



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DE SONORA
DR ERNESTO RAMOS BOURS

T E S I S

**EXPRESIÓN DEL LIGANDO 1 DE MUERTE CELULAR PROGRAMADA
(PD-L1) EN EL CARCINOMA INFILTRANTE NST SUBTIPO TRIPLE
NEGATIVO DIAGNOSTICADOS EN EL HOSPITAL GENERAL DEL
ESTADO “DR. ERNESTO RAMOS BOURS”**

**QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD DE
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

PRESENTA:
ANGULO SÁNCHEZ CÉSAR ORLANDO

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: David Romo Montaña
COMITÉ TUTOR: Juan Arcadio Molina Guarneros
Luis Roberto Olivas Román

Hermosillo, Sonora; 22 de Junio de 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

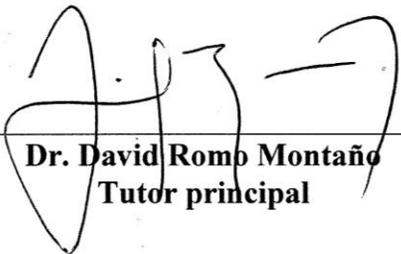
**HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DR. ERNESTO RAMOS BOURS
VOTO APROBATORIO DEL COMITÉ DE TESIS**

Hermosillo Sonora a 22 de junio del 2022

**DR. RICARDO G. CERVANTES LEÓN
DIVISIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN; HOSPITAL GENERAL DEL
ESTADO DR. ERNESTO RAMOS BOURS**

A/A: COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

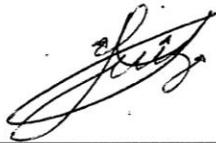
Por medio de la presente hacemos constar que hemos revisado el trabajo del médico residente de tercer año: César Orlando Angulo Sánchez de la especialidad de Anatomía patológica. Una vez revisado el trabajo y tras la evaluación del proyecto por medio de seminarios hemos decidido emitir nuestro **voto aprobatorio** para que el sustentante presente su investigación en su defensa de examen y pueda continuar con su proceso de titulación para obtener su grado de médico especialista.



Dr. David Romo Montaña
Tutor principal



Dr. Juan Arcadio Molina Guarneros
Asesor de tesis



Dr. Luis Roberto Olivas Román
Asesor de tesis

DEDICATORIA

A mi pareja Nadia Melissa, que estuvo conmigo estos 3 años en Hermosillo apoyándome en los momentos más difíciles y en mis días de estrés, conocí lo bello que es compartir con alguien que amas la vida y que te hace ver las cosas de la forma más positiva. Te amo para siempre.

A mi padre que me motivo hasta en los momentos más difíciles para él, quiero ser como tú. A mi madre, la mujer más fuerte que conozco y mi mejor amiga, gracias por siempre estar a mi lado cerca y lejos, para platicar de nuestro día. A mis hermanas, Yazaray y Fátima las admiro por lo que son y por lo que serán, yo sigo aquí para que ustedes no tengan excusas de dejar de luchar y ser mejores de lo que hoy son. Los amo mucho, gracias por todo.

A mis segundos padres Eudelia Treviño y Fortino Asunción me cuidaron, apoyaron y de vez en cuando me solaparon mis llegadas a las 6 am, a mis tíos Iván Emmanuel, Elizabeth Sánchez y Roberto Zurita gracias por siempre estar ahí, a lo largo de todos mis años, me cuidaron, protegieron y dieron días de alegría. Además de toda mi familia (Padrinos, tíos, abuelos) que siempre estuvieron al pendiente de mí. A mis suegros les agradezco por el apoyo otorgado estando lejos de casa.

A mis asesores de tesis y maestros, Dr. Romo, Dr. Olivas y Dr. Juan Molina, especial agradecimiento por el tiempo invertido en mí.

Mis maestros y guías en estos tres años, Dr. Cordero, Dra. Zamudio, Dr. Platt, Dr. Romo, Dr. Olivas y Dra. Corral, me llevo grandes aprendizajes de cada uno.

A mis compañeros de patología que se volvieron parte de mi familia, Alberto Segoviano, Fernando Guevara, Lizeth López y Alfredo López, tenemos más latas de cerveza abiertas que laminillas revisadas. Pues los R1 se perdieron de estar en esta tesis por renunciar.

El servicio de patología que me acogió, Sary, Marylolis, Sandra, Nattalia, Cinthya, gracias por las pláticas y amistad.

Agradezco al químico Omar del servicio de patología por haber realizado las tinciones de inmunohistoquímica y por ser un gran amigo aquí en Sonora.

Agradezco al M. en C. Adiel Ortega Ayala, Técnico académico asociado "A" T. C. del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina, UNAM, haber realizado el análisis estadístico de la presente tesis.

A Dios porque le pedí que me concediera salud a mi familia y por darme la dicha de tener a mis padres en estos momentos tan importantes.

ÍNDICE

RESUMEN.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	10
OBJETIVOS.....	12
OBJETIVO GENERAL	12
OBJETIVOS PARTICULARES	12
HIPÓTESIS CIENTÍFICA	13
MARCO TEÓRICO	14
MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	40
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
CONCLUSIONES.....	71
LITERATURA CITADA	72
ANEXOS	77

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El carcinoma ductal infiltrante (CDI) también conocido como carcinoma invasivo de ningún tipo especial (NST por sus siglas en inglés), es la neoplasia epitelial más frecuente en mujeres mayores de 20 años, el subtipo inmunohistoquímico triple negativo (RE-, RP- y HER2 negativo) es de peor pronóstico, con mayor riesgo de recurrencia y riesgo de metástasis, al no contar con terapia dirigida los tratamientos y pronósticos son inespecíficos. Actualmente se ha estudiado la realización inmunohistoquímica con el anticuerpo Ligando 1 de muerte programada (PD-L1), el cual se encuentra estrechamente relacionada con el microambiente tumoral y linfocitos citotóxicos, encargados del reconocimiento y eliminación de células tumorales, se ha observado como vía de tratamiento.

OBJETIVO: Determinaremos la frecuencia de positividad del PD-L1 en los carcinomas infiltrantes NST subtipo triple negativo y su relación con las características clínico-patológicas.

MATERIAL Y METODOS: Estudio observacional, retrospectivo, transversal y analítico, realizado en el Hospital General del Estado “Dr. Ernesto Ramos Bours”, en 59 pacientes con diagnóstico de CI-NST subtipo triple negativo, realizándose la tinción de inmunohistoquímica del anticuerpo PD-L1 (Clon CAL10 Biocare) considerándose positiva en células tumorales y células inflamatorias tomándose con una tinción >1% y analizándose la asociación de las características clínicas e histopatológicas.

RESULTADOS: La positividad de PD-L1 en células tumorales (N:29 casos) y células inflamatorias (N:33) encontrándose relación con un grado histológico alto, porcentaje alto de infiltrado linfocítico tumoral y calcificaciones.

CONCLUSIÓN: La positividad de PD-L1 se presentó en >50% de los casos de CI-NST triple negativo, tanto en células tumorales y células inflamatorias, encontrándose asociación con un grado histológico alto, TIL´s elevados y microcalcificaciones.

INTRODUCCIÓN

El carcinoma ductal infiltrante, también conocido como carcinoma invasivo de ningún tipo especial (no special type NST por sus siglas en inglés) se ha convertido en México un problema de salud, siendo el estado de Sonora uno de los estados con más alta de mortalidad en todo el país (Sánchez et al., 2017). El subtipo triple negativo se considera el de peor pronóstico por la falta de tratamiento específico; actualmente se ha reportado la positividad de PD-L1, para el uso de terapias dirigidas. (Al-Jussani et al., 2021).

