descriptivo, transversal, retrospectivo.

Tipo de estudio:

Cohorte transversal

Población de Estudio:

A.- Criterios de inclusión:

- Pacientes femeninos o masculinos mayores de 18 años del Hospital Universitario que cuenten con diagnóstico de cáncer de pulmón de células no pequeñas a partir del año 2020, que cuenten con el marcador de inmunohistoquímica para PD-L1 así como material suficiente para realizar FISH, pero sin terminar con el mismo material.

B.- Criterios de exclusión:

- Pacientes sin material de estudio.
- Tejido insuficiente o mal preservado.

C.- Criterios de eliminación:

- Pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón de células pequeñas.
- Pacientes que no cuenten con el marcador de inmunohistoquímica PD-L1 ni material para realizar FISH.

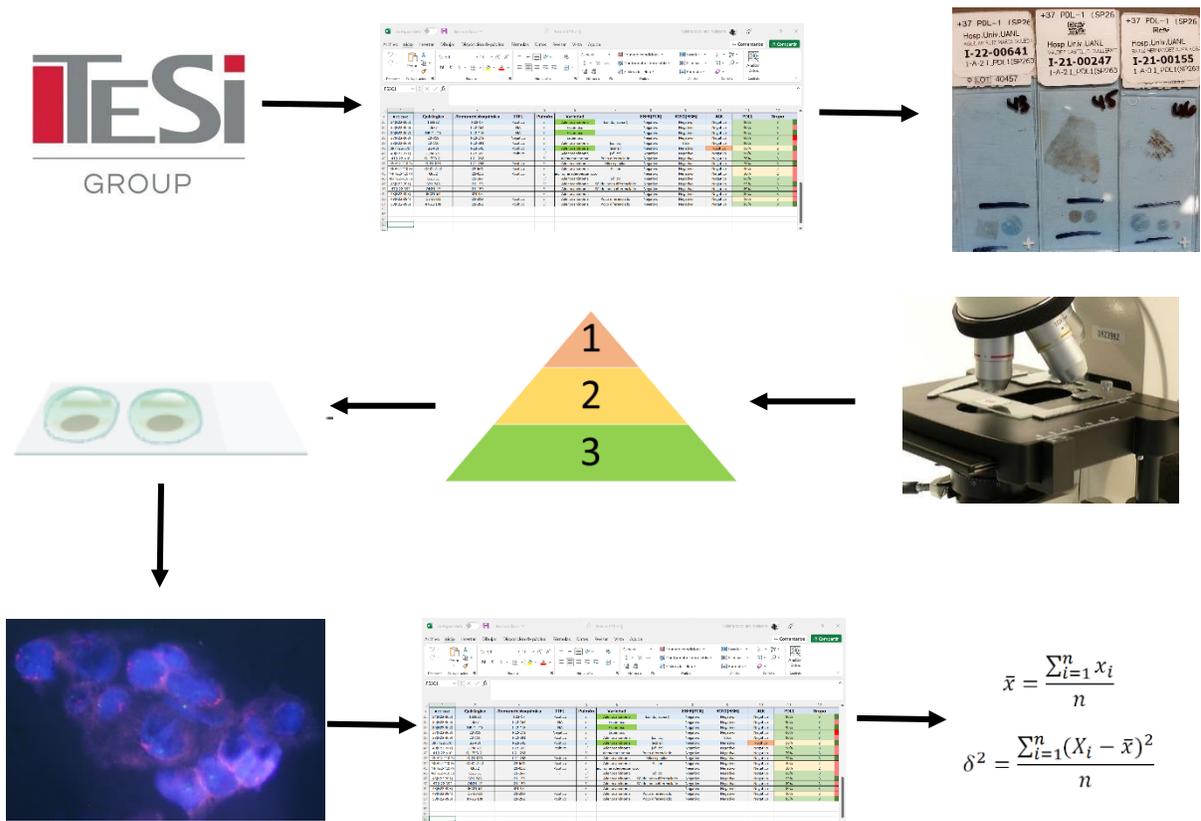
D.- Lugar de referencia y método de reclutamiento:

- Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”
- Pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón de células no pequeñas que se encuentren registrados en nuestro sistema, que cuenten con el marcador de inmunohistoquímica PD-L1, los cuales se encuentren ingresados en nuestro sistema a partir del año 2020.
- La privacidad de los pacientes se encuentra protegida ya que una vez que el tejido ingresa al departamento se asigna un número de folio con el cual serán manejadas las muestras en el estudio, no es necesario conocer la identidad de los sujetos.

DESCRIPCIÓN DEL DISEÑO

1. La búsqueda de pacientes se llevó a cabo mediante el sistema Tesi electrónica (Pathox) utilizando como criterios de búsqueda casos diagnosticados como cáncer de pulmón de células no pequeñas (carcinoma espinocelular, adenocarcinoma, carcinoma de células grandes) a partir del año 2020 que además cuenten con el marcador de inmunohistoquímica PD-L1. Posteriormente se creó una base de datos en Excel catalogando a las pacientes con el número de Inmunohistoquímica, tipo de espécimen (biopsia, resección o citología diversa), diagnóstico histológico basado en la clasificación de la OMS quinta edición, además de agregar el resultado de biomarcadores como EGFR, ALK y ROS1, en aquellos pacientes que cuenten con los mismos.
2. Evaluar el marcador de inmunohistoquímica PD-L1, valorando las células tumorales que presenten una tinción en la membrana de manera completa o parcial, en cualquier intensidad, calcular el porcentaje de cada uno de ellos, siguiendo el Tumor Proportion Score (TPS).
3. Clasificarlos según su porcentaje de expresión del marcador PD-L1 clona SP263, en tres grupos: Grupo 1: expresión del 0%, Grupo 2: expresión del 1-49% y Grupo 3: expresión mayor al 50%).
4. Realizar FISH y evaluar su amplificación.
 - Pipetiar 10µl de una probeta en cada laminilla, cubrir cada una con un cubreobjetos y sellarlo.
 - Poner las laminillas en un hibridizador y desnaturalizar los especímenes por 10 minutos a 75°C, transferir las laminillas a una cámara humidificadora e hibridizarla por una noche a 37°C., posteriormente lavar.
 - Usar un microscopio de fluorescencia, con el filtro verde para la evaluación: en el cual veremos dos luces, la verde que corresponde a la región de PD-L1 y naranja el cual corresponde a la región III del cromosoma 0, de las cuales normalmente veremos 2 luces verdes y 2 naranjas, en caso de que presente una amplificación veremos múltiples copias o grupos de la señal verde.

