



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

DIFERENCIAS POR SEXO Y ESTADIO HORMONAL EN LA
EXPRESIÓN DE PD-L1 EN EL ADENOCARCINOMA PULMONAR.
ESTUDIO PILOTO EN POBLACIÓN MEXICANA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A :

EDUARDO MUÑOZ GUERRERO

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. VIANEY RODRIGUEZ LARA



LOS REYES IZTACALA
TLANEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO, 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo fue financiado por el proyecto PAPIIT IN212021 *“Participación de los estrógenos y los andrógenos en la expresión de PD-L1 en el adenocarcinoma pulmonar y su relevancia en la inmunoterapia basada en el bloqueo de la vía PD-1/PD-L1”*.

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

A la Dra. Vianey Rodríguez Lara, Facultad de Medicina, UNAM por abrirme las puertas de su laboratorio y permitirme trabajar con ella.

A la Histotecnóloga Brenda Medina Rodríguez, Facultad de Medicina, UNAM por su apoyo realizando los cortes histológicos necesarios para los análisis inmunohistoquímicos.

A la Dra. Gala Cortes Ramírez, Facultad de Ciencias, UNAM, por su apoyo en el desarrollo de los análisis estadísticos.

A los miembros de mi comité asesor, Dra. María Rosa Ávila Costa, Dra. Sonia Andrea León Cabrera, Dr. Giovanni Soca Chafre y Dr. Leonel Armas López, por el interés en mi formación académica y su participación en este trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES:

Agradezco a mis padres por todo el apoyo que me han brindado, no solo alrededor de mi carrera, sino a lo largo de mi vida, espero que este logro lo sientan como suyo.

Así mismo, agradezco a la Biól. Iris Jael Vázquez Navarrete por ayudarme y creer en mí, aun cuando yo no lo hacía.

Índice:

1. Introducción	1
1.1 Epidemiología del cáncer de pulmón (CP).....	1
1.2 Clasificación y tipos del CP	2
1.3 Características clínicas del CP	3
1.4 Factores etiológicos involucrados en el desarrollo del CP.....	5
1.5 Diferencias por sexo en la presentación del CP	8
1.6 Participación de las hormonas sexuales en el CP.....	9
1.7 Inmunoterapia basada en el bloqueo de PD-1/PD-L1 en el CP.....	10
2. Planteamiento del problema y justificación	13
3. Hipótesis	13
4. Objetivo	13
5. Material y método	14
5.1 Selección de pacientes y de biopsias.....	14
5.2 Inmunohistoquímica y evaluación de la inmunorreactividad.....	15
5.3 Análisis estadístico.....	15
6. Resultados	16
6.1 Expresión de PD-L1 por sexo y condición hormonal en los pacientes con adenocarcinoma pulmonar	16
6.2 Expresión de PD-L1 en el infiltrado inflamatorio y en el tumor.....	17
6.3 Relación entre las características clínicas y expresión de PD-L1	21
7. Discusión	22
8. Conclusión	25
9. Referencias	26

Índice de figuras:

Figura 1: Expresión de PD-L1 por sexo y condición hormonal en los pacientes con adenocarcinoma pulmonar.....	17
Figura 2: Análisis estadístico de la expresión de PD-L1 por grupos en los pacientes con adenocarcinoma pulmonar.....	17
Figura 3: Expresión de PD-L1 en el tumor y el infiltrado inflamatorio de pacientes con adenocarcinoma pulmonar (400X)	19
Figura 4: Porcentaje de expresión de PD-L1 por sexo y condición hormonal en pacientes con adenocarcinoma pulmonar	19
Figura 5: Análisis estadístico del porcentaje de expresión de PD-L1 por sexo y condición hormonal en pacientes con adenocarcinoma pulmonar	20
Figura 6: Análisis estadístico de la relación del estadio tumoral y sexo vs condición hormonal en el adenocarcinoma pulmonar.....	21

Índice de tablas:

Tabla 1: Expresión de PD-L1 en muestras de adenocarcinoma pulmonar.....	18
Tabla 2: Características clinopatológicas de los pacientes positivos a PD-L1 con adenocarcinoma pulmonar.....	20

Lista de abreviaturas

CPCNP: Cáncer pulmonar de células no pequeñas
CCP: Cáncer de células pequeñas
CCE: Carcinoma de células escamosas o epidermoide
ADC: Adenocarcinoma
CO: Monóxido de carbono
CO₂: Dióxido de carbono
HAP: Hidrocarburos aromáticos policíclicos
ADN: Ácido desoxirribonucleico
IARC: Agencia internacional de investigación en cáncer
NO₂: Dióxido de nitrógeno
EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
VIH: Virus de inmunodeficiencia humana
VPH: Virus del papiloma humano
ICI: Inhibidores de puntos de control inmunitarios
CD: Células dendríticas
MHC I: Complejo principal de histocompatibilidad I
PD-1: Proteína de muerte celular programada 1
PD-L1: Ligando de muerte programada 1
AIRE: Gen regulador autoinmune
AR: Receptor de andrógenos
ER: Receptor de estrógenos
E₂: 17- β Estradiol
PTC: Cáncer de tiroides papilar
PBS: Buffer fosfato salino
HRP: Peroxidasa de rábano picante

1. INTRODUCCIÓN

1.1 EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE PULMÓN (CP)

El cáncer de pulmón es una de las enfermedades más importantes a nivel mundial debido a su alta incidencia y mortalidad, representando uno de los desafíos más importantes en salud pública. Es reconocido como el segundo cáncer con mayor incidencia después del cáncer de mama en la población en general y de acuerdo con los datos obtenidos del Observatorio Global de Cáncer (Globocan, 2020) se estimó un total de 2,206,711 casos reportados para el año 2020, de los cuales 1,453,943 fueron diagnosticados en hombres y 770,828 en mujeres, representando de esta manera el 11.4% de todas las neoplasias. Además, fue responsable de 1,796,144 defunciones con 1,188,679 suscitadas en hombres y 607,465 en mujeres estableciéndose como la principal causa de muerte por neoplasias malignas a nivel mundial esto a pesar de los notables avances en las técnicas de diagnóstico y terapias antitumorales.

De acuerdo con Globocan en 2020 hasta el 59.6% de los casos de cáncer de pulmón se originaron en Asia. De hecho, la incidencia y la mortalidad por cáncer de pulmón es mayor en China donde representa el 21% de todos los cánceres y el 27% de todas las muertes relacionadas con el cáncer. Se debe destacar que la mortalidad es más alta en los hombres chinos de los cuales el 68% son fumadores, no obstante, la incidencia está aumentando más rápidamente en las mujeres principalmente por la alta tasa de mutaciones conductoras relacionadas con el uso de combustibles de biomasa sin procesar para cocinar, incluida la madera, los residuos de cultivos, y el carbón (Goss y Col. 2014, Kurmi y Col. 2012).

Por otra parte, en Europa se originan alrededor del 21.6% de todos los casos de cáncer pulmonar y a pesar de que se presentan amplias variaciones geográficas en la incidencia y mortalidad debido a las desigualdades socioeconómicas y educativas, así como el diagnóstico en las etapas posteriores de la enfermedad, en general, las tasas tienden a ser más altas en Europa central debido al tabaquismo, tan solo en Alemania se diagnosticaron más de 66,000 casos de cáncer pulmonar de los cuales 39,000 fueron diagnosticados en hombres y 27,000 en mujeres, se debe destacar que al igual que China, la incidencia en mujeres continúan

aumentando, en este caso atribuido principalmente a las diferencias históricas en el consumo de cigarrillos (Musial et al. 2021, Schabath y Cote, 2019).

En los Estados Unidos el cáncer de pulmón es el segundo cáncer más común en los hombres después del cáncer de próstata con una tasa de incidencia de 71.3 por cada 100,000 y el segundo cáncer más común en las mujeres después del cáncer de mama, con una tasa de 52.3 por cada 100,000 (Schabath y Cote. 2019). Sin embargo, las muertes por cáncer de pulmón en los hombres están disminuyendo a una media del 2.9% anual con una disminución porcentual de aproximadamente el doble que la de las mujeres (Barta y Col. 2019).

En México este carcinoma es considerado una enfermedad compleja que implica un alto impacto psicológico, social y económico, de acuerdo con datos obtenidos del Globocan se reportaron un total de 7,588 casos para el año 2020, de los cuales 4,503 fueron diagnosticados en hombres y 3,085 en mujeres, además se reportó un total de 4,304 y 2,796 decesos respectivamente, lo que evidencia la baja supervivencia, cabe destacar que este nivel de incidencia y mortalidad está relacionado con el tabaquismo y la exposición al humo de leña (Arroyo-Hernández y Col. 2019).

1.2 CLASIFICACIÓN Y TIPOS DE CP

El cáncer pulmonar se clasifica en dos grandes tipos histológicos, el cáncer de células no pequeñas (CPCNP) y cáncer de células pequeñas (CCP). De acuerdo con Pefaur en 2013 el CPCNP es el tipo predominante y representa el 85% de todos los casos diagnosticados, mientras que el CCP representa únicamente el 15%. Históricamente, el CPCNP se ha dividido en 4 subtipos fundamentales, los cuales son el carcinoma de células escamosas o epidermoide (CCE), el adenocarcinoma, el carcinoma de células grandes y el carcinoma de células no pequeñas no especificados (Beasley y Col. 2005).

El adenocarcinoma por su parte es el subtipo histológico más común de cáncer de pulmón tanto en hombres como mujeres y no necesariamente se encuentra en asociación con el tabaquismo, por lo que representa el subtipo histológico más frecuente en personas que nunca han fumado, sobre todo en el sexo femenino (Afshar y Col. 2018). Se desarrolla a partir de a

partir de las células mucosecretoras del epitelio bronquial y la mayoría de estos tumores (el 75%) se localizan en la periferia presentando metástasis al sistema nervioso central (Arguedas-López y Col. 2019).

El carcinoma escamoso también conocido como carcinoma epidermoide es el tipo más frecuente relacionado con el tabaquismo. Se caracteriza por presentar una localización central originándose en bronquios principales, lobares o segmentarios, tener un crecimiento lento y ser localmente agresivo, es decir, produce menos metástasis, pero más recidivas que otros tipos histológicos (Pefaur, 2013).

El carcinoma de células grandes es un subconjunto de CPCNP poco asociado con el tabaquismo que se diagnostica por exclusión, puede demostrar diferenciación escamosa, glandular o neuroendocrina en el 90% de los casos y se presenta como grandes masas adyacentes periféricas con frecuentes áreas de neumonitis asociada (Clark y Alsubait, 2021, Cruz y Col. 2021).