PD-L1 (Ligando de muerte programada 1) es una proteína transmembrana que ayuda al cáncer a evadir la respuesta inmune normal; siendo reconocido como algo normal. PD-1 / PD-L1 juega un papel vital en la mayoría de los cánceres, por lo que es un área clave para futuras investigaciones. A partir de los datos descritos, PD-1 / PD-L1 es una oportunidad y un desafío para el tratamiento del cáncer. Un gran número de cánceres sólidos exhiben una mayor expresión de PD-1 / PD-L1, los inhibidores dirigidos a PD-1 / PD-L1 serán responsables del tratamiento del cáncer. Desde mayo de 2006, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) ha aprobado seis inhibidores de puntos de control inmunitarios para la vía PD-1/PD-L1, incluidos tres para PD-1 (pembrolizumab, nivolumab y cemiplimab) y tres para PD-L1 (atezolizumab, avelumab y durvalumab) (Ai et al., 2020).

La inmunoterapia es un tratamiento prometedor que puede generar mayores beneficios de supervivencia para algunos pacientes. Las ventajas de la inmunoterapia basada en bloqueos de PD-1 / PD-L1 para varios tumores como el carcinoma de pulmón, melanoma y linfomas parecen ser el siguiente paso lógico (Han et al., 2020).

El servicio de Anatomía Patológica del Hospital General del Estado es centro de referencia del Centro Estatal de Oncología, con gran cantidad de pacientes diagnosticadas con carcinoma infiltrante NST de mama subtipo triple negativo, actualmente realizando cuatro anticuerpos de inmunohistoquímica (RE, RP, Her2 y Ki67) para determinar el subtipo inmunohistoquímico y la probabilidad de respuesta a terapia dirigida, la realización de PD-L1 apoyaría el uso de inhibidores anti PD-L1.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Los carcinomas de mama subtipo triple negativo (CMTN) son negativos para inmunohistoquímica para el receptor de estrógeno (-), receptor de progesterona (-) y Her2, son los de peor pronóstico y peor respuesta a los tratamientos actuales. En la actualidad el tratamiento de cáncer de mama está dirigido por la positividad o negatividad de los marcados de inmunohistoquímica o estudios moleculares. El tamoxifeno se usó inicialmente como tratamiento para todos los cánceres de mama, pero luego se reconoció que solo los pacientes con tumores que expresan receptores hormonales se benefician del tamoxifeno. La introducción de la terapia con trastuzumab (Herceptin) destacó la importancia de identificar tumores con HER2neu (HER2) amplificado o sobreexpresado (Dent et al., 2007).

Hasta la fecha, la quimioterapia sigue siendo la única opción terapéutica sistémica para el CMTN en el entorno adyuvante o metastásico y varios ensayos de quimioterapia están en curso. El pronóstico después de la quimioterapia estándar sigue siendo malo, incluso para el CMTN pequeño con ganglios linfáticos negativos (Rakha & Chan, 2011).

El desarrollo de biomarcadores que predicen la respuesta y la resistencia a la terapia y la identificación de modificadores ambientales de la inmunidad (el microbioma, los parámetros metabólicos, hormonales y la terapia farmacológica concurrente) son áreas de creciente investigación (Emens, 2018). El uso del anticuerpo PD-L1, podría considerarse dentro del panel básico de inmunohistoquímica para las pacientes con cáncer de mama triple negativo, ya que podría establecer un punto de partida para el uso de inmunoterapia anti-PD-L1.

El servicio de anatomía patológica del Hospital General del Estado “Dr. Ernesto Ramos Bours, dispone de una gran cantidad de casos diagnosticados de carcinoma infiltrante NST

subclasificados con los anticuerpos de inmunohistoquímica para receptor de estrógeno, receptor de progesterona, Her2 y Ki67, teniendo gran cantidad de casos subtipo triple negativo. Con base a los enunciados esta investigación plantea la siguiente pregunta:

¿Existe asociación entre la expresión de PD-L1 y las características clínico-patológicas en mujeres con diagnóstico de carcinoma infiltrante NST subtipo inmunohistoquímico triple negativo en el Hospital General del Estado “Dr. Ernesto Ramos Bours”?

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe asociación entre la expresión de PD-L1 y las características clínico-patológicas en mujeres con diagnóstico de carcinoma infiltrante NST subtipo triple negativo en el Hospital General del Estado “Dr. Ernesto Ramos Bours”.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Describir las características clínico patológicas de mujeres con diagnóstico de carcinoma infiltrante NST subtipo triple negativo del Hospital General del Estado “Dr. Ernesto Ramos Bours”
2. Agrupar a las mujeres con diagnóstico de carcinoma infiltrante NST subtipo triple negativo de acuerdo a la expresión de PD-L1 en células tumorales y células inflamatorias.
3. Analizar las características clínico patológicas de mujeres con diagnóstico de carcinoma infiltrante NST subtipo triple negativo agrupadas por expresión de PD-L1.

HIPÓTESIS CIENTÍFICA

Existe asociación entre la expresión de PD-L1 y las características clínico-patológicas en mujeres con diagnóstico de carcinoma infiltrante NST subtipo triple negativo en el Hospital General del Estado “Dr. Ernesto Ramos Bours.

MARCO TEÓRICO

CÁNCER DE MAMA EN MÉXICO

El cáncer de mama es uno de los tumores malignos más comunes en el mundo: con una tasa de incidencia del 10,4% (INEGI, 2021), de todos los cánceres, siendo la principal causa de muerte en mujeres de entre 20 y 50 años (Iacoviello et al., 2021) en países en desarrollo y la segunda en países desarrollados después del cáncer de pulmón (INEGI, 2021).

El cáncer de mama es la neoplasia maligna más común en México desde 2006, y las mujeres de 65 años o más se encuentran entre los grupos con mayor crecimiento tanto en incidencia como en mortalidad en la última década, siendo las mujeres en regiones del Norte las más afectadas (Soto-Pérez-de-Celis & Chavarri-Guerra, 2016). En México, las tasas de detección de cáncer de mama son <20 % y la mayoría de las mujeres con cáncer de mama son diagnosticadas en una etapa avanzada comparada con los países desarrollados y hasta el 50 % presenta la enfermedad en estadio III o IV (Cabrera-Galeana et al., 2018).

En México durante 2019 se registraron 15,286 nuevos casos de cáncer de mama en la población de 20 años y más. De estos, 167 corresponden a hombres y 15,119 a mujeres. La tasa de incidencia de tumor maligno de mama a nivel nacional es de 18.55 casos nuevos por cada 100 mil habitantes de 20 años y más (INEGI, 2021). La incidencia en el año del 2020 fue 29,929 (GLOBOCAN. et al., 2020). Las tasas más altas de defunción (21.79 a 24.78 defunciones por cada 100 mil mujeres de 20 años o más) se ubican en Tamaulipas, Baja California Sur, Ciudad de México, Sonora, Coahuila, Chihuahua, Colima y Nuevo León (INEGI, 2021). (Imagen 1)

Tasa de mortalidad por cáncer de mama en mujeres de 20 años y más por entidad federativa 2020
(Defunciones por cada 100 mil mujeres de 20 años y más)