5. Describir resultados, los cuales serán evaluados por un patólogo con experiencia a ciegas, de cada uno de los pacientes.
6. Comparar resultados del estudio de inmunohistoquímica contra el FISH, en el cual compararemos la expresión del marcador de inmunohistoquímica contra la amplificación con FISH.
7. Describir cual tipo de cáncer de células no pequeñas presenta una mayor expresión de PD-L1.
8. Además, investigar en aquellos que se tenga el resto de los estudios moleculares, si aquellos que presentaron o no una expresión para PD-L1 también presentan alguna otra mutación.



Esquema 3. Esquema representativo de los pasos a seguir, realizar la búsqueda de casos, realizar una base de datos, valorar los marcadores de inmunohistoquímica, catalogarlos en 3 grupos, realización del FISH, interpretación de este, comparar ambos estudios, así como documentar otros hallazgos y realizar los parámetros de estadística

PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Al obtener la interpretación tanto del marcador de inmunohistoquímica, así como el FISH para PDL1, podremos comparar si hay alguna relación entre aquellos que presentan una mayor expresión del marcador con la amplificación del gen por FISH, así como aquellos que presentaron una menor expresión del marcador con la negatividad o normalidad del FISH. Así podremos determinar si la mayor expresión del marcador de inmunohistoquímica realmente predice que este gen se encuentre amplificado, lo cual comprobaremos con el FISH. Por lo que realizaremos un análisis de correlación, para calcularlo utilizaremos la fórmula de coeficiente de correlación, el cual obtendremos al dividir la covarianza entre las variables "x" (Casos no amplificados) y la de "y" (Casos con amplificación), entre la raíz cuadrada del producto de la varianza de "x" y la de "y". Con esto determinaremos si existe una relación entre nuestras dos variables.

CÁLCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA:

DIFERENCIA DE DOS PROPORCIONES				
	$n = \frac{(p_1q_1 + p_2q_2)(K)}{(p_1 - p_2)^2}$			
valor P1	0.3	0.21		n = 57.828
valor Q1	0.7		0.0625	
valor P2	0.55	0.2475		
valor Q2	0.45			
valor K	7.9			

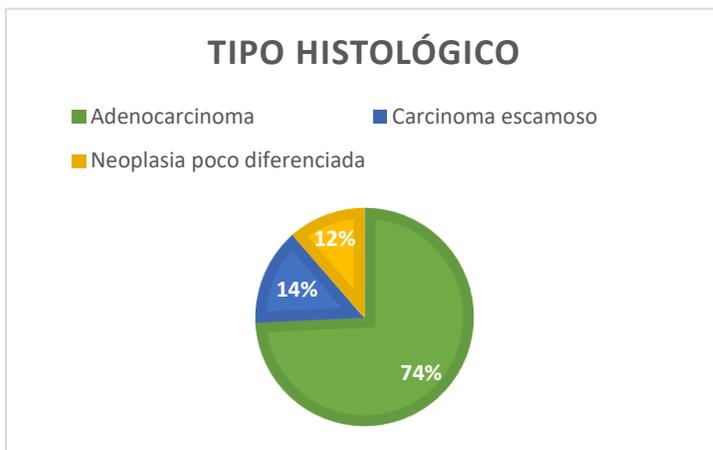
7.- Análisis estadístico:

Se realizó el cálculo del tamaño de muestra utilizando la fórmula *comparación de dos proporciones* con el objetivo de comparar la positividad del marcador inmunohistoquímico contra la técnica de inmunofluorescencia de FISH. Tomando como referencia un 30% (Yoshimura, K., Inoue, Y., Karayama, M., Tsuchiya, K., Mori, K., Suzuki, Y., ... & Sugimura, H. (2019)) de positividad en los sujetos diagnosticados con el marcador inmunohistoquímico y 55% (Yoshimura, K., Inoue, Y., Karayama, M., Tsuchiya, K., Mori, K., Suzuki, Y., ... & Sugimura, H. (2019)) de positividad en los sujetos diagnosticados con la técnica de inmunofluorescencia de FISH, con un nivel de significancia a dos colas del 5%, y un poder de 80%; **se requieren al menos de 58 sujetos de estudio por grupo.**

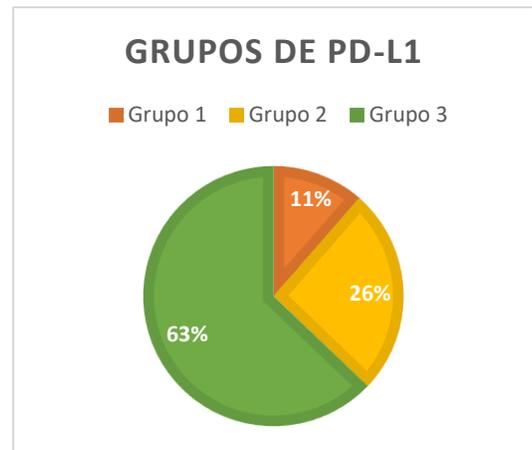
El cálculo se hizo con base en la literatura publicada *Phillips et al. (2004)*

RESULTADOS.

En el lapso del año 2020 a 2022 se realizó el estudio de biomarcadores de pulmón en 880 casos con diagnóstico de cáncer de pulmón, del cual se eligieron 70 casos con diagnóstico de carcinoma de células no pequeñas de pulmón, tomando en cuenta que tuviera inmunohistoquímica para PD-L1, así como material para realizar el FISH para PD-L1. El rango de edad, el paciente menor es de 37 años y el mayor de 86 años, con una edad promedio de 66.54 años; con un predominio del sexo masculino correspondiente al 62.8% del total, mientras que las pacientes femeninas corresponden al 37.2%. En cuanto al estirpe histológica la distribución es de predominio de adenocarcinoma con el 74% de los casos, mientras que a carcinoma espinocelular corresponde a 14% y a neoplasias poco diferenciadas a 12% del total de los casos (Esquema 4).



Esquema 4. Distribución del tipo histológico.