Los carcinomas de células no pequeñas que carecen de evidencia tanto morfológica como de inmunohistoquímica de diferenciación escamosa o glandular deben ser informados como carcinoma de células no pequeñas no especificados (Siddaraju. 2017).

1.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DEL CP

Los signos y síntomas del cáncer pulmonar dependen de muchos factores entre los que se incluyen la localización del tumor y su diseminación, de esta manera si el tumor primario presenta un crecimiento central o endobronquial produce tos, hemoptisis leve, sibilancias, disnea, neumonías recurrentes y síndrome paraneoplásico. Por su parte, el crecimiento periférico produce tos, dolor por afección pleural o de la pared torácica, disnea de origen restrictivo y síntomas de absceso pulmonar por cavitación del tumor (Jiménez, 2011).

Así mismo, la diseminación regional del tumor en el tórax puede causar obstrucción traqueal, compresión del esófago con disfagia, parálisis del nervio laríngeo, parálisis del nervio frénico, parálisis del nervio simpático con síndrome de Horner, síndrome de la vena cava superior, extensión pericárdica y cardiaca con arritmia o insuficiencia cardiaca, obstrucción

linfática con derrame pleural, insuficiencia respiratoria e hipoxemia. (Salvatierra y Col. 2010).

Por otra parte, es importante señalar que los pacientes con cáncer de pulmón suelen experimentar síntomas mucho tiempo antes de buscar atención médica, entre estos síntomas, se incluyen la pérdida de peso, falta de apetito y fatiga (Xing y Col. 2019).

Si el cáncer pulmonar es diagnosticado en etapas tempranas, la resección quirúrgica ofrece un pronóstico favorable, con tasas de supervivencia a cinco años de hasta 70% para tumores pequeños y localizados en etapa I (Goldstraw y Col. 2016). Sin embargo, aproximadamente el 75% de los pacientes tienen una enfermedad avanzada en el momento del diagnóstico (estadio III / IV) por lo que la modalidad principal de tratamiento consiste en quimioterapia combinada con radioterapia o quimioterapia sola presentando tasas de supervivencia a cinco años de solo 15-19% (Blandín y Col. 2017). No obstante, la identificación de alteraciones específicas en pacientes con cáncer pulmonar, tales como, mutaciones en EGFR, PI3K, AKT, mTOR, entre otras, ha permitido el desarrollo de terapias dirigidas a estas vías mostrando grandes beneficios clínicos disminuyendo notablemente la mortalidad (Yuan y Col. 2019).

No obstante, es importante mencionar que los supervivientes de cáncer de pulmón corren el riesgo de sufrir deficiencias cardiopulmonares como resultado de los efectos del tratamiento y las comorbilidades. De acuerdo con Ha y Col. en 2015 existen complicaciones perioperatorias pulmonares y cardiopulmonares en el 15 y el 35%, de los pacientes sometidos a cirugía de resección generando consecuencias negativas para la salud mucho más allá del período perioperatorio, tales como arritmias auriculares y prolongadas e insuficiencia respiratoria. Del mismo modo, la radio y quimioterapia pueden provocar deficiencias cardiopulmonares a largo plazo, tales como miocardiopatía, trastornos de la conducción cardíaca, enfermedad de las arterias coronarias, enfermedad valvular, neumonitis y fibrosis pulmonar (Ha y Col. 2018).

1.4 FACTORES ETIOLÓGICOS INVOLUCRADOS EN EL DESARROLLO DEL CP

El cáncer pulmonar, al igual que muchos otros tumores, es considerado como una serie de enfermedades heterogéneas caracterizado por actividad desregulada de procesos celulares como la autosuficiencia en las señales de crecimiento, la evasión de la muerte celular programada, el potencial replicativo ilimitado, la angiogénesis sostenida, así como la invasión de tejidos y metástasis (Hanahan y Weinberg, 2000), no obstante, los eventos que conducen a la transformación maligna de las células pulmonares no están del todo esclarecidos, aunque son muchos los factores etiológicos que se asocian con su desarrollo, tales como la exposición ocupacional, factores ambientales, el estilo de vida, las características de la raza, la predisposición genética y el sexo (Barta y Col. 2019).

Dentro del estilo de vida, el tabaquismo se ha considerado como el mayor factor de riesgo, de acuerdo con Alberg y Samet en 2003 existe una clara asociación entre el humo del tabaco y la frecuencia en esta neoplasia, esto debido a que en las distintas fases de la combustión del tabaco existen al menos 4,000 compuestos químicos que pueden afectar la salud de sus consumidores, tales como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y las nitrosaminas (Ruiz y Col. 2004).

Otro de los factores de riesgo importante es el humo de leña, existe evidencia que demuestra que la exposición intradomiciliaria a humo de leña aumenta el riesgo a desarrollar enfermedades respiratorias crónicas tal como el cáncer pulmonar. De hecho, un estudio realizado por Figueroa y Col. en 2012 en México demostró que el riesgo de cáncer pulmonar en general y todas sus variedades histológicas en población no fumadora de ambos sexos es mayor en personas expuestas al humo de leña que entre las no expuestas. La toxicidad del humo de leña se debe a que contiene varios carcinógenos conocidos tales como HAPs, en específico, el benzo(a)pireno (IARC, 2010).

Por otra parte, los factores ocupacionales constituyen el tercer factor de riesgo más importante para el desarrollo de este cáncer, diversos estudios indican que entre el 9% y el 15% de los tumores diagnosticados en hombres y, en torno al 5% de los que se presentan en mujeres pueden ser atribuidos a la exposición de sustancias cancerígenas en el medio laboral

ya sea de manera directa o indirecta (De Matteis y Col. 2012). Entre un gran número de sustancias, el arsénico, el cromo, el níquel, las mezclas de HAP's y el asbesto son algunos de los cancerígenos ocupacionales más importantes (Straif y Col. 2009).

Por otra parte, un factor importante a tomar en cuenta es la contaminación atmosférica ya que múltiples estudios han encontrado mayor riesgo de cáncer de pulmón entre la población urbana en comparación con las poblaciones rurales, esto se debe a que muchos contaminantes atmosféricos se liberan desde las industrias, los vertederos municipales, la incineración doméstica inadecuada y los vehículos de motor, de hecho algunas sustancias que están presentes en los gases de escape de las emisiones vehiculares se clasifican como cancerígenas y, probablemente cancerígenas para los humanos (IARC, 2014).

Además, es importante mencionar que la inflamación juega un papel fundamental en la patogénesis del cáncer de pulmón, por ejemplo, se reconoce a la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) como un factor de riesgo notable para el desarrollo del carcinoma pulmonar, esta enfermedad es una afección inflamatoria crónica irreversible que conduce a al estrechamiento fijo de las vías respiratorias pequeñas y la destrucción de la pared alveolar (Schabath y Cote. 2019). Así mismo, algunas infecciones tal como la ocasionada por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) ocasionan una inflamación crónica dentro del pulmón que conduce al desarrollo del cáncer pulmonar (Sigel y Col. 2017). De hecho, un estudio de cohorte prospectivo formado por pacientes adictos a drogas infectados y no infectados por este virus demostró que la infección por VIH es un factor de riesgo independiente del tabaquismo para el desarrollo de esta neoplasia (Kirk y Col. 2007).

Es importante mencionar que no solo las infecciones virales asociadas a la inflamación crónica pueden predisponer el desarrollo de una neoplasia pulmonar, por ejemplo, se ha observado que la tuberculosis, la cual es una enfermedad infecciosa contagiosa causada por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis* induce inflamación crónica y fibrosis pulmonar, lo que conduce a tasas más altas de alteraciones y mutaciones genéticas que se han sugerido como mecanismos relacionados con el riesgo de cáncer pulmonar (Keikha y Esfahani, 2018). De hecho, un análisis agrupado del Consorcio Internacional de Cáncer de Pulmón informó

que los antecedentes de tuberculosis se asociaron con el aumento del 48% del riesgo de cáncer de pulmón (Brenner y Col. 2011).

Por último, conviene señalar que otra de las infecciones virales asociadas con esta neoplasia es el Virus del Papiloma Humano (VPH), el cual, se ha detectado en aproximadamente el 20% de los tejidos de cáncer pulmonar (Bae y Kim, 2015) asociándose mayoritariamente con pacientes no fumadores y con la variedad histológica de adenocarcinoma (Fei y Col. 2006). Sin embargo, el mecanismo por el cual la infección por VPH conduce al desarrollo de cáncer pulmonar se deben a las proteínas del oncogén VPH E6 y E7 las cuales pueden regular la expresión de múltiples genes y proteínas blanco para promover la proliferación de células pulmonares, la angiogénesis y la inmortalización celular a través de diversas vías de señalización (Xiong y Col. 2017).

La susceptibilidad genética de los pacientes es un factor de riesgo importante en esta neoplasia debido a que los cambios en la expresión génica pueden promover un fenotipo maligno de las células que conforman el tejido pulmonar.

Aunque los factores genéticos que conducen a una mayor susceptibilidad al cáncer de pulmón en pacientes no fumadores se han estudiado relativamente poco, algunos estudios han demostrado que los oncogenes mutados con mayor frecuencia son KRAS, BRAF, PIK3CA, ROS, MET y EGFR (Corrales, 2020). Esta última es una de las principales mutaciones asociadas a pacientes no fumadores, de hecho, un metanálisis que incluyó a 30,466 pacientes determinó que la frecuencia de la mutación en EGFR fue de 49.3% en pacientes no fumadores en contraste con el 21.5% para los fumadores (Zhang, 2016).

Por otra parte, el sexo del paciente y las hormonas sexuales son otro factor etiológico que ha ganado relevancia en los últimos años. Anteriormente se consideraba al cáncer pulmonar como una enfermedad idéntica, tanto en hombres como en mujeres, sin embargo, se ha observado que existen diferencias significativas en el desarrollo de esta patología en ambos sexos.

1.5 DIFERENCIAS POR SEXO EN LA PRESENTACIÓN DEL CP

Los hombres y las mujeres difieren en términos del riesgo, supervivencia, histología e incluso mutaciones genéticas asociadas con la malignidad del tumor (Liau y Col. 2021)

De acuerdo con Pujol y Col. 2014 existe un aumento en el número de mujeres que padecen cáncer pulmonar a pesar de una reducción del 50% en la cantidad de mujeres fumadoras. Además, se observa que dichas pacientes son más susceptibles a padecer adenocarcinoma en comparación con los hombres quienes suelen presentar una mayor proporción de carcinoma de células escamosas, aunado a esto los autores informan que las pacientes femeninas tienen una mejor supervivencia general en comparación con los hombres (Afshar y Col. 2018). No obstante, es conveniente destacar que la incidencia específica por edad del cáncer de pulmón entre hombres y mujeres es casi equivalente hasta los 50 años, después de lo cual la incidencia aumenta más rápidamente en hombres que en mujeres (IARC, 2020).