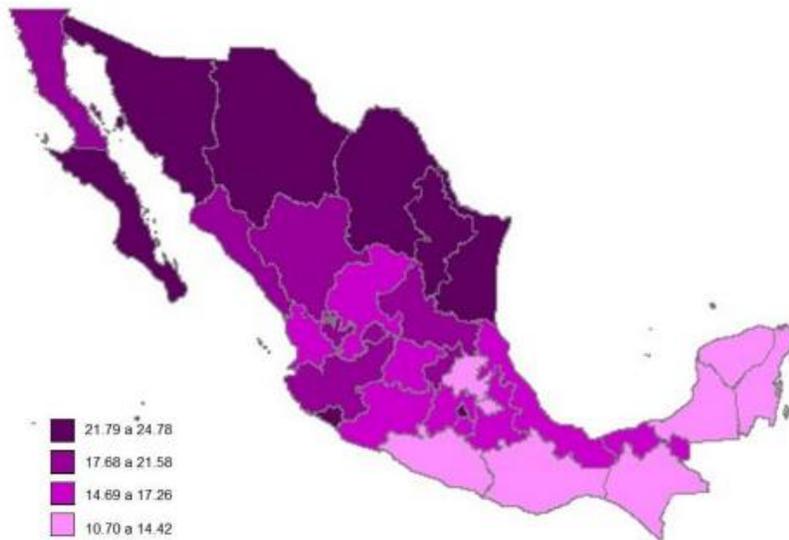


Imagen 1.- Tasa de mortalidad por cáncer de mama en mujeres de 20 años y más, tomada de (INEGI, 2021).

CARCINOMA DUCTAL INFILTRANTE AHORA CONOCIDO COMO CARCINOMA INFILTRANTE NST

La clasificación de los tumores de mama continúa evolucionando con la integración de nuevos conocimientos de la investigación que se traducen rápidamente a la práctica clínica. Los cánceres de mama invasivos todavía se organizan en capítulos por sus subtipos morfológicos, que siguen siendo clínicamente relevantes (Tan et al., 2020).

El carcinoma ductal infiltrante (CDI) o actualmente conocido como carcinoma infiltrante de ningún tipo especial (NST por sus siglas en inglés) en la última revisión de la Clasificación de la OMS de tumores de mama, 5ta° edición del 2019, el cual no exhibe características morfológicas específicas de ningún otro tipo histológico; por lo tanto, la mayoría de los cánceres de mama pertenecen a una sola categoría, es decir CI-NST(Tsang & Tse, 2019).

Existen aproximadamente 20 tipos histológicos de los cuales, el más común es el CI- NST, que representa del 70% al 80% de todos los cánceres invasivos, seguido de los carcinomas lobulillares invasivos (CLI) (alrededor del 10%). El resto son los tipos histológicos menos comunes, como carcinomas mucinosos, cribiformes, micropapilares, papilares, tubulares, metaplásicos y apocrinos(Tsang & Tse, 2019).

El tratamiento y pronóstico del carcinoma de mama tiene una fuerte asociación con las características clínicas, histomorfológicas, estadio de acuerdo a la clasificación TNM, grado histológico (clasificación histológica de Nottingham) y biomarcadores de inmunohistoquímica (receptor de estrógenos, receptor de progesterona, Her2-neu y Ki67)

CLASIFICACIÓN DE TNM

En 2017 se revisó el sistema de estadificación TNM y publicó una nueva versión, siendo la octava edición del sistema de estadificación TNM de acuerdo a la AJCC (American Joint Committee on Cancer). Las categorías TNM y el estadio de la enfermedad se define en el momento del diagnóstico. El estadio clínico se asigna en función de la exploración física y los estudios de imagen, mientras que el estadio patológico se asigna después de la cirugía con los hallazgos histopatológicos. El objetivo de la estadificación es predecir el pronóstico del paciente y determinar un plan de tratamiento en base a este (Sawaki et al., 2019).

GRADO HISTOLÓGICO DE NOTTINGHAM

Todos los carcinomas de mama infiltrantes pueden ser clasificados histológicamente acorde a los protocolos del Colegio Americano de Patólogos (CAP) con la utilización de los criterios establecidos en las clasificaciones: Grado histológico de Nottingham, el cual evalúa tres parámetros en específico, formación de túbulos, rango de mitosis y grado nuclear. (Tabla 1). Previamente, se utilizaba la escala histológica de Scar-Blom-Richardson, la diferencia entre estas dos escalas se basa en el recuento mitótico, Nottingham lo valora con escala en mm estableciendo un rango de mitosis (Anexo 1) y SBR es menos objetiva al evaluar las mitosis. Por lo que en la actualidad se prefiere el uso de la escala histológica de Nottingham.

Tabla. 1. Escala de grado Histológico de Nottingham, adaptado de College of American Pathologists, 2022.

Categoría/Puntos	1	2	3
Túbulos	> 75% del área tumoral que forma estructuras glandulares/ tubulares	10% a 75% del área tumoral que forma estructuras glandulares/ tubulares	<10% del área tumoral que forma estructuras glandulares/ tubulares
Pleomorfismo Nuclear.	núcleos pequeños con poco aumento de tamaño en comparación con las células epiteliales mamarias normales, regular contornos, cromatina nuclear uniforme, poca variación de tamaño	células más grandes de lo normal con núcleos vesiculares abiertos, nucléolos visibles y variabilidad moderada en tamaño y forma	núcleos vesiculares, a menudo con nucléolos prominentes, que presentan una marcada variación en tamaño y forma, ocasionalmente con formas muy grandes y extrañas
Mitosis (Anexo 1)	Puntuación 1	Puntuación 2	Puntuación 3

Grado 1

Puntuación 3,4 y 5

Grado 2

Puntuación 6 y 7

Grado 3

Puntuación 8 y 9

INVASIÓN/PERMEACIÓN LINFOVASCULAR

La invasión linfovascular (ILV) se define como la presencia de células cancerosas en un espacio con revestimiento endotelial definido (como los vasos linfáticos o los vasos sanguíneos) en la mama.

La ILV se asocia con un riesgo hasta 3 veces mayor de recurrencia local y se considera particularmente importante en lo que respecta a la recurrencia local dentro de los primeros 3 años, está presente en aproximadamente el 15% de los carcinomas invasivos del conducto mamario (Hoda et al., 2006). Se utilizan criterios para valorar la permeación linfovascular.

(Tabla 2)

Tabla 2. Criterios de permeación linfovascular adaptado y tomado de College of American Pathologists, 2022

1	El LVI debe diagnosticarse fuera del límite del carcinoma invasivo. El área más común para encontrar ILV es dentro 1 mm del borde del carcinoma
2	Los émbolos tumorales generalmente no se ajustan exactamente a los contornos del espacio en el que se encuentran.
3	Los núcleos de células endoteliales deben verse en las células que recubren el espacio.
4	Los linfáticos se encuentran a menudo adyacentes a los vasos sanguíneos y a menudo rodean parcialmente un vaso sanguíneo

LINFOCITOS INFILTRANTES DE TUMOR (TIL's)

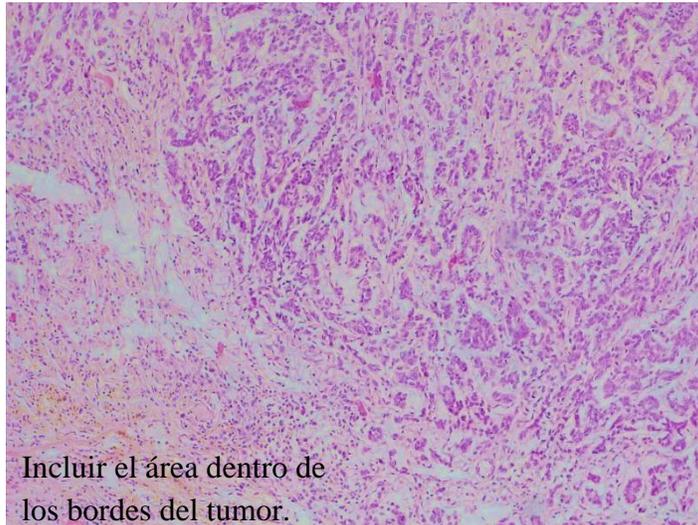
Los linfocitos infiltrantes de tumor (TIL'S por sus siglas en inglés) son linfocitos predominantes CD8⁺ que reconocen y destruyen las células cancerosas. La mayoría de los carcinomas mamarios muestran alguna cantidad de infiltrado linfoide, incluso existen carcinomas ricos en dicho infiltrado, que son neoplasias ocupadas por TIL's en un área >50% o 60%. Los carcinomas mamarios que por lo general muestran la característica señalada, corresponden al grupo de los triples negativos (20%) y los carcinomas Her2+ (16%). Solamente el 6% de los carcinomas luminales muestran esta característica. El TIL's se clasifica de acuerdo al porcentaje de linfocitos (Consenso Mexicano 2021)(Tabla 3).