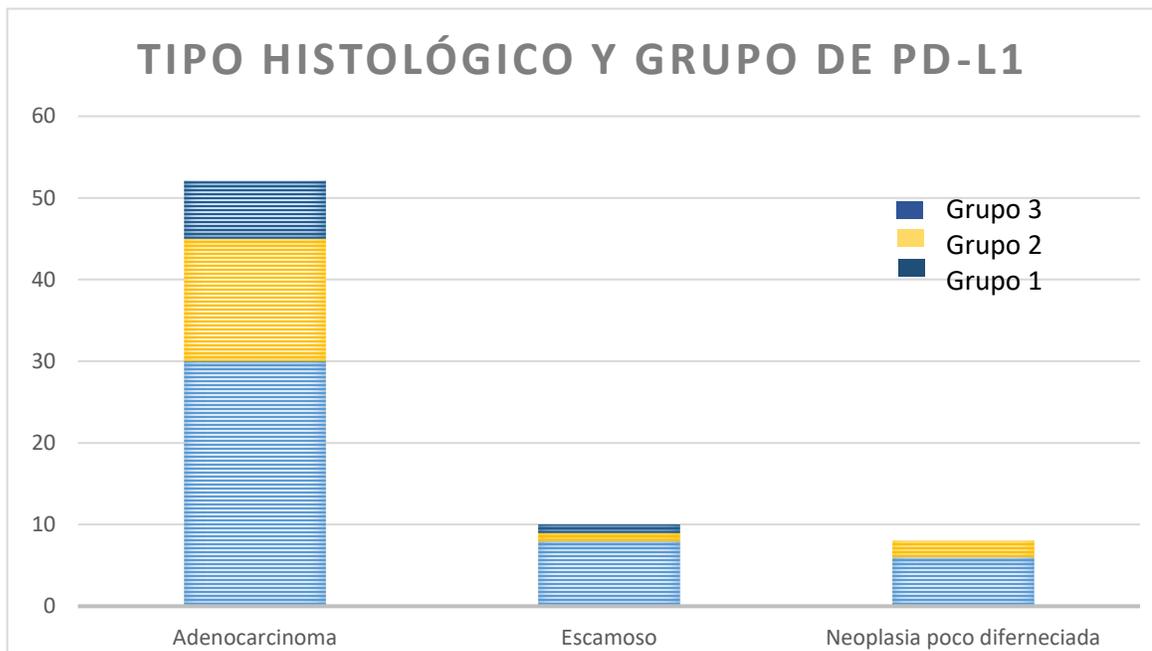
Esquema 5. Distribución de los grupos de expresión.

Expresión de PD-L1

Se evaluó el marcador de inmunohistoquímica PD-L1, de la clona SP263 tomando en cuenta la escala de proporción tumoral (TPS), el cual se determina con el porcentaje de células tumorales con positividad para PD-L1 entre el total de las células tumorales, de estas se excluyeron aquellas necróticas o tejido no

neoplásico; en laminillas con áreas heterogéneas se realizó un promedio de las mismas para calcular la expresión del marcador. Posteriormente se agruparon en los 3 grupos ya establecidos, teniendo la siguiente distribución: 8 pacientes en el grupo 1 (11%), 18 pacientes en el grupo 2 (26%) y 44 pacientes en el grupo 3 (63%) (Esquema 5).

Mientras que la distribución de los tipos histológicos según el grupo de PD-L1, tuvieron una distribución semejante entre ellos mismos. En el grupo 3 la frecuencia de adenocarcinoma fue en 30 pacientes (43%), el carcinoma escamoso en 8 pacientes (11.5%) y la neoplasia poco diferenciada en 6 pacientes (8.5%). En el grupo 2 la frecuencia de adenocarcinoma fue de 15 pacientes (21.5%), de carcinoma escamoso en 1 paciente (1.5%) y de neoplasia poco diferenciada en 2 pacientes (2.5%). En el grupo 1 la frecuencia de adenocarcinoma fue de 7 pacientes (10%), el carcinoma escamoso en 1 paciente (1.5%) y ningún paciente con neoplasia poco diferenciada. (Esquema 6). De esta manera el tipo histológico con mayor expresión del marcador para PD-L1 fue el adenocarcinoma.



Esquema 6. Frecuencia de los tipos histológicos según los grupos de proporción de PD-L1.

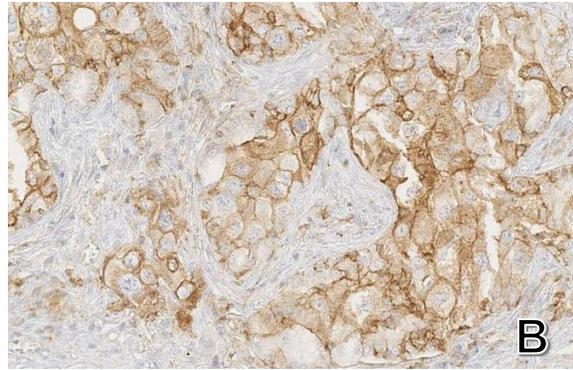
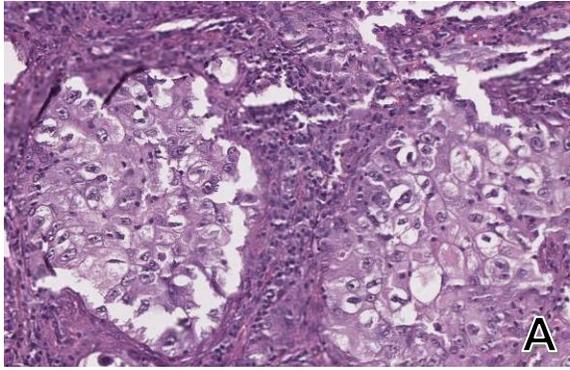


Imagen 3. Carcinoma escamoso (A) con expresión mayor al 50% del marcador de PD-L1 (B), correspondiente al grupo 3.

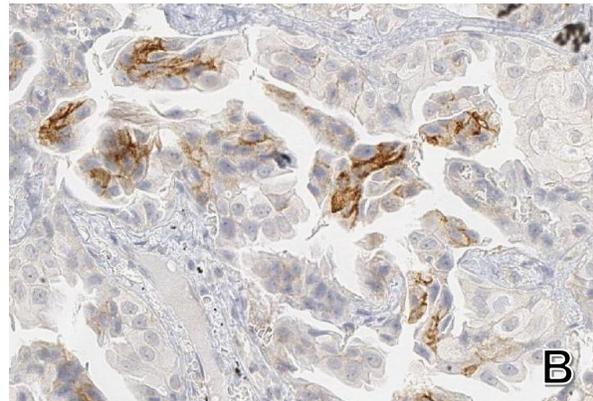
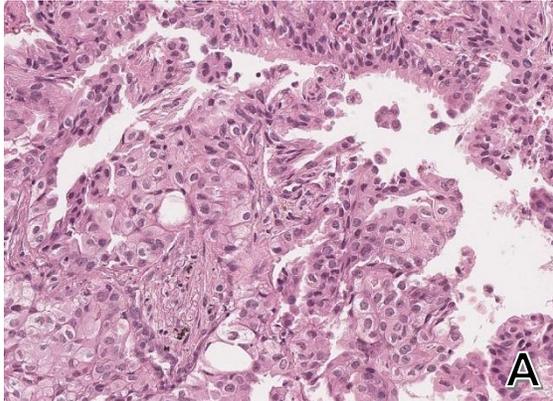


Imagen 4. Adenocarcinoma (A) con expresión del 5% del marcador de PD-L1 (B), correspondiente al grupo 2.