Además, se ha observado que las mujeres tienen mayor frecuencia de mutaciones en EGFR que los hombres por lo que suelen tener mejores resultados en los tratamientos clínicos, de hecho, una revisión de seis ensayos que evaluaron inhibidores de tirosina cinasa para EGFR, mostró una reducción del 10% en el riesgo de progresión en pacientes femeninas (Pinto y Col. 2018). Aunado a esto, Wheatley-Price y Col. en 2010 mencionan que las mujeres muestran una supervivencia libre de progresión moderadamente más prolongada que los hombres en el CPCNP tratado con quimioterapia, sin diferencias observadas en las tasas de respuesta, eventos adversos graves o calidad de vida.

Por otra parte, respecto a la inmunoterapia conviene mencionar que a pesar de que menos del 10% de los datos se analicen teniendo en cuenta el sexo de los pacientes los metanálisis disponibles de grandes ensayos de inhibidores de puntos de control inmunitarios (ICI) sugieren que éstos podrían mostrar una eficacia diferente según el sexo de los pacientes con cáncer, lo que apunta a mejores resultados en hombres que en mujeres, sin embargo, el sesgo sexual en respuesta a la inmunoterapia contra el cáncer es un tema de debate continuo y aún no se ha podido resolver (Ben-Batalla y Col. 2020).

1.6 PARTICIPACIÓN DE LAS HORMONAS SEXUALES EN EL CP

Las diversas diferencias en las características del cáncer de pulmón entre hombres y mujeres sugieren el posible papel de las hormonas sexuales en el inicio y progresión de esta neoplasia.

De hecho, algunos estudios señalan una asociación entre las hormonas y sus receptores con estadios tumorales más avanzados, por ejemplo, Oton y Col. en 2006 observaron que niveles altos de estrógenos endógenos circulantes se asocian con una peor supervivencia general en mujeres premenopáusicas. Por otra parte, Rodríguez-Lara y Col. en 2015 mencionan que los tumores de mujeres premenopáusicas presentan una mayor expresión del receptor de estrógenos (ER- β) en comparación con hombres y mujeres postmenopáusicas, sugiriendo que dicho receptor podría estar regulado por el estrógeno circulante. Así mismo, se ha observado que la enzima aromatasa se encuentra sobre expresada en tejidos pulmonares tumorales en comparación con tejido pulmonar adyacente no neoplásico aumentando la concentración de estradiol en dichos tejidos (Niikawa y Col. 2008).

De esta manera, el E₂ estaría involucrado en la progresión del adenocarcinoma pulmonar promoviendo procesos celulares de vital importancia tales como la proliferación celular, la supervivencia y la migración a través de vías como PI3K, AKT, MAPK, y la expresión de genes como C-myc, ciclina D y genes de proteínas Id (Márquez-Garbán y Col. 2009, Hershberger y Col. 2005). Así mismo, Márquez-Garbán y Col. en 2011 observaron que combinaciones de estradiol y progestinas cooperan en la producción de VEGF, mejorando en consecuencia la proliferación de células endoteliales en el proceso de angiogénesis.

Por último, conviene mencionar que los estrógenos modulan la respuesta inmunitaria a través de diversos mecanismos, entre los que se incluye la modificación del microambiente tumoral y la estimulación de células supresoras derivadas de mieloides (Rothenberger et al. 2018).

Respecto a los andrógenos, es importante mencionar que su efecto en el cáncer de pulmón es un tema aún no esclarecido, sin embargo, Hyde y Col. en 2012 observaron que niveles elevados de testosterona pueden asociarse con el desarrollo de cáncer prostático y pulmonar. Así mismo, un estudio observó una marcada estimulación del crecimiento celular con testosterona y dihidrotestosterona en líneas celulares de carcinoma pulmonar positivas a

receptor de andrógenos (Maasberg y Col. 1989). De hecho, el estudio realizado por Lanzino y Col en 2010 demostró que la inhibición del AR en líneas celulares de cáncer mamario disminuyó la expresión de ciclina D1 y por lo tanto la proliferación celular.

Por otra parte, se conoce que los andrógenos a través de su receptor están involucrados en la modulación del sistema inmunitario, de acuerdo con Bhatia y Col. en 2014 estas hormonas inducen efectos inmunosupresores tales como disminución de los niveles de producción de anticuerpos, reducción del número de células T y capacidad de activación, y estimulación de la producción de citocinas antiinflamatorias por parte de las células presentadoras de antígenos.

1.7 INMUNOTERAPIA BASADA EN EL BLOQUEO DE **PD-1/PD-L1** EN EL CP

El sistema inmunitario juega un papel muy importante en la evolución del tumor ya que puede identificar y controlar las células tumorales nacientes en un proceso llamado inmunovigilancia, a grandes rasgos la respuesta inmunitaria comienza cuando las proteínas de las células tumorales son liberados por las células tumorales durante la muerte celular, posteriormente dichos antígenos son capturados por las células dendríticas (CD) las cuales maduran y migran a los ganglios linfáticos, una vez ahí las CD presentan el antígeno capturado a la molécula del complejo mayor de histocompatibilidad I (MHC I), lo que da como resultado la activación de las células T, las cuales comienzan la migración al tumor, se infiltran en el tejido tumoral, reconocen las células cancerosas y las eliminan (Chen y Mellman, 2013). En este proceso participan moléculas que proporcionan señales positivas y/o negativas que promueven o atenúan la respuesta de las células T denominadas coestimuladoras y cosupresoras respectivamente (Kunimasa y Goto, 2020). Una de las moléculas más importantes en este contexto es la proteína de muerte celular programada 1 (PD-1), la cual se expresa dinámicamente en los linfocitos T después de su activación, la unión con su respectivo ligando (PD-L1) entrega señales inhibitoras que regulan el equilibrio entre la activación de las células T, la tolerancia y el daño tisular inmuno mediado (Francisco y Col. 2010).

Sin embargo, las células tumorales poseen la capacidad de evadir el sistema inmune mediante un proceso denominado inmunoección, el cual consiste en tres fases secuenciales, la primera de ellas es la fase de eliminación mediante la cual se erradican las células tumorales inmunogénicas, la segunda es la fase de equilibrio en la que coexisten células tumorales y células inmunes, y finalmente la fase de escape en la que el tumor escapa al control inmunológico y prolifera aprovechando ciertos puntos de control inmunes tales como la expresión de PD-L1 (Kunimasa y Goto, 2020), lo que conlleva a la regulación negativa de citocinas y células T suprimiendo las respuestas inmunitarias efectoras (Blank y Col. 2006).

Es por ello que se han implementado nuevas estrategias de inmunoterapia basadas en el uso de inhibidores de puntos de control inmunitarios (ICI) tales como los anticuerpos monoclonales que bloquean la proteína PD-1 y su ligando PD-L1 estimulando de esta manera la respuesta inmune y conduciendo a la destrucción de células tumorales, revolucionado el panorama terapéutico del cáncer de pulmón y aumentado significativamente la supervivencia libre de progresión en algunos pacientes (Wang et al. 2020). No obstante, un metaanálisis realizado por Conforti y Col. en 2018 mostró que dichas terapias suelen presentar mejores respuestas en hombres en comparación con las mujeres, así mismo, Duma y Col. 2019 mencionan que las mujeres experimentan más efectos adversos relacionados con el sistema inmunológico en comparación con los hombres durante el tratamiento con fármacos anti-PD-1, sin embargo, estas diferencias en las inmunoterapias siguen siendo un tema poco investigado.

Es posible que este fenómeno se deba a las diferencias en la respuesta inmune entre hombres y mujeres; un claro ejemplo de este hecho, es que las mujeres muestran respuestas inmunes innatas y adaptativas más fuertes en comparación con los hombres (Klein, 2012), lo que reduce el riesgo de mortalidad por cáncer, sin embargo, esto puede conducir a respuestas antigénicas aberrantes con inmunopatología, observándose una mayor proporción de enfermedades inflamatorias y autoinmunes (Klein y Flanagan, 2016). Por su parte, los hombres presentan un mayor riesgo de mortalidad por neoplasias, en particular para los cánceres de laringe, esófago, vejiga y pulmón (Cook y Col. 2011).

Dicho diformismo en la respuesta inmunitaria se produce desde el desarrollo embrionario y se mantiene durante toda la vida, a través de la acción de las hormonas sexuales como los estrógenos y la testosterona (Ghosh y Klein, 2017). El estrógeno controla la actividad de las células inmunitarias mediante la regulación del metabolismo celular a través de sus receptores, además aumenta la diferenciación de las células T auxiliares, el IFN- γ y los efectos inflamatorios mediados por éste incluida la producción de las enzimas óxido nítrico sintasa inducible y ciclo oxigenasa (Moulton, 2018). Por su parte, la testosterona aumenta la selección negativa de timocitos autorreactivos regulando al alza la expresión del gen regulador autoinmune (AIRE) en las células epiteliales tímicas medulares y aumenta la producción de TGF- β tímico, promoviendo así la autotolerancia central, además, la señalización del receptor de andrógenos (AR) regula la función y el desarrollo de las células T y B y promueve la respuesta inmune de las células T mediada por las células T auxiliares (Moulton, 2018). Así mismo, se ha observado que la testosterona y el AR pueden influir en diferentes subconjuntos de células inmunitarias innatas y adaptativas, incluidos neutrófilos, macrófagos, mastocitos, monocitos, megacariocitos, células B y células T generalmente de manera inmunosupresora principalmente al reducir y/o promover la expresión de mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios.

En los últimos años se ha investigado el papel de las hormonas sexuales en la modulación de PD-1 y PD-L1, ya que comprender los efectos de las hormonas en esta vía podría limitar el sesgo del sexo en diversas patologías. Spence y Voskuhl en 2012 señalan que el estradiol mejora notablemente la expresión de PD-1 en varios tipos de células presentadoras de antígenos incluidos macrófagos, células B y especialmente CD, además observaron que el estradiol aumentó los niveles de PD-1 intracelular en células CD4 +. Así mismo, Polanczyk y Col. en 2017 señalan que las células B de ratones tratados con estradiol regulan positivamente a PD-L1.