Tabla 3.- Clasificación de los linfocitos infiltrantes de tumor (TIL's)

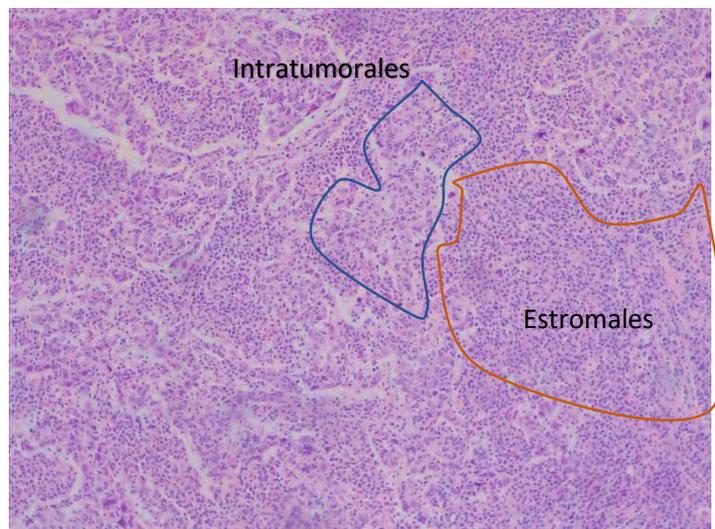
Porcentaje	
Bajo	1 a 10%
Intermedio	>10 a 40%
Alto	>40 o 50%

ENFOQUE ESTANDARIZADO PARA LA EVALUACIÓN DE TIL'S EN TUMORES SÓLIDOS

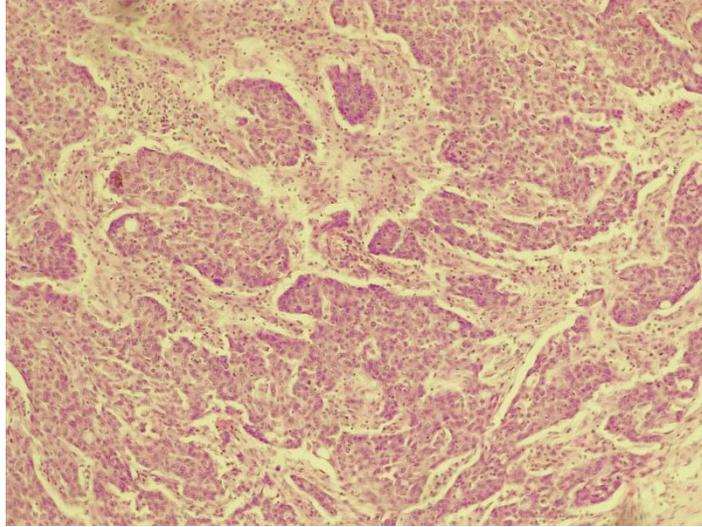
Paso 1: Seleccione el área del tumor



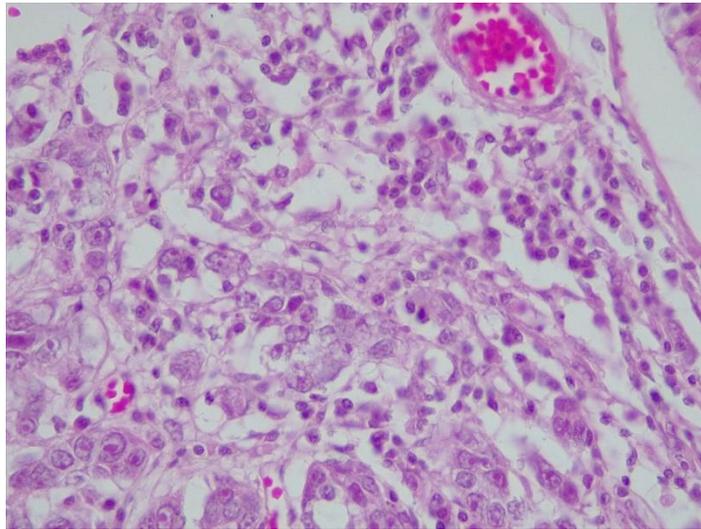
Paso 2: Defina las áreas estromales e intratumorales



Paso 3: Escanea a bajo aumento.



Paso 4: Determinar el tipo de infiltrado inflamatorio

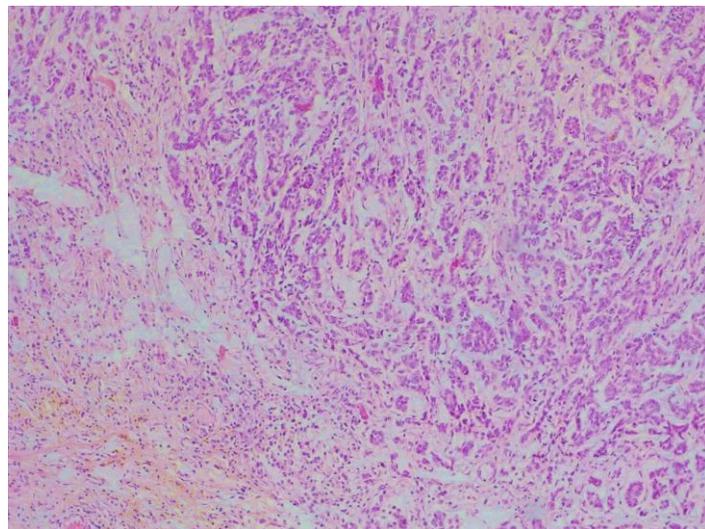


Paso 5: evaluar el porcentaje de TIL

0-10%

20 a 40%

>50%



Para el grupo intermedio evalúe diferentes áreas de mayor aumento

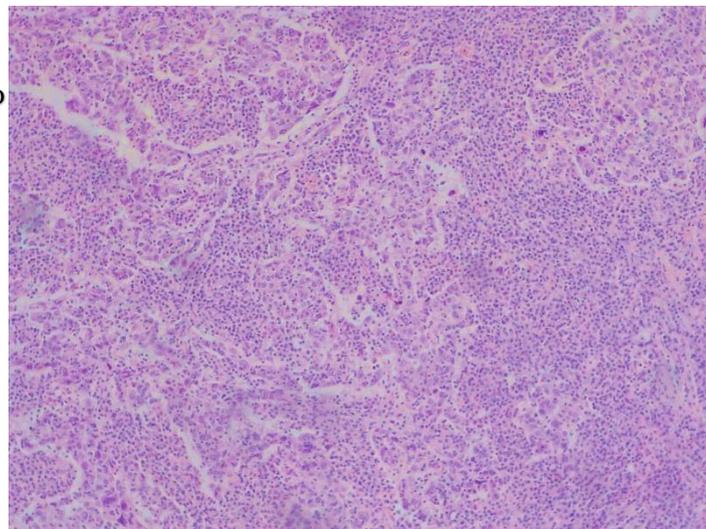


Imagen 2.- Evaluación estandarizada del Infiltrado linfocito tumoral. Imagen recreada del artículo de Hendry et al., 2017. Fotografías tomadas por el Médico residente de tercer año César Orlando Angulo Sánchez.