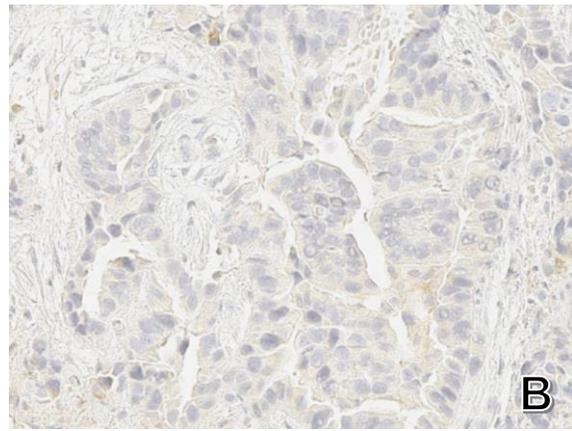
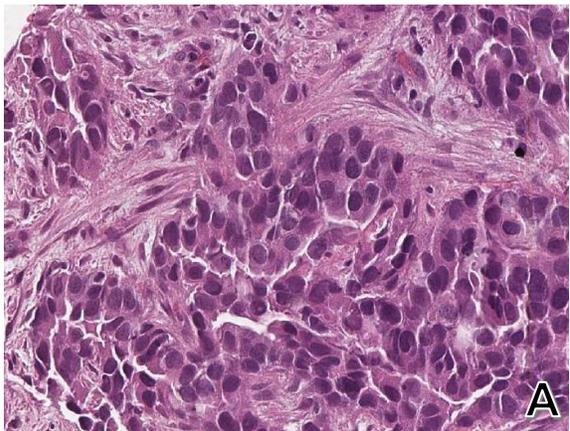


Imagen 5. Adenocarcinoma (A) sin expresión del marcador de PD-L1 (B), correspondiente al grupo 1.

RESULTADOS DEL FISH

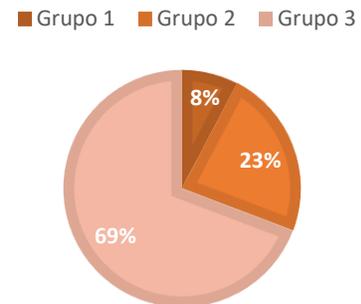
A los 70 casos seleccionados se realizó FISH para PD-L1, de los cuales 9 (13%) casos fueron no valorables debido a no tener células tumorales o por abundante necrosis, 13 (19%) casos presentaron amplificación, mientras que 48 (68%) resultaron no amplificados; en el esquema 7 podemos observar la distribución.

De los casos con amplificación correlacionándolo con los grupos de expresión de PD-L1, resultó 1 caso (8%) correspondiente al grupo1, 3 casos (23%) al grupo 2, mientras que al grupo 3 presentó 9 casos (69%), representado en el siguiente esquema 8.



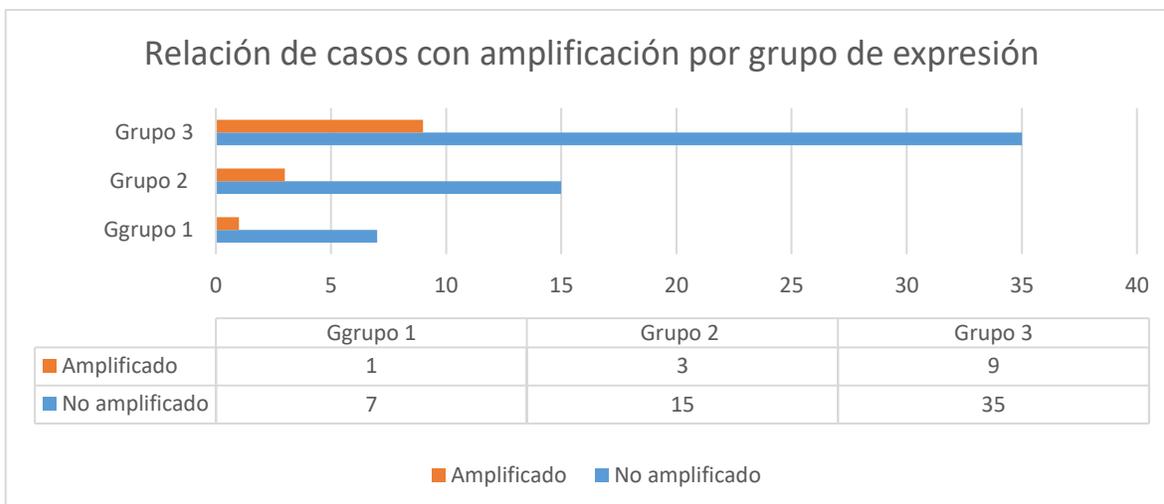
Esquema 7. Distribución de los resultados del FISH para PD-L1.

PORCENTAJE DE CASOS CON AMPLIFICACIÓN POR GRUPO DE PD-L1



Esquema 8. Distribución de los casos con amplificación para PD-L1 según los grupos de expresión del marcador

En el esquema 9 se encuentra la relación entre los casos con amplificación y los no amplificados por grupo de expresión. Además, en la tabla 1 se desglosan las características de los casos con amplificación de PD-L1, a que grupo de inmunohistoquímica pertenencia, así como el tipo histológico y las otras mutaciones observadas.



Esquema 9. Casos con amplificación según el grupo de expresión de PD-L1.

Tabla 1. Características de los casos que presentaron amplificación del Gen PD-L1.

Caso	Sexo	Edad	Tipo histológico	EGFR	ROS1	ALK	PD- L1	Grupo	FISH
10	M	74	Adenocarcinoma	(-)	(-)	(-)	90%	3	A
11	F	78	Adenocarcinoma	(-)	(-)	(-)	79%	3	A
16	M	69	Adenocarcinoma	(+)	(-)	(-)	0%	1	A
31	F	76	Adenocarcinoma	(-)	(-)	(+)	5%	2	A
32	F	74	Neoplasia poco diferenciada	(-)	(-)	(+)	60%	3	A
35	M	62	Carcinoma escamoso	(-)	(-)	(-)	90%	3	A
39	F	60	Adenocarcinoma	(-)	(-)	(+)	50%	2	A
42	F	53	Adenocarcinoma	(-)	(-)	(-)	70%	3	A
46	F	63	Adenocarcinoma	(-)	(-)	(-)	95%	3	A
50	M	78	Adenocarcinoma	(-)	(-)	(-)	95%	3	A
59	M	69	Adenocarcinoma	(-)	(-)	(+)	3%	2	A
62	M	75	Carcinoma escamoso	(-)	(-)	(-)	90%	3	A

Abreviaciones. (-) Negativo, (+) Positivo, A: Amplificado.