Con respecto a los andrógenos podemos mencionar que todavía no hay estudios que documenten su papel directo en las respuestas a los inhibidores de los puntos de control inmunitarios en el carcinoma pulmonar, sin embargo, un estudio realizado en células de cáncer de tiroides papilar (PTC) sugiere que PD-L1 está regulado a la baja por los andrógenos

en un mecanismo dependiente de AR, este mecanismo putativo está corroborado por la correlación inversa de la expresión de AR y PD-L1 en tejidos humanos primarios y la mayor frecuencia de expresión de PD-L1 en tejidos PTC femeninos (O'Connell y Col. 2021).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

El cáncer pulmonar continúa siendo una de las enfermedades más importantes a nivel mundial a pesar de los avances en el tratamiento continúa presentando la tasa más alta de mortalidad entre todas las neoplasias. El uso de inhibidores de los puntos de control inmunitarios como PD-L1 en la inmunoterapia, ha incrementado significativamente la supervivencia general de los pacientes, no obstante, algunos estudios muestran diferencias por sexo, siendo los hombres los que parecen mostrar mayor respuesta comparado con las mujeres, sin embargo, no hay estudios suficientes para corroborar que el sexo del paciente es un factor pronóstico a la respuesta a este tratamiento. Aunado a ello se desconoce si la condición hormonal pudiera ser un elemento determinante en la expresión de PD-L1 y en la probable respuesta a la inmunoterapia. Debido a lo anterior resulta importante analizar las probables diferencias en la expresión de PD-L1 por sexo y condición hormonal en los pacientes en población mexicana con ADC.

3. HIPÓTESIS

Existen diferencias por sexo y condición hormonal en la expresión de PD-L1 en los pacientes con ADC pulmonar que podrían explicar las diferencias en la respuesta al tratamiento.

4. OBJETIVO

- Identificar las diferencias por sexo y condición hormonal en la expresión de PD-L1 en biopsias de pacientes con adenocarcinoma pulmonar.

5. MATERIAL Y MÉTODO

5.1 SELECCIÓN DE PACIENTES Y DE BIOPSIAS

Se obtuvieron 72 biopsias de adenocarcinoma pulmonar de la Unidad de Patología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias de México “Ismael Cosío Villegas”. Se consultaron los expedientes clínicos de cada paciente para obtener los siguientes datos: sexo, edad, estado hormonal en el caso de las mujeres (premenopausia/postmenopausia), el cual se determinó con la fecha de última menstruación, el estadio del cáncer (TNM), el hábito tabáquico, la exposición a otros tóxicos, la ocupación, la presencia de otras patologías pulmonares además del cáncer en caso de presentarse.

Se seleccionaron las biopsias de pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma pulmonar realizado por el patólogo, que presentaran los datos antes mencionados en su expediente clínico y que las biopsias recolectadas tuvieran tejido suficiente para el análisis de la expresión de PD-L1. Los pacientes que no cumplieron con estos requisitos, así como aquellos que presentaron otras patologías pulmonares o tuvieron tratamiento previo fueron excluidos del estudio. De esta forma se obtuvieron 22 biopsias de mujeres premenopáusicas, 28 de mujeres postmenopáusicas y 22 de hombres.

Las mujeres con adenocarcinoma pulmonar incluidas en el estudio se encontraron entre los 30 y 80 años. Las pacientes fueron definidas como postmenopáusicas cuando experimentaron naturalmente al menos doce meses consecutivos sin menstruación, y como premenopáusicas, cuando presentaron periodos menstruales normales al momento del diagnóstico (Dratva et al. 2009; NORMA Oficial Mexicana NOM-035-SSA2-2002, 2003). Las pacientes con ooforectomía o con alguna disfunción hormonal fueron excluidas del estudio, así como aquellas pacientes que tomaban terapia hormonal hasta el momento del diagnóstico. Los hombres con adenocarcinoma pulmonar se encontraron entre los 30 y 80 años.

Este estudio fue realizado de acuerdo con la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité de Ética del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas” y de la Facultad de Medicina UNAM, México.

5.2 INMUNOHISTOQUÍMICA Y EVALUACIÓN DE LA INMUNORREACTIVIDAD

La expresión de PD-L1 en adenocarcinomas pulmonares fue analizada mediante inmunohistoquímica. Las biopsias fueron fijadas en formalina al 10% y embebidas en parafina. Se obtuvieron cortes de 4mm y se colocaron en portaobjetos tratados con poli-L-lisina (Sigma, St Louis, MO). Los tejidos fueron desparafinados en xilol, se rehidrataron colocándolos en alcohol en concentraciones decrecientes hasta llevarlos a agua y posteriormente fueron sujetos a presión (120lbs) y calor durante 5 min para la recuperación antigénica. La actividad de la peroxidasa endógena fue inhibida con 3% de H₂O₂ (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ) por 30 minutos. Se realizó un lavado con PBS-Albúmina 1% y se incubó por 30 min a 37°C con el anticuerpo monoclonal de conejo anti-PD-L1 (GTX 104763). De la misma forma se incubó con el anticuerpo secundario de cabra anti-conejo y con el complejo HRP-streptavidina. Los tejidos fueron lavados con buffer fosfato salino (PBS) pH 7.4, 0.01 M después de ser tratados con cada reactivo y anticuerpo. La reacción inmunológica fue revelada con diaminobencidina (Zymed Laboratories, San Francisco, CA). Finalmente, los tejidos fueron contrastados con hematoxilina y montados. Para el control de la técnica se evaluó la expresión de actina en tejidos de útero, mientras que para el control positivo de PD-L1 se empleó amígdala.

Las imágenes de los tejidos se obtuvieron utilizando una cámara digital acoplada a un microscopio de campo claro a una magnificación de 400x. La inmunopositividad fue determinada por la presencia de color ocre en los tejidos, mientras que el porcentaje de expresión de PD-L1 se determinó cuantificando el número de células tumorales que expresan PD-L1 en relación con el número total de células tumorales a través del programa Image J.

5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó una prueba de normalidad y homocedasticidad de varianzas, con el fin de investigar si los datos obtenidos presentan una distribución normal. La forma en la que se distribuyeron los datos determinó la identidad de las pruebas estadísticas que se emplearon

con el fin de comprobar si existe diferencia en la expresión de PD-L1, en los tumores entre los grupos de pacientes (mujeres premenopáusicas, postmenopáusicas y hombres).

6. RESULTADOS

6.1 EXPRESIÓN DE PD-L1 POR SEXO Y CONDICIÓN HORMONAL EN LOS PACIENTES CON ADENOCARCINOMA PULMONAR

Para evaluar la expresión de PD-L1 en los pacientes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias de México “Ismael Cosío Villegas” se realizó el marcaje por inmunohistoquímica con el anticuerpo monoclonal de conejo anti-PD-L1. Observamos que el porcentaje de positividad entre la población analizada correspondió al 22%, de los cuales el 44% fueron hombres, 37% correspondieron a mujeres premenopáusicas y 19% fueron mujeres postmenopáusicas (Fig. 1).

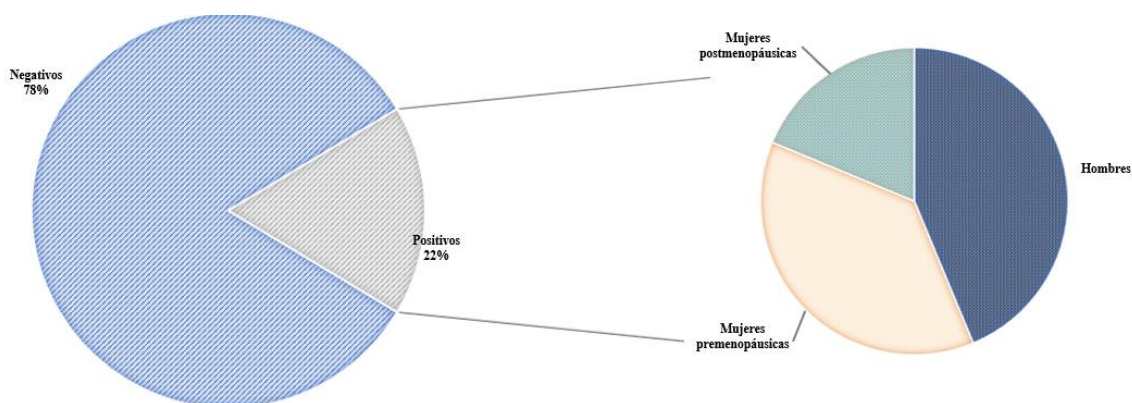


Figura 1: Expresión de PD-L1 por sexo y condición hormonal en los pacientes con adenocarcinoma pulmonar. Se obtuvieron un total de 16 pacientes positivos para PD-L1, de los cuales 44% correspondían a hombres, 37% a mujeres premenopáusicas y 19% a mujeres postmenopáusicas.

Para identificar si existe diferencia significativa en el porcentaje de pacientes positivos a PD-L1 por grupo, es decir, hombres, mujeres premenopáusicas y mujeres postmenopáusicas, realizamos un ANOVA sobre un modelo binomial de respuesta (esto debido a que son datos de presencia/ausencia) y observamos que no hay diferencia significativa entre los grupos de mujeres, pero sí entre los hombres respecto a las mujeres (Fig. 2).

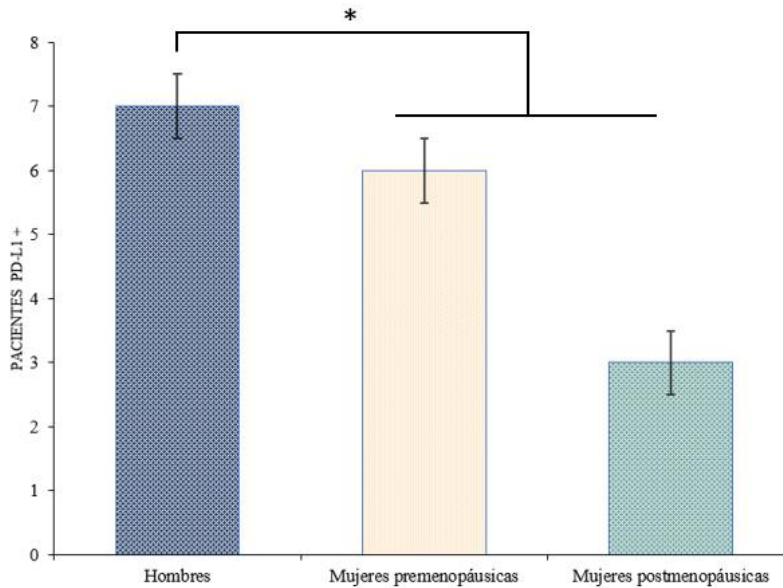


Figura 2: Análisis estadístico de la expresión de PD-L1 por grupos en los pacientes con adenocarcinoma pulmonar. De los pacientes que expresan PD-L1 encontramos que 7 fueron hombres, 6 mujeres premenopáusicas y solo 3 fueron mujeres postmenopáusicas, los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre mujeres, pero sí entre hombres vs mujeres.