BIOMARCADORES DE INMUNOHISTOQUIMICA

La expresión de biomarcadores inmunohistoquímicos provee al oncólogo clínico de herramientas consideradas como factores pronósticos y predictivos del tratamiento en pacientes con cáncer de mama. Siendo indispensable la realización de estudios de inmunohistoquímica con 4 anticuerpos (RE, RP, HER2 y Ki67), siendo el panel básico de

todas las pacientes diagnosticadas con carcinoma de mama, aunque igual puede ser realizada con los primeros tres anticuerpos.

- Receptor de estrógenos
- Receptor de Progesterona
- Her2
- Ki67

RECEPTOR DE ESTRÓGENOS Y PROGESTERONA

Los receptores de estrógenos y de progesterona son proteínas localizadas principalmente en el núcleo, que al unirse a las hormonas esteroideas regulan la transcripción de los genes. Se cuenta con diversos métodos para la evaluación de la puntuación y determinar el nivel de expresión, pero los sistemas más utilizados son la puntuación de All-red y la puntuación histoquímica (puntuación H), que evalúan la proporción y la intensidad de la tinción que se suman para obtener una puntuación general. Sin embargo, el límite actualmente acordado de positividad de RE y RP para fines de gestión se basa en la puntuación de la proporción y es del 1% (Rakha & Green, 2017).

La presencia de receptores estrogénicos en el cáncer de mama se asocia, en la mayoría de los estudios publicados, con una mayor supervivencia libre de enfermedad (SLE) y mayor supervivencia global (S). Con los receptores de progesterona no ocurre lo mismo, habiendo bastante disconformidad en que su presencia se relaciona con mayor supervivencia global (Fernández Parras et al., 2002).

RECEPTOR 2 DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO HUMANO

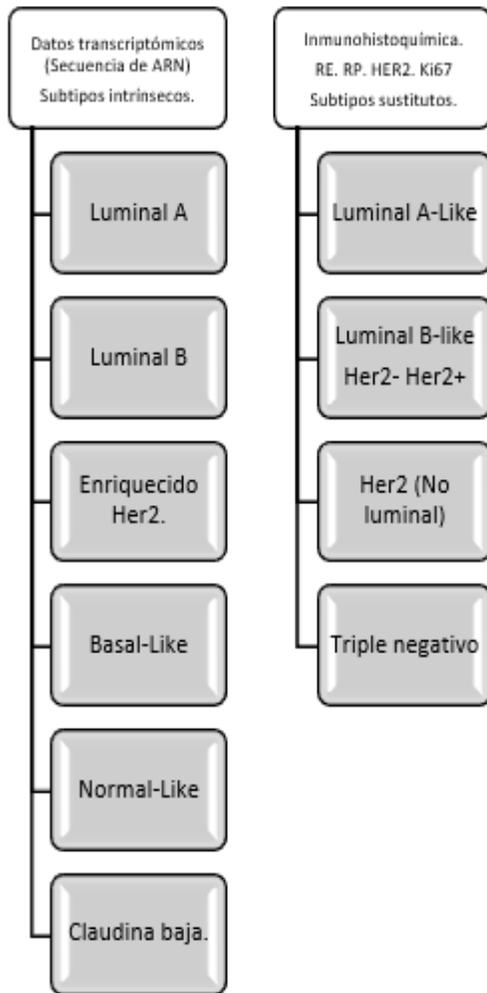
El receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) es uno de los 4 receptores de tirosina quinasas de membrana (RTK). El oncogén HER2 es un miembro de la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico humano ubicado en el cromosoma 17q12.7. Expresa una tinción de membrana citoplasmática y se utilizan criterios para valorar la positividad.

- Negativo (0) Tinción negativa o incompleta en menos del 10% de las células.
- Negativo (1) Tinción de membrana débil e incompleta en más del 10% de las células.
- Indeterminado (2) Tinción de membrana débil o incompleta en más del 10% de las células. Referir a FISH.
- Positivo (3) Tinción de membrana positiva fuerte en más del 10% de las células.

SUBTIPOS INMUNOHISTOQUÍMICOS DE CÁNCER DE MAMA

Los cánceres de mama se clasifican molecularmente en 4 subtipos intrínsecos principales según el perfil de expresión génica, pero se puede utilizar estudios de inmunohistoquímica para clasificarlos en subtipos sustitutos que dan idea al patólogo de la probable expresión génica y al clínico apoyo para el tratamiento.

Estas clasificaciones sustitutas basadas en la IHQ han ido sufriendo modificaciones a lo largo de los años y aún hoy no hay consenso unánime en cuanto a los grupos ni a los marcadores



para definirlos. También demuestran una amplia variabilidad entre los distintos centros y laboratorios anatómo-patológicos, y su exacta correlación con los test moleculares es muy discutida. Sin embargo, y a pesar de todos estos defectos, se les reconoce una mucho mejor correlación con el pronóstico y comportamiento biológico de la enfermedad que la, aún vigente pero perimida, clasificación por estadios TNM (Begue et al., 2016).

- Luminal A: Receptor de Estrógeno: Positivo, Receptor de Progesterona: Positivo, Her2: Negativo y Ki67: Bajo menor al 20%

- Luminal B- Her2 Negativo: Receptor de Estrógeno: Positivo, Receptor de Progesterona:

Positivo y débil menor al 20% o Negativo, Her2: Negativo, Ki67: Bajo menor al 20%

- Luminal B-Her2: Receptor de Estrógeno: Positivo, Receptor de Progesterona: Positivo, Her2: Negativo y Ki67: Bajo menor al 20%.

Esquema 1.- Subtipos moleculares e inmunohistoquímicos del carcinoma infiltrante de mama.

- Triple Negativo: Receptor de Estrógeno: Negativo, Receptor de Progesterona: Negativo y Her2: Negativo

Los subtipos luminales A y B responden a la terapia endocrina, pero la respuesta en el luminal B es menor y el luminal B muestra una mayor respuesta a la quimioterapia. El subtipo HER2 amplificado responde a la quimioterapia basada en trastuzumab y antraciclina. Los similares a basal no muestran respuesta a la terapia endocrina o trastuzumab, pero parecen ser sensibles a la quimioterapia a base de platino, paclitaxel e inhibidores de PARP (Krishnamurti & Silverman, 2014).

SUBTIPO TRIPLE NEGATIVO

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) representa del 15% al 20% (Sakach et al., 2021), de todos los cánceres de mama primarios. El CMTN a menudo tiene una presentación más agresiva que otros subtipos y ocurre con mayor frecuencia en mujeres afroamericanas e hispanas menores de 50 años. Para los pacientes a los que se les diagnosticó CMTN avanzado, el pronóstico es desfavorable, con una mediana de supervivencia general que rara vez se extiende más allá de los 12 a 18 meses para los pacientes con enfermedad metastásica (Sakach et al., 2021).