De los casos que presentaron amplificación, el tipo histológico más frecuente fue adenocarcinoma presente en 10 (69%) casos, seguido por el carcinoma escamoso

en 2 (23%) casos y 1 (8%) caso de neoplasia poco diferenciada. Mientras que en las características de los pacientes se presentó en 7 (54%) hombres y en 6 (46%) mujeres, con una edad media de 63.9 años.

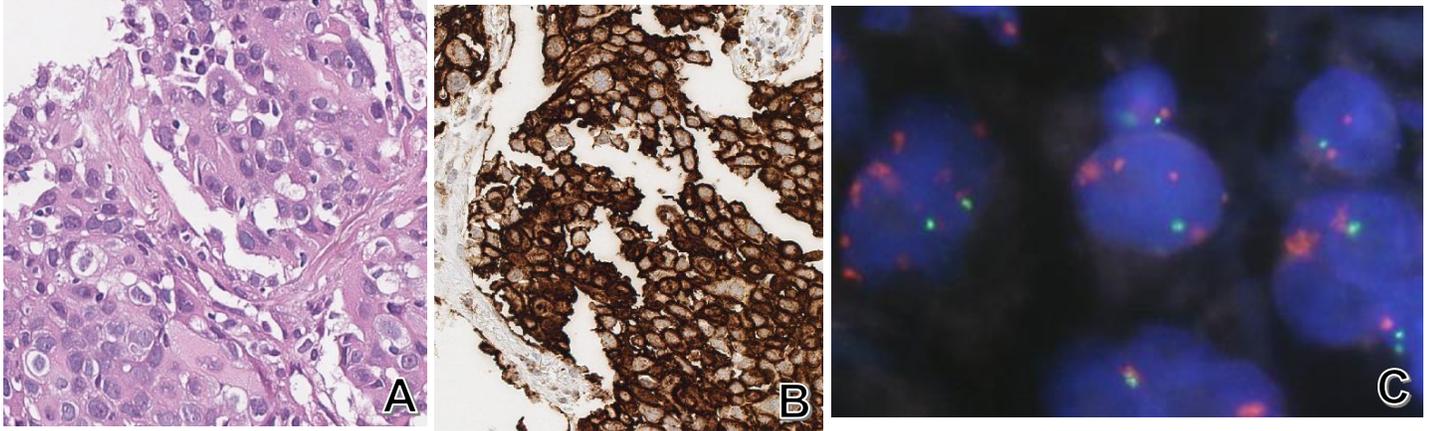


Imagen 6. Caso 50. Correspondiente a un adenocarcinoma (A) que presentó una expresión del marcador para PD-L1 de 95% (B), además al realizar el FISH resultó con amplificación del gen (C).

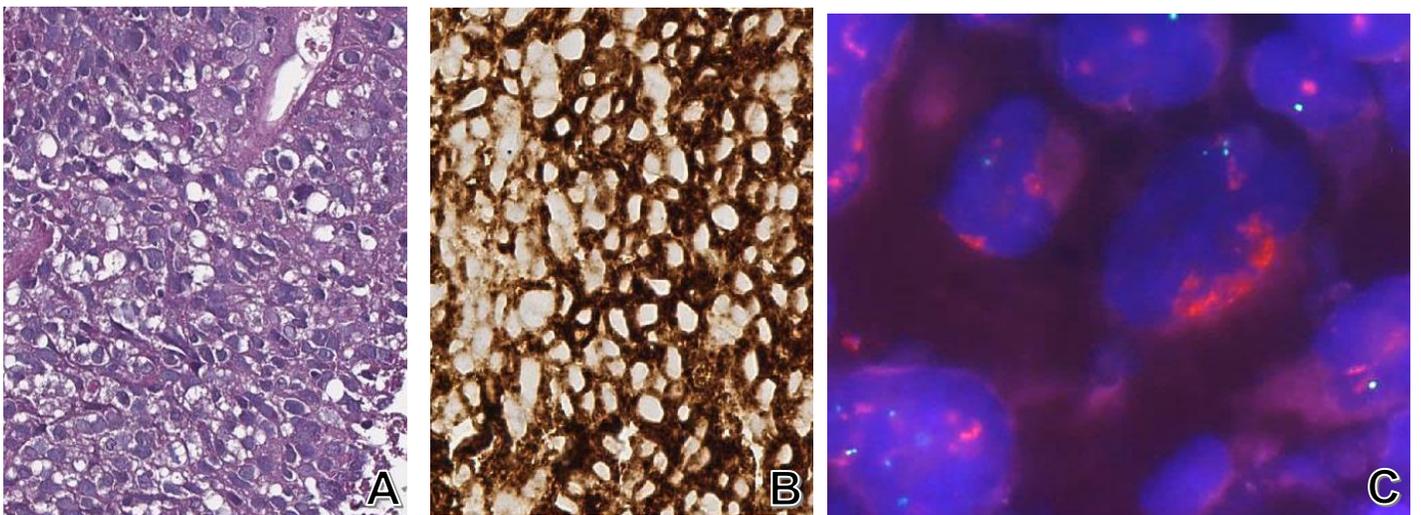
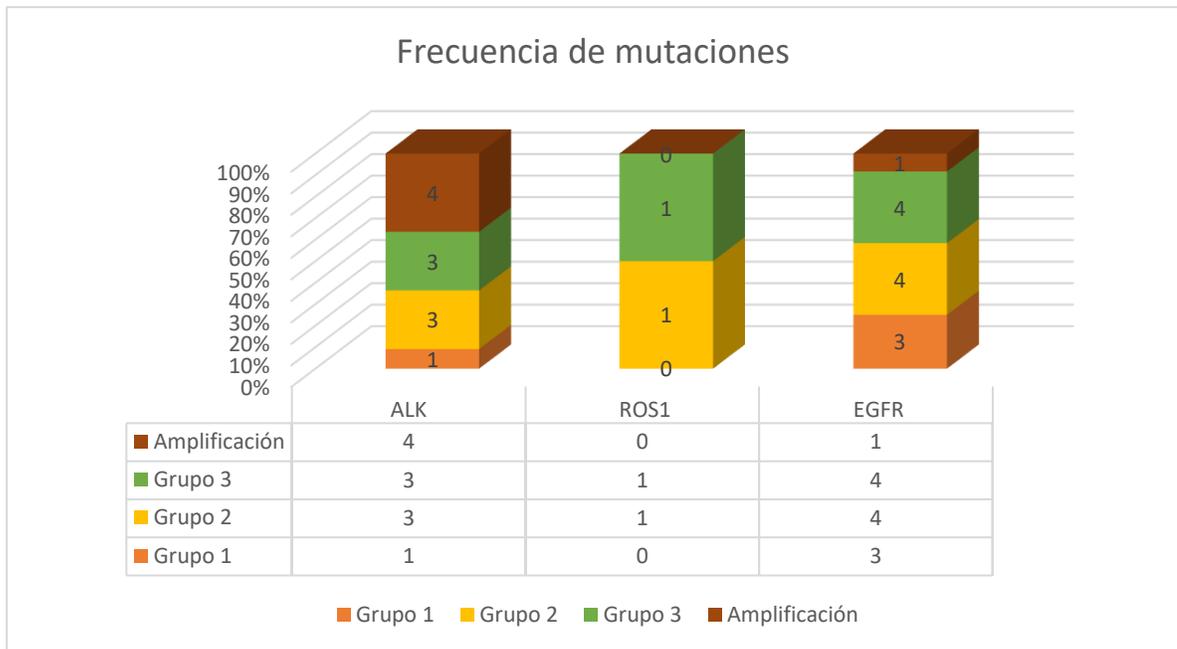