6.2 EXPRESIÓN DE PD-L1 EN EL INFILTRADO INFLAMATORIO Y EN EL TUMOR

Se registró el sitio de positividad para PD-L1 en las biopsias de pacientes, analizando si la expresión se encontraba en el tumor, en el infiltrado inflamatorio o en ambos sitios. Los resultados mostraron que en los tres grupos de pacientes (hombres, mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas) la expresión de PDL-1 se observó predominantemente en ambos sitios tumor e infiltrado inflamatorio, sin diferencia en el sitio de expresión entre los grupos (Tabla 1).

Tabla 1: Expresión de PD-L1 en muestras de adenocarcinoma. Se observó que la expresión de PD-L1 se encontraba mayoritariamente tanto en el infiltrado inflamatorio como en el tumor independientemente del sexo o estadio hormonal.

Hombres			
Paciente	Infiltrado	Tumor	Infiltrado-tumor
P1	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
P2	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
P3	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
P4	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
P5	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
P6	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
P7	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Mujeres premenopáusicas			
Paciente	Infiltrado	Tumor	Infiltrado-tumor
P1	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
P2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
P3	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
P4	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
P5	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
P6	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Mujeres postmenopáusicas			
Paciente	Infiltrado	Tumor	Infiltrado-tumor
P1	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
P2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
P3	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Posteriormente, se procedió a determinar el porcentaje de expresión de PD-L1 en las células tumorales, analizando el total de células tumorales por campo y las células tumorales inmunopositivas a PD-L1. Los resultados muestran que los hombres presentan un porcentaje de expresión ligeramente mayor comparado con las mujeres, mientras que al comparar las pacientes femeninas premenopáusicas con las postmenopáusicas no se observan diferencias en el porcentaje de expresión de esta proteína (Fig. 4). De hecho, el análisis estadístico de Brown-Forsythe indicó que no existieron diferencias significativas al comparar todos los grupos (Fig. 5).

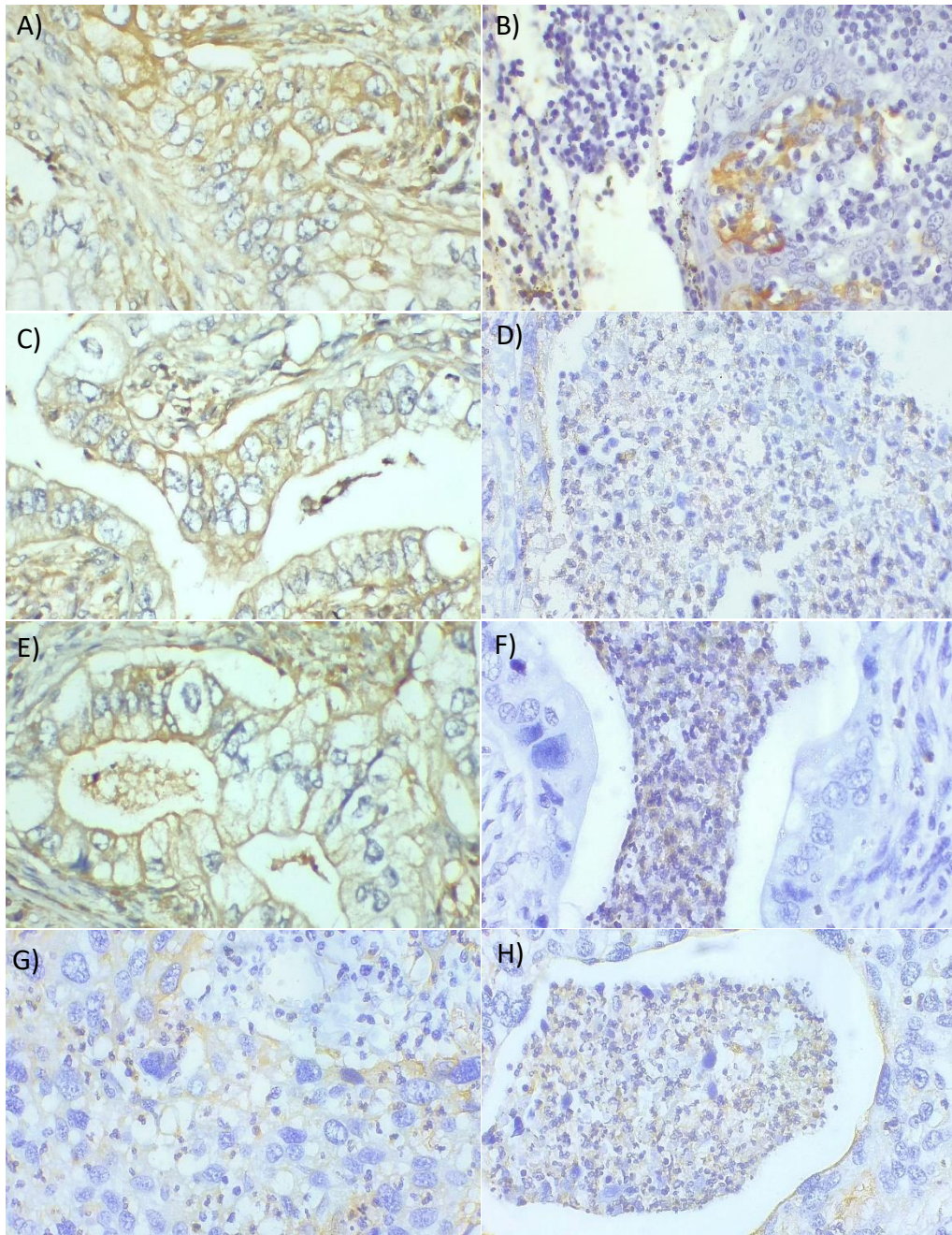


Figura 3: Expresión de PD-L1 en el tumor y el infiltrado inflamatorio de pacientes con adenocarcinoma pulmonar (400X). A) Control de actina (útero) B) Control + PD-L1 (amígdala) C) Tumor hombres D) Infiltrado hombres E) Tumor mujeres premenopáusicas F) Infiltrado mujeres premenopáusicas G) Tumor mujeres postmenopáusicas H) Infiltrado mujeres postmenopáusicas.

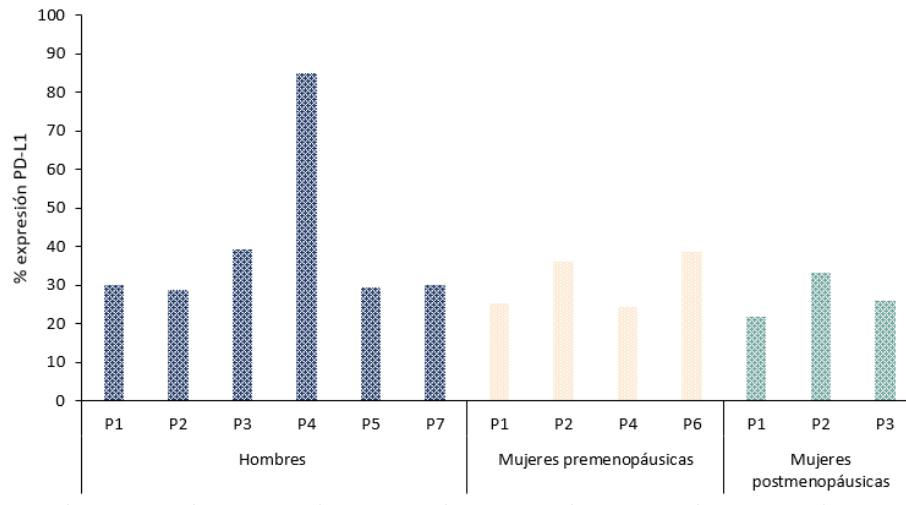


Figura 4: Porcentaje de expresión de PD-L1 por sexo y condición hormonal en pacientes con adenocarcinoma. Encontramos que el porcentaje de expresión de PD-L1, es similar para ambos sexos (exceptuando un paciente masculino con alta expresión) y prácticamente idéntica en mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas.

Para investigar si existía diferencia significativa en el porcentaje de células positivas a PD-L1 por grupo se decidió realizar la prueba estadística de Brown-Forsythe, debido a que la muestra era demasiado pequeña y no presentaba homocedasticidad de varianza, sin embargo, los resultados de esta prueba mostraron que no existen diferencias significativas entre los grupos (Fig. 5).

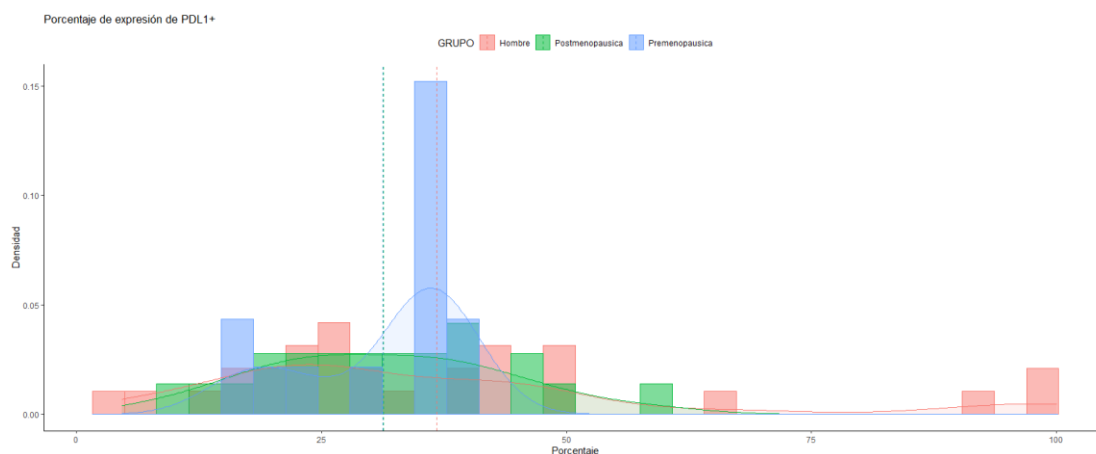


Figura 5: Análisis estadístico del porcentaje de expresión de PD-L1 por sexo y condición hormonal en pacientes con adenocarcinoma. Se encontró que no existen diferencias significativas entre las medias de porcentaje de expresión para PD-L1.

6.3 RELACIÓN ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y EXPRESIÓN DE PD-L1

Por último, se decidió investigar si existía alguna relación entre la expresión de PD-L1 y las condiciones clinicopatológicas de los pacientes para ello se investigaron características como el estadio tumoral, la presencia o ausencia de metástasis, así como el hábito tabáquico (Tabla 2), toda la información fue obtenida del archivo del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

Tabla 2: Características clinopatológicas de los pacientes positivos a PD-L1 con adenocarcinoma pulmonar.