Una clasificación molecular de carcinoma de mama triple negativo identificó 6 subtipos usando firmas de expresión génica: basal-like 1, basal-like 2, inmunomodulador (IM), mesenquimatoso (MES), mesenquimatoso y receptor de andrógenos luminal (LAR)(Lehmann et al., 2011). Cada subtipo está enriquecido en distintas ontologías de genes y patrones de expresión de genes (Cipriano & Mesquita, 2021).

Más recientemente, Lehmann y colaboradores consideraron que el perfil de expresión génica del cáncer se obtiene mediante una composición variable de las células tumorales y los componentes celulares circundantes (es decir, células del estroma e inmunes), y refinaron la clasificación de los TNBC en función de los subtipos moleculares propuestos previamente, restringiendo el triple negativo de seis subtipos a cuatro (Borri & Granaglia, 2021).

- Basal like 1: Expresión de genes relacionados con la proliferación celular y reparación del ADN.
- Basal like 2: Expresión de genes involucrado en las vías de señalización celular (Receptor del factor de crecimiento epidérmico, WNT / β -catenina, Factor de crecimiento similar a la insulina)
- Mesenquimatoso: expresión de genes relacionados con la diferenciación celular, la motilidad, la transición epitelial mesenquimatosa.
- Luminal receptor de Andrógenos: Expresión génica de la vía de Receptor de Andrógenos.

MOLÉCULA DE MUERTE PROGRAMADA 1 (PD-1)

PD-1 es una proteína transmembrana de 55 kDa que contiene 288 aminoácidos con un dominio N-terminal extracelular (IgV-Like), un dominio que permea la membrana y una cola citoplasmática ubicada en los extremos N y C, respectivamente, con dos bases de tirosina (Neel et al., 2003). Inhibidor de las respuestas inmunitarias tanto adaptativas como innatas, se expresa en linfocitos T activados, células NK, linfocitos B, macrófagos, monocitos y células dendríticas.

PD-1 juega dos roles opuestos, ya que puede ser beneficioso y perjudicial. En cuanto a sus efectos beneficiosos, juega un papel clave en la regulación de respuestas inmunes ineficaces o dañinas y en el mantenimiento de la tolerancia inmunológica. Sin embargo, la PD-1 provoca la dilatación de las células malignas al interferir con la respuesta inmunitaria protectora (Salmaninejad et al., 2018).

LIGANDO DE MUERTE PROGRAMADA PD-L1.

El ligando PD-1 (PD-L1; también conocido como CD279 y B7-H1), pertenece a la serie B7 y es una glicoproteína transmembrana tipo 1 de 33 kDa que contiene 290 aminoácidos con dominios IgE e IgC en su región extracelular (Han et al., 2020).

El PD-L1 también es necesario para mantener la homeostasis inmune en condiciones fisiológicas normales. Este ligando regula negativamente la actividad de las células T citotóxicas cuando se une a receptores específicos en las células T y protege a las células normales del daño colateral. Por tanto, las células tumorales que expresan PD-L1 pueden dificultar la activación de nuevas células T (Salmaninejad et al., 2018).

PD-1/PD-L1

Los estudios han demostrado que los tumores pueden secuestrar el eje PD-1 / PD-L1 como una vía co-inhibitoria para comprometer la respuesta inmune al cáncer mediante el bloqueo de la proliferación, la inducción de la apoptosis por linfocitos T citotóxicos y la promoción de la diferenciación de células T reguladoras, que eventualmente induce un microambiente

inmunosupresor en el tumor. Por lo cual el cáncer de mama al igual que otros cánceres interactúa el receptor con el ligando para esconderse de la respuesta inmune (Shen et al., 2019).

MATERIALES Y MÉTODOS

Taxonomía y clasificación de la investigación

- Por la intervención del investigador: Observacional.
- Por el objetivo: Analítico
- Por la temporalidad: Transversal
- Por direccionalidad: Retrospectivo
- Por el número de sedes: Unicéntrico
- Por la población estudiada: Clínico homodémico.

Población de estudio y tamaño de muestra.

Muestra: Mujeres con diagnóstico de carcinoma infiltrante NST subtipo triple negativo en productos de lumpectomías y mastectomías en el Hospital General del Estado “Dr. Ernesto Ramos Bours”. Muestras tomadas por conveniencia en el periodo de enero 2016 a diciembre del 2021.

Criterios de selección de la muestra

Criterios de inclusión

- Pacientes con resultado del servicio de Patología del HGE Sonora con resultado en tumorectomía y mastectomía de carcinoma ductal infiltrante inmunofenotipo triple negativo entre el año 2016 al 2021.
- Pacientes con laminillas y bloques completos dentro del servicio de Patología.

- Pacientes que cuenten con tejido en bloque de parafina.
- Pacientes con diagnóstico de carcinoma medular de mama subtipo triple negativo.

Criterios de exclusión

- Carcinoma ductal infiltrante subtipo triple negativo diagnosticado en material de biopsias trucut.
- Estudio de ganglios linfáticos con reporte subtipo triple negativo, sin reporte de tumorectomía o mastectomías.
- Pacientes con mastectomías y tumorectomías que hayan recibido tratamiento de quimioterapia, radioterapia u hormonoterapia antes de la realización de la inmunohistoquímica.
- Reportes con carcinoma mixto.

Criterios de eliminación

- Reportes diagnosticados con subtipo triple negativo que presente otra morfología histológica diferente a la del carcinoma ductal o carcinoma infiltrante NST
- Laminillas de inmunohistoquímica que se hayan reportado con receptores de estrógenos y progesterona negativos por tener menos del 5% de tinción positiva.
- Bloques de parafina con material en mal estado o insuficiente para estudio de inmunohistoquímica.

Recursos empleados para la investigación

Recursos humanos, físicos y financieros:

Recurso humano:

- El recurso humano de observación de laminillas será realizado por el médico residente de tercer año de la especialidad de Anatomía Patológica y los médicos adscritos al servicio de Patología del turno matutino y vespertino responsables de esta investigación.
- Las laminillas de inmunohistoquímica con el anticuerpo PD-L1 será realizada por el químico fármaco-biólogo Omar Ríos Méndez, técnico en inmunohistoquímica.

Recursos físicos:

- Expediente electrónico ASSIST.
- Laminillas teñidas con Hematoxilina -eosina del material de laboratorio.
- Laminillas marcadas con anticuerpos: Receptor de estrógenos, progesterona, Her2/Neu y ki67.
- Insumos habituales, propios del departamento de patología.
- Anticuerpo PD-L1.
 - Fuente: Monoclonal de conejo
 - Especies Reactividad: Humano; otros no probados
 - Clon: CAL10
 - Isotipo: IgG

- Epítipo/Antígeno: Péptido correspondiente a la región dentro del ser humano PD-L1
- Localización celular: membranosa/citoplasmática
- Control positivo de tejido: adenocarcinoma de pulmón o amígdala
- Microscopio óptico Leica (Objetivos 4x, 10x, 40x)

Recursos financieros:

- Los recursos serán otorgados en parte por el Hospital General del Estado.
- La compra del anticuerpo PD-L1 será cubierta por el médico residente de tercer año.

Procedimiento para la obtención de resultados

1.- Se realizó una búsqueda en las carpetas de resultados del servicio de patología, seleccionando las pacientes diagnosticadas con Carcinoma ductal infiltrante o Carcinoma infiltrante NST en el periodo de enero 2016 a diciembre 2021; anotando número de quirúrgico.

2.- Se buscó los estudios de inmunohistoquímica de los quirúrgicos seleccionados, analizando la expresión de RE, RP, HER2 y Ki67, y se clasificó en subtipos inmunohistoquímicos.

3.- Se seleccionó los subtipos triples negativos con énfasis en las diagnosticadas en tumorectomía y mastectomía.