Imagen 7. Caso 62. Carcinoma escamoso (A) con expresión del 90% del marcador PD-L1 (B) y con amplificación del mismo gen por FISH (C).

RESULTADOS DE OTROS BIOMARCADORES

Además, los estudios disponibles para otras mutaciones como EGFR, ALK y ROS1, de los cuales, la mutación que se presentó con más frecuencia entre los grupos de expresión de PD-L1 fue EGFR presente en 11 (16%) de los casos, ALK

presente en 7 (10%) de los casos y ROS1 presente en 2(3%) de los casos. Mientras que en los casos con amplificación para PD-L1 la mutación más frecuente fue ALK presente en 4 (31%) casos, EGFR presente en 1 (8%) caso, mientras que ROS1 no se encontraba presente en ninguno de los casos (Esquema 10).



Esquema 10. Frecuencia de las mutaciones ALK, ROS1 y EGFR, en los grupos de expresión y en los casos con amplificación

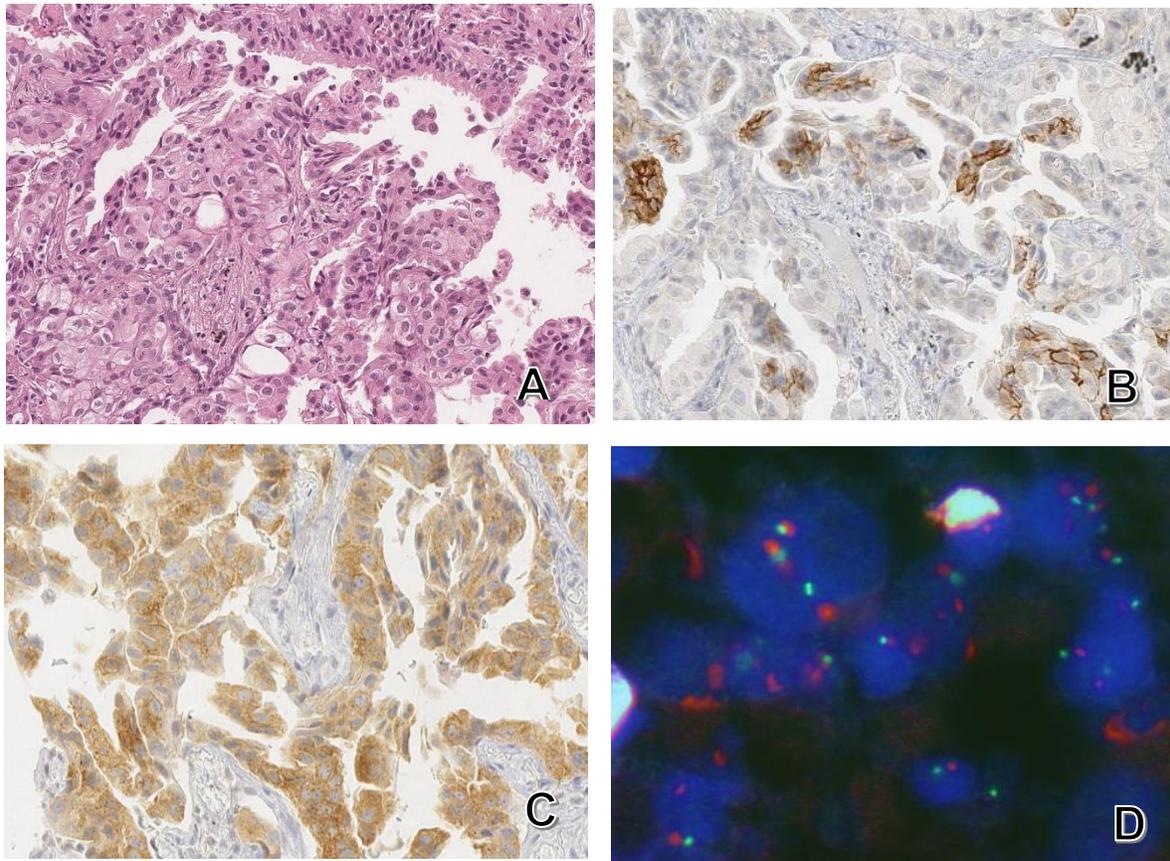


Imagen 8. Caso 31. Adenocarcinoma de pulmón (A) con expresión de PD-L1 en el 5% (B), con positividad para el marcador de inmunohistoquímica ALK (C) y amplificación por FISH de PD-L1 (D).

HALLAZGOS ADICIONALES

Un hallazgo adicional, en 4 casos al momento de realizar el FISH se observó amplificación de la red centromérica, en los cuales observamos más de dos señales verdes, las cuales corresponden a la región centromérica; en la tabla 2, se describen las características de los 4 casos, de los cual resalta, que todos pertenecen al grupo 3 de expresión, ninguno presenta positividad para otro biomarcador y además el 75% de ellos corresponden a neoplasias poco diferenciadas. Se realizó una búsqueda extensa en la literatura para saber el significado o la causa de esta amplificación, sin embargo, no se encontró nada descrito, por lo tanto en este momento desconocemos el significado de esto.

Sexo	Variedad		ALK	ROS1	EGFR	PD-L1
Masculino	Neoplasia poco diferenciada		(-)	(-)	(-)	Positivo 95% Grupo 3
Femenina	Neoplasia poco diferenciado		(-)	(-)	(-)	Positivo 90% Grupo 3
Masculino	Neoplasia poco diferenciado		(-)	(-)	(-)	Positivo 80% Grupo 3
Masculino	Adenocarcinoma		(-)	(-)	(-)	Positivo 90% Grupo 3

Tabla 2. Características de casos con amplificación de la red centromérica.