Hombres					
Paciente	TNM	Metastasis	Fuma	Tiempo	Num Cigarros
P1	III		Si	46 años	20 x día
P2		Sin expediente			
P3	IIIB	-	No	N/A	N/A
P4	IIIB	-	Si	30 años	6 x día
P5	IV	Hígado	No	N/A	N/A
P6	IV	Pulmón izquierdo	Si	58 años	10 x día
P7		Sin expediente			

Mujeres premenopáusicas					
Paciente	TNM	Metastasis	Fuma	Tiempo	Num Cigarros
P1	IV	SNC	No	N/A	N/A
P2	IV	Hígado y tiroides	No	N/A	N/A
P3	IV	Mama	Si	16 años	3 x día
P4	IV	Pulmón bilateral	No	N/A	N/A
P5	IV	Cerebro	No	N/A	N/A
P6	IV	-	No	N/A	N/A

Mujeres postmenopáusicas					
Paciente	TNM	Metastasis	Fuma	Tiempo	Num Cigarros
P1	IV	Hígado	No	N/A	N/A
P2	IB	N/A	Si	30 años	20 x día
P3	IB	N/A	No	N/A	N/A

Por último, se procedió a realizar una prueba de Chi-cuadro de Pearson para observar si existía relación entre la expresión de PD-L1 y las características clinicopatológicas de los pacientes con adenocarcinoma pulmonar, de esta manera se encontró que no existe relación entre las variables mencionadas, no obstante, se evidencio que existe una asociación entre los grupos, es decir, hombres, mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas con el estadio tumoral, por ejemplo, las mujeres premenopáusicas tienen mayor probabilidad de encontrarse en estadios IV, las mujeres postmenopáusicas en estadios IB y los hombres tiene casi la misma probabilidad de encontrarse en estadios III y IV (Fig. 6).

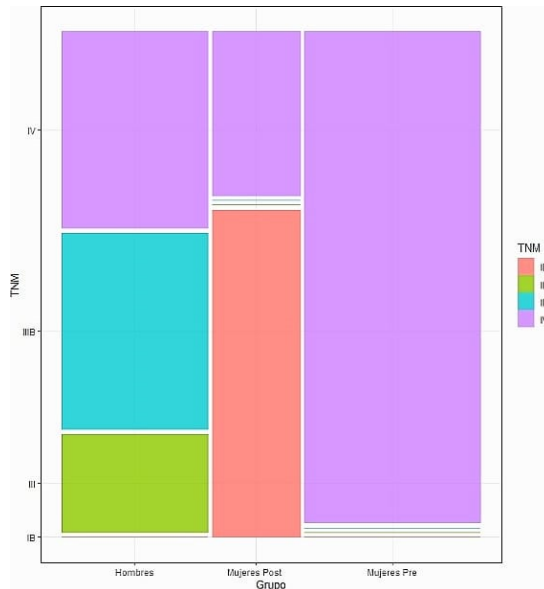


Figura 6: Análisis estadístico de la relación del estadio tumoral y sexo vs condición hormonal en el adenocarcinoma pulmonar. Se empleó la prueba de chi cuadrada de Pearson. Rosa) Estadio IV, Azul) Estadio III, Verde) Estadio II, Naranja) Estadio IB. Encontramos que no existe asociación entre la expresión de PD-L1 vs el estadio tumoral, pero sí entre el sexo y condición hormonal vs el estadio tumoral.

7. DISCUSIÓN

El papel del sexo y las hormonas sexuales en el desarrollo y progresión del adenocarcinoma pulmonar es un tema aún controvertido, sin embargo, en este estudio se observó una relación entre el sexo y el estadio hormonal en la expresión de PD-L1 y podría relacionarse con el desarrollo tumoral. Nuestros resultados muestran que una mayor proporción de hombres expresan PD-L1 en comparación con las mujeres, lo que corrobora los datos previamente reportados por Pinto y Col. en 2018, así mismo, Özdemir y Col. en 2019 menciona que esta diferencia de sexo en la expresión de PD-L1 puede explicar parcialmente el peor pronóstico general de los hombres y una mejor respuesta a los inhibidores del punto de control inmunitario.

Es importante considerar el papel de los andrógenos en la inmunidad tumoral, ya que estas hormonas pueden influir de manera directa y/o indirecta en el sistema inmunológico, generalmente de manera inmunosupresora tanto en el número de células como en su estado de activación (Ben-Batalla, 2020). Por ejemplo, se ha observado que la inyección de células de cáncer de próstata en ratones gonadectomizados mostró un crecimiento tumoral reducido,

sin embargo, al tratar estos ratones con testosterona aumentó dicho crecimiento (Song et al. 2017). Aunado a esto, debemos destacar que, si bien actualmente no hay datos que documenten el papel directo de los andrógenos en los puntos de control inmunitarios, un estudio realizado por Rekoske y Col. en 2016 mostró que el tratamiento combinado de anti-PD-L1 y terapia de privación de andrógenos mejoró las respuestas inmunitarias antitumorales en comparación con la monoterapia en un modelo murino de cáncer de próstata. Así mismo, se han observado niveles más elevados de PD-L1 en líneas celulares de cáncer de próstata resistentes a la enzalutamida (un medicamento anti-androgénico) en comparación con líneas sensibles a dicho medicamento, lo que sugiere un papel de los andrógenos en la expresión de PD-L1 (Bishop et al 2015).

Aunque existen diferencias por sexo en la expresión de PD-L1, el meta-análisis realizado por Wallis y Col. en 2019 no distinguen diferencias significativas en el uso de ICI entre hombres y mujeres, sin embargo, algunos estudios como los realizados por Wu y Col. en 2018, Conforti y Col. en 2018 y Wang et al. 2019 observaron que sí existe diferencia entre estos grupos, no obstante, debemos mencionar que no se toma en cuenta el estadio hormonal de las pacientes lo que podría producir un sesgo, en nuestro trabajo al analizar a las pacientes femeninas divididas por condición hormonal encontramos que su estadio hormonal podría estar implicado en la expresión de PD-L1, ya que observamos que el doble de mujeres premenopáusicas expresa esta proteína en comparación con las mujeres postmenopáusicas, esto es concordante con un estudio realizado por Shen y Col. en 2016 quienes mostraron que el estadio menopaúsico afecta la expresión de PD-L1 en células del aparato reproductor femenino, siendo mayor en mujeres premenopáusicas. Así mismo, se ha observado que los estrógenos promueven la expresión de PD-L1 en otras neoplasias, por ejemplo, Yang y Col. en 2017 mencionan que el 17- β Estradiol (E_2) aumenta la expresión de PD-L1 en células de carcinoma mamario y endometrial a través de vías como PI3K/AKT, esto es concordante con el estudio publicado por Wang y Col. en 2021 quienes sugieren que el E_2 podría mejorar la expresión de PD-L1 a través de la vía ERK en el cáncer mamario. Por otro lado, se ha observado que el E_2 aumenta significativamente la expresión de PD-L1 en células B durante la esclerosis múltiple en mujeres embarazadas (Bodhankar y Col. 2011).

Por otra parte, conviene destacar que las pacientes femeninas premenopáusicas incluidas en este estudio mostraron estadios tumorales más avanzados, lo que es congruente con lo reportado por Rodríguez-Lara y Col. en 2014 quienes mencionan que el 85% de las pacientes premenopáusicas estudiadas se encontraban en estadios IV, por otra parte, Hsu y Col. en 2015 observaron que el E₂ promueve la migración de las células tumorales pulmonares a través el ER-β, y que dicho efecto se inhibe con el uso de un antagonista de ER. Así mismo, Hershberger y Col. en 2005 reportaron que el E₂ promueve la proliferación de células de NSCLC a través de la señalización de vías como cAMP, MAPK y AKT.

Como se mencionó anteriormente, las mujeres postmenopáusicas presentaron una menor expresión de PD-L1 en comparación con las mujeres premenopáusicas, esto es congruente por lo reportado por Botti y Col. en 2017 quienes observaron una correlación inversa en la expresión de PD-L1 y el estado menopáusico en pacientes femeninas con cáncer de mama triple negativo, de esta manera encontraron que las mujeres postmenopáusicas expresan menos PD-L1 en comparación con las mujeres premenopáusicas. Es importante mencionar que la disminución en la expresión de PD-L1 en las pacientes postmenopáusicas es probable que se deba a la disminución de los niveles hormonales en su organismo, de hecho, esto es señalado por Shen y Col. en 2016 quienes observaron que la expresión de PD-L1 en el aparato reproductor femenino fue mayor en mujeres premenopáusicas en comparación con mujeres postmenopáusicas infiriendo que las fluctuaciones hormonales son las causantes de este efecto.

Debido a la controversia que existe sobre la expresión de PD-L1 por sexo, así como a la falta de estudios que determinen si la expresión de esta proteína difiere debido al estadio hormonal de los pacientes con adenocarcinoma pulmonar, es importante continuar con investigaciones que ayuden a dilucidar dichos sesgos.

8. CONCLUSIÓN

Con base en los resultados obtenidos en este estudio podemos concluir que el cáncer pulmonar es una enfermedad que se manifiesta de forma diferente tanto en hombres como en mujeres y se ve afectado por el estadio hormonal de los pacientes, por lo que se deben tomar en cuenta estos factores para su pronóstico y tratamiento. Los resultados en esta cohorte de pacientes mostraron que la expresión de PD-L1 en el adenocarcinoma pulmonar es diferente por sexo y también por condición hormonal siendo mayor en los hombres, seguido por las mujeres premenopáusicas y la menor expresión fue detectada en las mujeres postmenopáusicas. Debido a que la mayor parte de los estudios investigan solo el efecto del sexo en el cáncer pulmonar y consideran sólo al grupo de hombres y mujeres, el efecto hormonal queda diluido entre la población de mujeres que predominantemente corresponde a postmenopáusicas, sin embargo, pudimos observar que hay un efecto hormonal también en la expresión de PD-L1, lo cual es interesante y nuestros datos sugieren por primera vez que PD-L1 puede estar influenciado por las hormonas sexuales en el adenocarcinoma pulmonar. Esto podría ser considerado un dato importante en el pronóstico y respuesta a la inmunoterapia.

Así mismo, las investigaciones clínicas posteriores deberían tomar en cuenta el estadio hormonal de las pacientes femeninas, ya que de no hacerlo se podría generar un sesgo en los resultados de las terapias de punto de control inmunitario, debido a que en su mayoría las pacientes que son diagnosticadas con cáncer pulmonar se encuentran en edades avanzadas, es decir, dentro del grupo de mujeres postmenopáusicas las cuales expresan menos PD-L1, por lo que se ven menos beneficiadas en comparación con los hombres. No obstante, sugerimos realizar un estudio con mayor tamaño de muestra en el que se incluya la misma cantidad de hombres, mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas, así como tomar en cuenta otros factores tales como el desarrollo de eventos adversos relacionados con el uso de inhibidores de punto de control inmunitarios ya que ningún estudio ha considerado si estos eventos puedan ocurrir de manera diferente en hombres y mujeres.

9. REFERENCIAS

1. Afshar, N. English, DR. Thursfield, V. Mitchell, PL. Te, ML. Farrugia, H. Giles, GG. y Milne, RL. (2018). Differences in cancer survival by sex: a population-based study using cancer registry data. *Cancer Causes Control*, 29 (11), 1059–1069.
2. Alberg, AJ. y Samet, JM. (2003). Epidemiology of lung cancer. *Chest*, 123(1), 21-49.
3. Arguedas-López, J. Rodríguez-Paredes, C. y Carpio-Contreras, M. (2019). Cáncer de pulmón. *Acta Académica*, 65(1), 37-64.
4. Arroyo-Hernández, M. Zinser-Sierra, JW y Vázquez-García, JC. (2019) Detección temprana de cáncer de pulmón en México. *Salud Pública de México*. 61(3), 347-351.
5. Bae, J. y Kim, E. (2015). Human papillomavirus infection and risk of lung cancer in never-smokers and women: an ‘adaptive’ meta-analysis. *Epidemiology and Health*. 37(1).
6. Barta, J.A. Powell, C.A. y Wisnivesky, J.P. (2019). Global epidemiology of lung cancer. *Annals of global health*, 85(1), 8.
7. Bhatia, A. Sekhon, H. y Kaur, G. (2014). Sex hormones and immune dimorphism. *The Scientific World Journal* 1(1), 159150.
8. Beasley, M. Brambilla, E. Travis, W. (2005). The 2004 World Health Organization classification of lung tumors. *Seminars Roentgenology*, 40(2), 90-7.
9. Ben-Batalla, I. Vargas-Delgado, ME. Von-Amsberg, G. Janning, M. y Loges, S. (2020). Influence of Androgens on Immunity to Self and Foreign: Effects on Immunity and Cancer. *Frontiers in immunology*, 11, 1184.
10. Bishop, J. Sio, A. Angeles, A. Roberts, M. Azad, A. Chi, K. y Zoubeydi, A. (2015). PD-L1 is highly expressed in Enzalutamide resistant prostate cancer. *Oncotarget*, 6(1), 234–242.
11. Blandin Knight, S. Crosbie, PA. Balata, H. Chudziak, J. Hussell, T. y Dive, C. (2017). Progress and prospects of early detection in lung cancer. *Open biology*, 7(9), 170070.
12. Blank, C. Kuball, J. Voelkl, S. Wiendl, H. Becker, B. Walter, B. y Mackensen, A. (2006). Blockade of PD-L1 (B7-H1) augments human tumor-specific T cell responses in vitro. *International journal of cancer*, 119(2), 317-327.

13. Bodhankar, S. Wang, C. Vandenbark, A. y Offner, H. (2011). Estrogen-induced protection against experimental autoimmune encephalomyelitis is abrogated in the absence of B cells. *European Journal of Immunology*, 41 (4), 1165–1175.
14. Botti, G. Collina, F. Scognamiglio, G. Rao, F. Peluso, V. De Cecio, R., y Di Bonito, M. (2017). Programmed death ligand 1 (PD-L1) tumor expression is associated with a better prognosis and diabetic disease in triple negative breast cancer patients. *International journal of molecular sciences*, 18(2), 459.
15. Brenner, D. McLaughlin, J. y Hung, R. (2011). Previous lung diseases and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 6(3).
16. Clark, S. y Alsubait, S. (2021). Non Small Cell Lung Cancer en *StatPearls*. Treasure Island.
17. Chen, DS. y Mellman, I. (2013). Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*, 39(1), 1-10.
18. Conforti, F. Pala, L. Bagnardi, V. De Pas, T. Martinetti, M. Viale, G. y Goldhirsch, A. (2018). Cancer immunotherapy efficacy and patients' sex: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Oncology*, 19(6), 737-746.
19. Cook, MB. McGlynn, KA. Devesa, SS. Freedman, ND. y Anderson, WF. (2011). Sex disparities in cancer mortality and survival. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 20(8), 1629-1637.
20. Corrales, L. Rosell, R. Cardona, A. Martin, C. Zatarain-Barrón, Z. y Arrieta, O. (2020). Lung cancer in never smokers: The role of different risk factors other than tobacco smoking. *Critical Reviews in Oncology Hematology*, 148(1).
21. Cruz, V. Velázquez, F. Rodrigues, B. y Torres, E. (2021). Caracterización clínico-epidemiológica de pacientes con cáncer de pulmón de células grandes en el Centro Oncológico de Holguín. *Revista Estudiantil HolCien*, 2(3).
22. De Matteis, S. Consonni, D. Lubin, J. Tucker, M. Peters, S. Vermeulen, R. Kromhout, H. Bertazzi, P. Caporaso, N. Pesatori, A. Wacholder, S. y Landi, M. (2012). Impact of occupational carcinogens on lung cancer risk in a general population. *International Journal of Epidemiology*, 41(3), 711-721.
23. Duma N, Abdel-Ghani, A., Yadav, S., Hoversten, KP, Reed, CT, Sitek, AN, Enninga, E., Paludo, J., Aguilera, JV, Leventakos, K., Lou, Y., Kottschade, LA, Dong, H.,

- Mansfield, AS, Manochakian, R., Adjei, AA y Dronca, RS. (2019). Sex Differences in tolerability to anti-programmed cell death protein 1 therapy in patients with metastatic melanoma and non-small cell lung cancer: are we all equal? *Oncologist*, 24(1), 1148-1155.
24. Dratva, J. Real, F. Schindler, C. Ackermann-Liebrich, U. Gerbase, M. Probst-Hensch, N. y Zemp, E. (2009). Is age at menopause increasing across Europe? Results on age at menopause and determinants from two population-based studies. *Menopause*, 16(2), 385-394.
25. Fei, Y. Yang, J. Hsieh, W. Wu, J. Wu, T. Goan, YG. Lee, H. Cheng, YW. (2006). Different human papillomavirus 16/18 infection in Chinese non-small cell lung cancer patients living in Wuhan China. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 36(1), 274-279.
26. Figueroa, C. Fernández-Plata, R. Rivera-de la Garza, M. Mora-Pizano, M. Martínez-Briseño, D. Franco-Marina, F. y Pérez-Padilla, J. (2012). Humo de leña como factor de riesgo de cáncer pulmonar en población hospitalizada no fumadora. *Neumología y Cirugía de Tórax*, 71(4), 325-332.
27. Francisco, LM. Sage, PT. y Sharpe, AH. (2010). The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunological reviews*, 236(1), 219-242.
28. Ghosh, S. y Klein, RS. (2017). Sex drives dimorphic immune responses to viral infections. *The journal of immunology*, 198(5), 1782-1790.
29. GLOBOCAN 2020. Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer. OMS 2020.
30. Goldstraw, P. Chansky, K. Crowley, J. Rami-Porta, R. Asamura, H. Eberhardt, WE. Nicholson, AG. Groome, P. Mitchell, A. Bolejack, V. (2016). International Association for the Study of Lung Cancer Staging and Prognostic Factors Committee, Advisory Boards, and Participating Institutions; International Association for the Study of Lung Cancer Staging and Prognostic Factors Committee Advisory Boards and Participating Institutions. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, 11(1):39-51.

31. Goss, P. Strasser-Weippl, K. Lee-Bychkovsky, B. (2014). Challenges for effective cancer control in China, India, and Russia. *The Lancet Oncology*, 15 (5), 489–538.
32. Ha, D. Choi, H. Zell, K. Raymond, DP. Stephans, K. Wang, XF. Videtic, G. McCarthy, K. Minai, OA. y Mazzone, PJ. (2015). Association of impaired heart rate recovery with cardiopulmonary complications after lung cancer resection surgery. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 149(4), 1168-1173.
33. Ha, D. Ries, AL. Mazzone, PJ. Lippman, SM. y Fuster, MM. (2018). Exercise capacity and cancer-specific quality of life following curative intent treatment of stage I–IIIA lung cancer. *Supportive Care in Cancer*, 26(7), 2459-2469.
34. Hershberger, P. Vasquez, A. Kanterewicz, B. Land, S. Siegfried, J. y Nichols, M. (2005). Regulation of endogenous gene expression in human non–small cell lung cancer cells by estrogen receptor ligands. *Cancer research*, 65(4), 1598-1605.
35. Hanahan, D. y Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57-70.
36. Hsu, L. Liu, K. Tsai, M. Wu, C. Feng, A. Chu, N. y Kao, S. (2015). Estrogen adversely affects the prognosis of patients with lung adenocarcinoma. *Cancer science*, 106(1), 51-59.
37. Hyde, Z. Flicker, L. McCaul, K. Almeida, O. Hankey, G. Chubb, S. y Yeap, B. (2012). Associations between testosterone levels and incident prostate, lung, and colorectal cancer. A population-based study. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 21(8), 1319-1329.
38. International Agency for Research on Cancer (IARC). (2010). Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, vol. 95. Household.
39. International Agency for Research on Cancer (IARC). (2014). Diesel and gasoline engine exhaust and some nitroarenes. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans , vol. 46.
40. International Agency for Research on Cancer (IARC). (2020). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans , vol. 56.
41. Jiménez, A. (2011). Cáncer de pulmón y citocinas: variantes clínicas y genéticas. (Tesis doctoral) Universidad de Salamanca, España.
42. Keikha, M. y Esfahani, B. (2018). The relationship between tuberculosis and lung cancer. *Advanced biomedical research*, 7(1): 58.