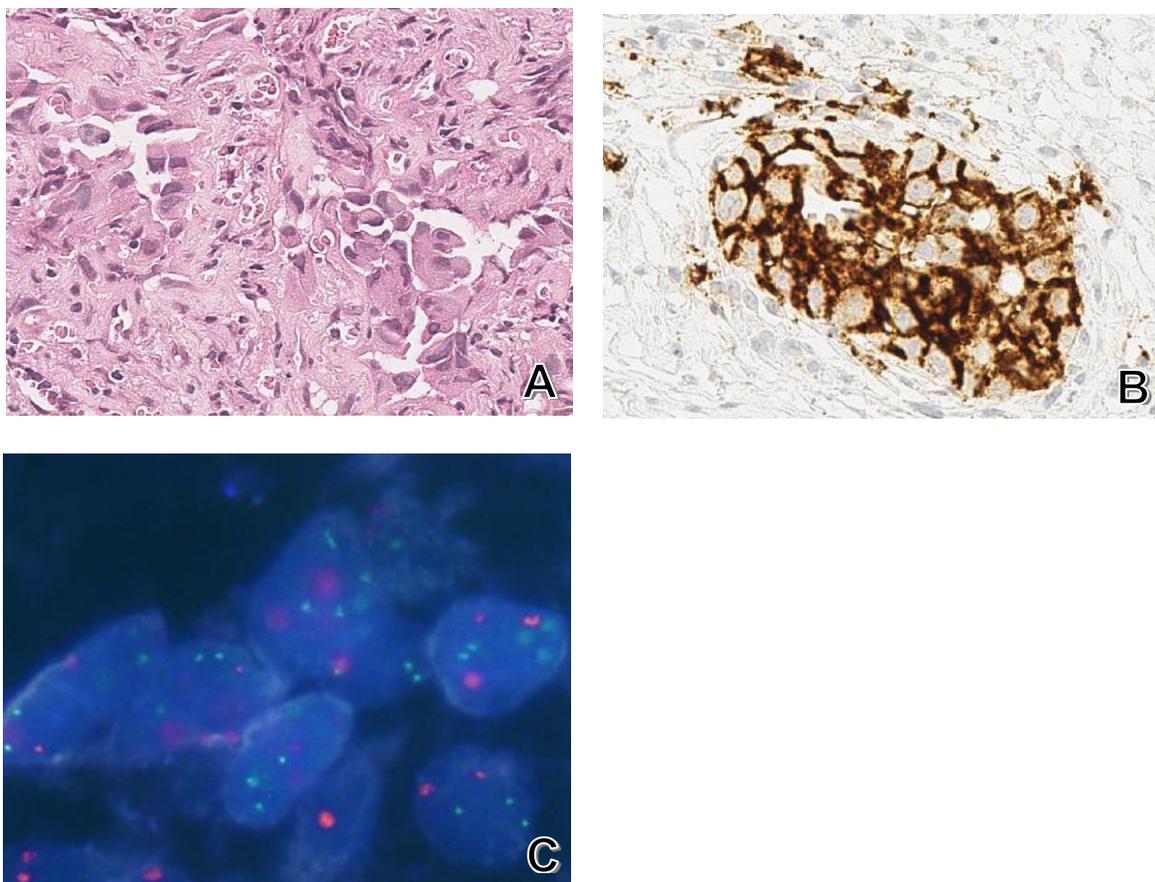


Imagen 9. Corte histológico de un adenocarcinoma con la tinción de HyE (A), marcador de PD-L1 con tinción en el 90% (B) e imagen representativa de la amplificación de la red centromérica la cual corresponde a las señales verdes (C).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Ya con los datos obtenidos, se realizó el coeficiente de correlación, teniendo como variables los casos no amplificados divididos en cada uno de los grupos y los casos con amplificación de igual manera dividido en cada uno de los grupos, de esta manera nuestro índice de correlación fue de 0.9993, lo cual nos indica que entre mayor sea el número de expresión de PD-L1 con mayor frecuencia presentará amplificación del mismo gen, además nuestro valor de p fue de 0.0245, lo cual lo hace estadísticamente significativo.

DISCUSIÓN.

El PD-L1 es una proteína, que su interacción conlleva a la activación del sistema inmune para evadir antígenos; al ser expresado por las células tumorales, estas mismas pasan desapercibidas por el sistema inmune, logrando así su supervivencia. Aquí recae la importancia de la inmunoterapia, específicamente de los medicamentos anti PD-L1, actualmente para acceder a ellos el marcador por inmunohistoquímica para PD-L1 es el único aprobado por la FDA, en el cual una expresión o positividad mayor al 50% se asocia a una mejor respuesta a la inmunoterapia; dentro de los medicamentos aprobados se encuentra el pembrolizumab.

Aun así, una gran cantidad de pacientes con alta expresión del marcador no responden a la inmunoterapia, a diferencia de un importante número de pacientes con baja o sin expresión del marcador quienes presentan una buena respuesta a la inmunoterapia.¹⁷ Una de las explicaciones es debido a la heterogeneidad tumoral y del mismo marcador, lo cual se complica aún más al tener solo biopsias pequeñas. Por lo que recae aquí la importancia de un método que nos ayude a establecer o predecir con mayor certeza la respuesta de los pacientes a la inmunoterapia.

Existen algunos estudios¹¹ donde se ha comparado la expresión del marcador y la amplificación del gen PD-L1, comparando desde la biopsia inicial hasta la resección, evidenciando la misma heterogeneidad tumoral y de la expresión del marcador, pero al ser evaluada a la par con el FISH, se observó que la amplificación del gen PD-L1, es más constante que la expresión del marcador; pero sin comparar si aquellos tumores con mayor expresión de PD-L1 también presentaban amplificación del mismo gen, en nuestro estudio de los 44 casos que presentaban expresión mayor al 50% solo 9 casos presentaron amplificación del gen y de los 9 casos que no presentaron expresión por inmunohistoquímica, 1 caso presentó amplificación, el cual podría corresponder a los casos que no presentan expresión del marcador pero que si presentan respuesta a la inmunoterapia.

Una desventaja del estudio es que no se cuenta con el historial de tratamiento de los pacientes para poder saber cuáles de ellos recibieron inmunoterapia así como cuantos de ellos respondieron a la misma y si estos mismos son los que presentaban amplificación del gen PD-L1.

En estudios previos ¹⁸ donde se ha realizado la comparación de la expresión del marcador como la amplificación con secuenciación en tumores sólidos de diversas localizaciones, se observó que el 0.7% de su población presentó amplificación, de estos pacientes alrededor del 67% de los pacientes respondieron a la inmunoterapia.

CONCLUSIONES

Los tratamientos contra el cáncer han avanzado demasiado los últimos años, por lo que ahora es posible tener terapias dirigidas hacia ciertas mutaciones que presentan los tumores; el mejor ejemplo de ello es el cáncer de pulmón.