43. Kirk, G. Merlo, C. y Driscoll, P. (2007). HIV infection is associated with an increased risk of lung cancer, regardless of smoking. *Clinical Infectious Diseases*, 45(1), 103-110.
44. Klein, S. (2012). Sex influences immune responses to viruses, and efficacy of prophylaxis and treatments for viral diseases. *Bioessays*, 34(12), 1050-1059.
45. Klein, S. y Flanagan, K. (2016). Sex differences in immune responses. *Nature Reviews Immunology*, 16(10), 626-638.
46. Kunimasa, K. y Goto, T. (2020). Immunosurveillance and immunoediting of lung cancer: current perspectives and challenges. *International journal of molecular sciences*, 21(2), 597.
47. Kurmi, O. Arya, P. Lam, K. Sorahan, T. y Ayres, J. Lung cancer risk and exposure to solid fuel smoke: a systematic review and meta-analysis. (2012). *European respiratory journal*, 40 (5), 1228-1237.
48. Lanzino, M. Sisci, D. Morelli, C. Garofalo, C. Catalano, S. Casaburi, I. Capparelli, C. Giordano, C. Giordano, F. Maggiolini, M. y Andò, S. (2010). Inhibition of cyclin D1 expression by androgen receptor in breast cancer cells--identification of a novel androgen response element. *Nucleic acids research*, 38(16), 5351-5365.
49. Liao, CS. Mogan, P. y Thomas, W. (2021). The actions of estrogens necessary to the specific risks of the female gender in the development of lung carcinoma. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 208, 105786.
50. Maasberg, M. Rotsch, M. Jaques, G. Enderle-Schmidt, U. Weehle, R. y Havemann, K. (1989). Androgen receptors, androgen-dependent proliferation, and 5 α -reductase activity of small-cell lung cancer cell lines. *International journal of cancer*, 43(4), 685-691.
51. Márquez-Garbán, D. Chen, H. Goodglick, L. Fishbein, M. y Pietras, R. (2009). Targeting aromatase and estrogen signaling in human non-small cell lung cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1155, 194-205.
52. Márquez-Garban, D. Mah, V. Alavi, M. Maresh, E. Chen, H. Bagryanova, L. Horvath, S. Chia, D. Garon, E. Goodglick, L. y Pietras, R. (2011). Progesterone and estrogen receptor expression and activity in human non-small cell lung cancer. *Steroids*, 76 (9), 910-920.

53. Moulton, VR. (2018). Sex hormones in acquired immunity and autoimmune disease. *Frontiers in immunology*, 9(1), 2279.
54. Musial, C. Zaucha, R. Kuban-Jankowska, A. Konieczna, L. Belka, M. Marino Gammazza, A. Baczek, T. Cappello, F. Wozniak, M. y Gorska -Ponikowska, M. (2021). Plausible role of estrogens in the pathogenesis, progression, and treatment of lung cancer. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18 (2), 648.
55. NORMA Oficial Mexicana NOM-035-SSA2-2002, Prevención y control de enfermedades en la perimenopausia y postmenopausia de la mujer. Diario Oficial de la Federación, México, 18 de Septiembre de 2003.
56. Niikawa, H. Suzuki, T. Miki, Y. Suzuki, S. Nagasaki, S. Akahira, J. y Sasano, H. (2008). Intratumoral estrogens and estrogen receptors in human non–small cell lung carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 14(14), 4417-4426.
57. O'Connell, TJ, Dadafarin, S., Jones, M., Rodríguez, T., Gupta, A., Shin, E., Moscatello, A., Iacob, C., Islam, H., Tiwari, RK, Y Geliebter, J. (2021). Androgen activity is associated with PD-L1 downregulation in thyroid cancer. *Front. Cell Dev. Biol.* 9, 663130.
58. Oton, A. Cai, C. Owonikoko, T. Gooding y W. Siegfried, J. (2006). Comparison of survival for non-small cell lung cancer (NSCLC) between premenopausal and postmenopausal women: An analysis of the National Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Database. *Journal of Clinical Oncology*. 24(18), 7030-7038.
59. Özdemir, B. y Dotto, G. (2019). Sex Hormones and Anticancer Immunity. *Clinical Cancer Research*, 25(15), 4603-4610.
60. Pefaur, D. (2013). Imaginología actual del cáncer pulmonar. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 24(1), 44-53.
61. Pinto, JA. Vallejos, CS. Raez, LE. Mas, LA. Ruiz, R. Torres-Roman, JS. Morante, Z. Araujo, JM. Gómez, HL. Aguilar, A. Bretel, D. Flores, CJ. y Rolfo, C. (2018). Gender and outcomes in non-small cell lung cancer: an old prognostic variable comes back for targeted therapy and immunotherapy? *European Society for Medical Oncology's Open*, 3(3).

62. Polanczyk, MJ. Hopke, C. Vandembark, AA. y Offner, H. (2017). Treg suppressive activity involves estrogen-dependent expression of programmed death-1 (PD-1), *International Immunology*, 3, 37-343.
63. Pujol, J. Pirker, R. Lynch, T. Butts, C. Rosell, R. Shepherd, F. Vansteenkiste, J. O'Byrne, K. De Blas, B. Heighway, J. Von Heydebreck, A. y Thatcher, N. (2014). Meta-analysis of individual patient data from randomized trials of chemotherapy plus cetuximab as first-line treatment for advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 83 (2), 211-218.
64. Rekoske, B. Olson, B. y McNeel, D. (2016). Antitumor vaccination of prostate cancer patients elicits PD-1/PD-L1 regulated antigen-specific immune responses. *Oncoimmunology*, 5(6) e1165377.
65. Rodriguez-Lara, V. Peña-Mirabal, E. Baez-Saldaña, R. Esparza-Silva, A. García-Zepeda, E. Cervantes, M. y Fortoul, T. I. (2014). Estrogen receptor beta and CXCR4/CXCL12 expression: differences by sex and hormonal status in lung adenocarcinoma. *Archives of medical research*, 45(2), 158-169.
66. Rothenberger, N. Somasundaram, A. y Stabile, L. (2018). The Role of the Estrogen Pathway in the Tumor Microenvironment. *International journal of molecular sciences*, 19(2), 611.
67. Ruiz, A. Gómez, I. Rubio, C. Revert, C. y Hardisson, A. (2004). Efectos tóxicos del tabaco. *Revista de Toxicología*, 21(2), 64-71.
68. Salvatierra, A. Cano, J. Moreno Casado, P. Espinosa Jiménez, D. y Illana Wolf, J. (2010). Cáncer de pulmón. Estadificación. *Soto Campos JG. Manual de Diagnóstico y Terapéutica en Neumología*, tercera edición (p. 603 - 618).
69. Schabath, M. y Cote, M. (2019). Cancer Progress and Priorities: Lung Cancer. *Cancer prevention and epidemiology biomarkers*, 28 (10), 1563-1579.
70. Shen, Z. Rodríguez-García, M. Patel, M. Barr, F. y Wira, C. (2016). Menopausal status influences the expression of programmed death (PD)-1 and its ligand PD-L1 in immune cells of the human female reproductive tract. *American Journal of Reproductive Immunology*, 76(2), 118-125.

71. Siddaraju N. (2017). Minimalistic immunohistochemical approach to non-small cell carcinoma of the lung in small biopsies in the context of the 2015 WHO Classification of Lung Cancer. *The Indian journal of medical research*, 146(1), 8–10.
72. Sigel, K. Makinson, A. y Thaler, J. (2017). Cáncer de pulmón en personas con VIH. *Opinión actual sobre el VIH y el SIDA*, 12 (1), 31-38.
73. Song, W. Soni, V. Soni, S. y Khera, M. (2017). Testosterone inhibits the growth of prostate cancer xenografts in nude mice. *BMC Cancer*, 17 (1), 635.
74. Spence, RD. y Voskuhl, RR. (2012). Neuroprotective effects of estrogens and androgens in CNS inflammation and neurodegeneration. *Fronteras en neuroendocrinología*, 33 (1), 105-115.
75. Straif, K. Benbrahim-Tallaa, L. Baan, R. Grosse, Y. Secretan, B. El Ghissassi, F. Bouvard, V. Guha, N. Freeman, C. Galichet, L. Cogliano, V. y WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. (2009). A review of human carcinogens--Part C: metals, arsenic, dusts, and fibres. *Lancet Oncology*, 10(5), 453-454.
76. Wang, T. Jin, J. Qian, C. Lou, J. Lin, J. Xu, A. Xia, K. Jin, L. Liu, B. Tao, H. Yang, Z. y Yu, W. (2021). Estrogen/ER in anti-tumor immunity regulation to tumor cell and tumor microenvironment. *Cancer cell international*, 21(1), 295.
77. Wang, F. Wang, S. y Zhou, Q. (2020). The Resistance Mechanisms of Lung Cancer Immunotherapy. *Frontiers in oncology*, 10, 2141.
78. Wheatley-Price P, Le Maître A, Ding K, Leighl N, Hirsh V, Seymour L, Bezjak A, Shepherd FA (2010). NCIC Clinical Trials Group. The influence of sex on efficacy, adverse events, quality of life, and delivery of treatment in National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group non-small cell lung cancer chemotherapy trials. *J Thorac Oncol*, 5(5):640-8.
79. Wang, C. Qiao, W. Jiang, Y. Zhu, M. Shao y J. Ren, P. (2019). Effect of sex on the efficacy of patients receiving immune checkpoint inhibitors in advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Medicine*. 8(8):4023–4031
80. Wallis, C. Butaney, M. Satkunasivam, R. Freedland, S. Patel, S. Hamid, O. y Klaassen, Z. (2019). Association of patient sex with efficacy of immune checkpoint

- inhibitors and overall survival in advanced cancers: a systematic review and meta-analysis. *JAMA oncology*, 5(4), 529-536.
81. Wu, Y. Ju, Q. Jia, K. Yu, J. Shi, H. Wu, H. (2018). Correlation between sex and efficacy of immune checkpoint inhibitors (PD-1 and CTLA-4 inhibitors). *International Journal of cancer*. 143(1):45–51.
82. Xing, P. Zhu, Y. Wang, L. Hui, Z. Liu, S. Ren, J. Zhang, Y. Song, Y. Liu, C. C. Huang, Y. Liao, X. Xing, X. Wang, D. Yang, L. Du, L. Liu, Y. Zhang, Y. Liu, Y. Wei, D. Zhang, K. (2019). What are the clinical symptoms and physical signs for non-small cell lung cancer before diagnosis is made? A nation-wide multicenter 10-year retrospective study in China. *Cancer medicine*, 8(8), 4055–4069.
83. Xiong, WM. Xu, QP. Li, X. Xiao, RD. Cai, L. y He, F. (2017). The association between human papillomavirus infection and lung cancer: a system review and meta-analysis. *Oncotarget*, 8(56), 419–432.
84. Yang, L. Huang, F. Mei, J. Wang, X. Zhang, Q. Wang, H. Xi, M. y You, Z. (2017). Post-transcriptional control of PD-L1 expression by 17 β -estradiol via the PI3K/Akt signaling pathway in ER α -positive cancer cell lines. *International Journal of Gynecological Cancer*. 27 (2), 196–205.
85. Yuan, M. Huang, L. Chen, J. Wu, J. y Xu, Q. (2019). The emerging treatment landscape of targeted therapy in non-small-cell lung cancer. *Signal transduction and targeted therapy*, 4, 61.
86. Zhang, Y. Yuan, J. Wang, K. Fu, X. Han, X. Threapleton, D. y Tang, J. (2016). The prevalence of EGFR mutation in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*, 7(48), 78985–78993.