En este estudio se observó una mayor cantidad de casos amplificadas en el grupo con mayor expresión por inmunohistoquímica, lo cual nos habla que una gran mayoría de los casos con mayor expresión son los que responderán a la terapia blanco pero aún así un pequeño número del grupo 1 podrá responder a la terapia, ya que en nuestra población un caso presentó amplificación; aquí recae la importancia de dar seguimiento a estos casos para poder comprobar la respuesta a la terapia blanco.

Hay mutaciones que se presentan con mayor frecuencia en ciertos tipos histológicos, en el caso de PD-L1, se presenta con mayor frecuencia en los adenocarcinomas; en este estudio se observó una mayor prevalencia tanto en la expresión como la amplificación de PD-L1 en el tipo histológico de adenocarcinoma, lo cual corresponde al panorama estudiado mundialmente.

Las mutaciones más frecuentes que acompañaban los casos con expresión de PD-L1 fue la mutación de EGFR se encontraba presente en 11 (15.7%) de los casos, ALK se encontró en 7 (10%) de los casos; en los casos con amplificación de PD-L1, la mutación de ALK fue la más frecuente encontrándose en 3 de los casos, mientras que la de EGFR solo en un caso; lo observado se encuentra dentro de los reportado en el panorama global.

En este estudio no se realizó el seguimiento de los pacientes, por lo que se desconoce si los pacientes que presentaron amplificación de PD-L1 respondieron a la inmunoterapia y aquellos que no presentaron la amplificación de PD-L1 realmente

no respondieron a la inmunoterapia; por lo tanto, se requiere de un estudio posterior para poder evaluar si realmente la amplificación de PD-L1 predice con mayor certeza la respuesta a inmunoterapia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bade BC, dela Cruz CS. Lung Cancer 2020: Epidemiology, Etiology, and Prevention. *Clin Chest Med.* 2020;41(1):1-24. doi:10.1016/j.ccm.2019.10.001
2. Rodriguez-Canales J, Parra-Cuentas E, Wistuba II. Diagnosis and molecular classification of lung cancer. In: *Cancer Treatment and Research.* Vol 170. Kluwer Academic Publishers; 2016:25-46. doi:10.1007/978-3-319-40389-2_2
3. Bodor JN, Boumber Y, Borghaei H. Biomarkers for immune checkpoint inhibition in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cancer.* 2020;126(2):260-270. doi:10.1002/cncr.32468
4. Wu Y, Lin L, Liu X. Identification of PDL1-Related Biomarkers to Select Lung Adenocarcinoma Patients for PD1/PDL1 Inhibitors. *Dis Markers.* 2020;2020. doi:10.1155/2020/7291586
5. Udall M, Rizzo M, Kenny J, et al. PD-L1 diagnostic tests: A systematic literature review of scoring algorithms and test-validation metrics. *Diagn Pathol.* 2018;13(1). doi:10.1186/s13000-018-0689-9
6. Incorvaia Daniele Fanale Giuseppe Badalamenti Nadia Barraco Marco Bono Lidia Rita Corsini Antonio Galvano Valerio Gristina Angela Listi L, Vieni Stefania Gori Viviana Bazan Antonio Russo S. Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) as a Predictive Biomarker for Pembrolizumab Therapy in Patients with Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer (NSCLC). *Adv Ther.* 2019;36. doi:10.6084/m9.figshare.9135527
7. Ettinger DS, Wood DE, Chair V, et al. *NCCN Guidelines Version 3.2022 Non-Small Cell Lung Cancer Continue NCCN Guidelines Panel Disclosures.*; 2022. <https://www.nccn.org/home/member->
8. Arrieta O, Zatarain-Barrón ZL, Aldaco F, et al. Lung Cancer in Mexico. *Journal of Thoracic Oncology.* 2019;14(10):1695-1700. doi:10.1016/j.jtho.2019.05.018
9. Wu YL, Zhang L, Fan Y, et al. Randomized clinical trial of pembrolizumab vs chemotherapy for previously untreated Chinese patients with PD-L1-positive locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer: KEYNOTE-042 China Study. *Int J Cancer.* 2021;148(9):2313-2320. doi:10.1002/ijc.33399

10. Liu J, Zheng Q, Mu X, et al. Automated tumor proportion score analysis for PD-L1 (22C3) expression in lung squamous cell carcinoma. *Sci Rep.* 2021;11(1). doi:10.1038/s41598-021-95372-1
11. Rodríguez Martínez R, Suescún Otero G. Aplicaciones e inconvenientes de la técnica de Hibridación in situ Fluorescente (FISH) en la identificación de microorganismos. *Salud Uninorte.* 2013;29:327-340.
12. Ratan ZA, Zaman S bin, Mehta V, Haidere MF, Runa NJ, Akter N. Application of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Technique for the Detection of Genetic Aberration in Medical Science. *Cureus.* Published online June 9, 2017. doi:10.7759/cureus.1325
13. Chrzanowska NM, Kowalewski J, Lewandowska MA. Use of fluorescence in situ hybridization (FISH) in diagnosis and tailored therapies in solid tumors. *Molecules.* 2020;25(8). doi:10.3390/molecules25081864
14. Yoshimura K, Inoue Y, Karayama M, et al. Heterogeneity analysis of PD-L1 expression and copy number status in EBUS-TBNA biopsy specimens of non-small cell lung cancer: Comparative assessment of primary and metastatic sites. *Lung Cancer.* 2019;134:202-209. doi:10.1016/j.lungcan.2019.06.002
15. Oberndorfer F, Müllauer L. Molecular pathology of lung cancer: Current status and perspectives. *Curr Opin Oncol.* 2018;30(2):69-76. doi:10.1097/CCO.0000000000000429
16. Duma N, Santana-Davila R, Molina JR. Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc.* 2019;94(8):1623-1640. doi:10.1016/j.mayocp.2019.01.013
17. Schoenfeld AJ, Rizvi H, Bandlamudi C, et al. Clinical and molecular correlates of PD-L1 expression in patients with lung adenocarcinomas. *Annals of Oncology.* 2020;31(5):599-608. doi:10.1016/j.annonc.2020.01.065
18. Goodman AM, Piccioni D, Kato S, et al. Prevalence of PDL1 amplification and preliminary response to immune checkpoint blockade in solid tumors. *JAMA Oncol.* 2018;4(9):1237-1244. doi:10.1001/jamaoncol.2018.1701

19. Pennell NA, Arcila ME, Gandara DR, West H. LUNG CANCER Biomarker Testing for Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Real-World Issues and Tough Choices. Published online 2022. doi:10.1200/EDBK_