4.- Se realizó la búsqueda de laminillas y bloques de parafina de los casos seleccionados como triples negativos. Se recolectarán datos específicos de las variables, que puedan ser identificadas en la laminilla y encontradas en el reporte de patología. Al revisar el portaobjetos de H&E, estuvieron presentes al menos 50 (-100) células tumorales vitales y estroma asociado al tumor, y se evaluaron toda el área del tumor (excluidas las áreas necróticas).

5.- A los bloques seleccionados y que cumplieran con los criterios establecidos se les realizó tinción de inmunohistoquímica de PD-L1. (Ficha técnica de PD-L1 y procedimiento de tinción manual)

Las muestras quirúrgicas fueron fijadas con formol al 10% durante 24 a 48 horas, dependiendo el tamaño de la muestra, se procesaron de forma habitual en casetes.

Para las laminillas de inmunohistoquímica se realizarán cortes de 4 μ m de grosor de área. El protocolo de tinción se hará conforme a la técnica manual de BIOCARE (Anexo 2). Se tendrá un control positivo externo correspondiente a tejido de Amígdala por contener células inmunitarias (linfocitos y monocitos).

6.- Se revisó en conjunto, dos médicos patólogos adscritos del servicio de patología del HGE y médico residente del tercer año de la especialidad de anatomía patológica, reportándose como:

Células tumorales:

- Negativa: Tinción nula
- Positiva: Tinción de membrana citoplasmática positiva en al menos 1%

Una célula neoplásica se cuenta como PD-L1 positiva si hay una tinción membranosa, independientemente de la intensidad de la tinción y si la membrana muestra positividad completa o parcial de PD-L1. Si hay tinción citoplásmica, pero no membranosa, una célula tumoral se considera negativa para PD-L1. Sin embargo, para las células inmunes, la tinción granular citoplásmica o membranosa (incompleta) es suficiente para un recuento positivo.

Células inmunitarias:

Todas las células inmunes que están ubicadas intratumoral o en un pequeño borde estromal peritumoral linfocitos, células dendríticas, macrófagos y granulocitos, que sean positivas con una tinción membranosa y/o citoplasmática(Erber & Hartmann, 2020).

CATEGORIZACIÓN DE VARIABLES ESTADÍSTICAS

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidad de medida	Tipo de variable.
Edad	Número de años que ha vivido un individuo desde su nacimiento	Número de años cumplidos hasta el momento de ingreso al estudio.	Años	Cuantitativa
Subtipo inmunohistoquímico	Patrón de tinción inmunohistoquímica utilizando los siguientes anticuerpos RE, RP, Her2 y ki67	Rico en Her2: RE+/- RP+/- Her2 + Luminal A: RE+ RP+ Her2 – Luminal B: RE+ RP- o menor del 20%, Her2- Ki67 mayor al 14% Triple Negativo RE- RP- Her2-	0) Rico en Her2 1) Luminal A 2) Luminal B 3) Triple negativo	Cualitativa ordinal.
Tamaño tumoral	Tamaño tumoral medido en la pieza.	Tamaño tumoral medido en mastectomía o cuadrantectomía y registrado en el reporte de patología.	Centímetros	Cuantitativa
PD-L1	Ligando 1 del receptor de muerte celular programada	Negativa no se observa tinción citoplasmática. Positiva: tinción citoplasmática mayor del 1%	0) Negativa 1) Positiva	Cualitativa nominal dicotómica.
Permeación linfocascular	Células neoplásicas dentro de un vaso sanguíneo o linfático	Presencia de células neoplásicas ocupando los criterios de la CAP.	0.- Ausente 1.- Presente	Cualitativa nominal dicotómica
Metástasis ganglionares	Presencia de células neoplásicas en ganglio linfático	Presencia de células neoplásicas en H&E; en caso de duda corroboradas con tinción de inmunohistoquímica (Pan-queratinas)	0.- Ausente 1.- Presente	Cualitativa nominal dicotómica
Grado nuclear	Citología celular que abarca características, tamaño, núcleo, forma y nucléolo	Evaluación del tamaño y forma del núcleo en las células tumorales	1.- 1 2.- 2 3.- 3	Cualitativa ordinal
Ki67	Índice de proliferación mitótica del tumor	Mitosis presentes en estudio de inmunohistoquímica mayor o menor del 14% de todas las células neoplásicas.	0.- Menor al 14% 1.- Mayor al 14%	Cualitativa nominal dicotómica

Grado histológico de Nottingham	Características histológicas presentes en el tumor. (túbulos, mitosis, grado nuclear).	1.- Puntaje de 3 a 5 (Grado 1) 2.- Puntaje de 6 a 7 Grado 2 3.- Puntaje de 8 a 9 Grado 3	1.- Grado 1 2.- Grado 2 3.- Grado 3	Cualitativa ordinal
Infiltrado linfocítico tumoral (TIL'S)	Linfocitos que se encuentran de forma natural en los infiltrados inflamatorios de algunos tumores sólidos.	<ul style="list-style-type: none"> • Bajo: 1 a 19% • Intermedio: 20 a 49% • Alto: Mayor de 50% 	1.- Bajo 2.- Intermedio 3.- Alto	Cualitativa ordinal
PD-L1 en células inmunitarias	Células inmunitarias positivas a PD-L1.	Negativo sin expresión Positiva tinción citoplasmática, granular en células dendríticas, linfocitos.	0.- Negativo 1.- Positivo	Cualitativa nominal dicotómica.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó el análisis estadístico con el programa estadístico IBM SPSS V 23. El plan de análisis se divide en dos fases: Fase descriptiva y fase inferencial, que incluirá uno o varios modelos logísticos.

Análisis descriptivo.

Para esta primera fase de análisis, a las variables cuantitativas se les realizó la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov y se tomará un “p” valor menor a 0.05 como estadísticamente significativo. Se reportará media y desviación estándar a las variables con distribución normal mientras que, las variables con libre distribución serán presentadas con mediana y rango intercuartilar con percentil 25 y 75%. Las variables cualitativas se mostraron con frecuencia en número y porcentaje.

Modelo logístico.

Cuando se encontró significancia estadística para las variables de interés, se realizó un modelo de regresión logística simple o múltiple (según sea el caso), tomando la expresión de PD-L1 como variable predicha (negativo/positivo) y a la diseminación a ganglios linfáticos, metástasis, grado histológico nuclear e infiltrado linfocítico tumoral (TIL'S) como variables predictoras (juntas y por separado), tomando como referencia a la ausencia de diseminación de ganglios linfáticos, la ausencia de metástasis y el valor más bajo de grado histológico nuclear. Se realizará la exploración mediante el estadístico de Wald para determinar si alguna variable influye en la expresión de PD-L1 y que pueda ser ingresada a un modelo múltiple. Se reportará coeficiente de regresión B, estadístico de Wald, p valor y odds ratio (OR) con intervalo de confianza al 95% (IC95%). Se realizará, además, la prueba de bondad y ajuste

de Hosmer&Lemeshow, tomando un p valor menor a 0.05 como estadísticamente significativo.

ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN

De acuerdo con el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud del 2014 en el artículo 17 sección I los estudios retrospectivos no tienen riesgo para el paciente: “Investigación sin riesgo: Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquellos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta...” . De acuerdo con el punto número 23 de la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial del 2013, el presente protocolo se enviará a un comité de ética de la investigación para su consideración, comentarios, guía y aprobación. De acuerdo con el punto número 24 de la misma declaración, se resguardará la información personal obtenida de cualquier sujeto involucrado en la investigación. De acuerdo con el punto número 32 de dicha declaración, dejamos en manos del comité de ética de la investigación la decisión respecto al obtener consentimiento informado de los sujetos involucrados en esta investigación. Consideramos que no es necesario contar con consentimiento informado debido a que este tipo de investigación no presenta riesgo para los sujetos de investigación, no afecta los derechos ni bienestar de los sujetos participantes y que la investigación no sería factible si se nos pidiera conseguir consentimiento informado de todos los participantes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

SUBTIPO INMUNOHISTOQUÍMICO

Se realizó una búsqueda en los acervos del servicio de patología de aquellos resultados con diagnosticadas con carcinoma ductal infiltrante o carcinoma infiltrante NST en el periodo de enero 2016 a diciembre 2021, encontrándose 423 registros diagnosticados en material de revisión, mastectomías simples, mastectomías radicales y tumorectomías, clasificando por la expresión de receptores de estrógenos, progesterona, Her2 y Ki67 en subtipos inmunohistoquímicos en: luminal A (103 casos), luminal B (156 casos), luminal Her2 (55 casos) Rico en Her2 (50 casos) y Triple negativo (59 casos).

En lo que respecta a la población mexicana el Consenso Mexicano 2021 reporta que la frecuencia promedio de subgrupos definidos por los marcadores de inmunohistoquímica son los siguientes porcentajes: receptores hormonales positivos 60%, HER-2 positivos 20.4% y triples negativos 23.1%, siendo similar a la reportada en nuestro estudio si se juntan los subtipos luminales A y luminal B. (Tabla 4)

Resultados similares se encontraron en un estudio de Pérez-Rodríguez, 2015 realizado en el Hospital General de Zona N.º 72 del Instituto Mexicano del Seguro Social, donde se reportó una mayor frecuencia del subtipo luminal A (65%), seguido del subtipo triple negativo (14%), subtipo luminal B (12%) y HER2+ (9%). En otro estudio realizado en México por Martínez et al., 2020 donde se analizaron 1639 pacientes durante el período de cuatro años, reportaron la prevalencia de subtipos inmunohistoquímicos: luminal A con 594 (35%), luminal B con 492 (29%), HER2+ con 202 (11.9%), basal con 107 (6,3%), triple negativo

con 244 (14.4%), siendo similares a la frecuencia encontrada en este trabajo del subtipo triple negativo.

En nuestro estudio el subtipo inmunohistoquímico Luminal B predominó a diferencia de los estudios anteriores, pudiendo deberse a los diversos métodos de evaluación de los subtipos inmunohistoquímicos o estar relacionada con la edad como lo reportado por Vallejos et al., 2010 que encontraron que en pacientes < 50 años hay un mayor porcentaje de tumores luminal B (59,5%). Los tumores tipo HER2/neu fueron más frecuentes en el grupo de 50 a 69 años (47,9%), mientras que los pacientes mayores de 70 años presentaron un mayor porcentaje de tumores tipo luminal A (9,6%).

Tabla 4. Subtipos inmunohistoquímicos de CDI o CI NST.	
Pacientes	n= 423
Subtipo inmunohistoquímico	
<i>Luminal A</i>	103 (24.3%)
<i>Luminal B</i>	156 (36.8%)
<i>Luminal-Her2</i>	50 (11.8%)
<i>Triple Negativo</i>	59 (13.9%)
<i>Rico en Her2</i>	55 (13.0%)

CARCINOMA INFILTRANTE NST SUBTIPO INMUNOHISTOQUÍMICO TRIPLE NEGATIVO (RECEPTOR DE ESTROGENOS, RECEPTOR DE PROGESTERONA Y HER2 NEGATIVOS)

La muestra se compone de 59 pacientes femeninas diagnosticadas con carcinoma infiltrante NST subtipo inmunohistoquímico triple negativo en periodo comprendido de enero del 2016 a diciembre del 2021, que pertenecen al Hospital General del Estado “Dr. Ernesto Ramos Bours”. De las 59 pacientes encontradas, solo 56 contaban con las características establecidas en los criterios de inclusión. (Tabla 5).

La población tenía un promedio de edad de 51.04 ± 10.53 años, similar a lo publicado por el gobierno de México donde se menciona que la edad promedio de presentación de los casos de cáncer de mama es de 54.9 años. El 52.5% fue diagnosticado por mastectomía radical modificada, el 23.7% por cuadrantectomías/ tumorectomía, 3.4% en material de revisión de cuadrantectomías/tumorectomías y el 20.3% en material de revisión de procedimiento no especificado.

En cuanto la clasificación TNM patológica, el tamaño tumoral mostró mediana de 2.30 (0.95 – 3.50), la metástasis a ganglios linfáticos fue negativa en 46 pacientes (82.1%) y presente 10 (16.9%), la metástasis a distancia fue negativa en 56 pacientes (100%) en el momento del diagnóstico.

La permeación linfovascular estuvo presente en 35 casos (62.5%) y calcificaciones presentes en 8 casos (14.5%). En cuanto al grado histológico de Nottingham valorando los 3 criterios ya establecidos y conocidos, no hubo casos con grado nuclear 1, grado nuclear 2 se presentó

en 26 (46.4%) y grado nuclear 3 en 30 (53.6%); la formación de túbulos puntuación 1 en 1 paciente (1.8%), puntuación 2 en 15 (26.8%) y puntuación 3 en 40 (71.4%); y el rango de mitosis rango 1 en 3 (5.4%), rango 2 en 30 (53.6%) y rango 3 en 23 (41.1%); con esto fue clasificado en grados, el grado 1, 1 caso (1.8%), grado 2, 25 casos (45.5%) y grado 3 con 29 casos (52.7%). El grado histológico 1 es infrecuente en estos tumores, siendo el grado 3 el más frecuente. La presencia de permeación linfovascular se ha reportado que condiciona mayor riesgo de recurrencia y metástasis, como lo observado por Goto et al., 2020 en donde la mayoría de los tumores fueron grado histológico 3 96 (76,8%) y la invasión linfovascular estuvo presente en 59 (47,2%), donde la mayoría metastatizo a órganos viscerales (cerebro y pulmón).

El infiltrado linfocítico tumoral se clasificó como bajo en 16 casos (30.2%), intermedio en 19 casos (35.8%) y alto en 18 casos (34%). De acuerdo a Dieci et al., 2014, hubo una reducción relativa del 21 % del riesgo de metástasis y muerte por cada incremento del 10 % en el TIL. Los pacientes con TIL altos (>60 % de TIL estromales) tuvieron tasas de supervivencia general y sin metástasis a 5 años significativamente mayores que las pacientes con TIL más bajos (81,5 % frente a 46 %, HR 0,24, 95 % IC 0,09-0,64 para libre de metástasis y 91% vs 55% HR 0,19, IC 95% 0,06-0,61 para supervivencia global).

Se realizó control de PD-L1 en tejido de amígdala (Imagen 3), se valoró la positividad en tinción de membrana en las células tumorales las cuales fueron positivas en 29 casos (58%) con una mediana 5 (0-20) y la tinción positiva de membrana y citoplasma en el infiltrado linfocítico tumoral siendo positivo para PD-L1 en 33 casos (66%) y negativo en 17 casos (34%) con mediana de 20 (10- 40), aún no se cuenta con estudios que confirmen cuáladiquiere más relevancia en cuanto al diagnóstico y pronóstico en cuanto a la terapia sistémica. En un

metaanálisis de Huang et al., 2019 encontró que los TIL PD-L1+ estaban asociados con un menor riesgo de recurrencia de la enfermedad. En cuanto a las células tumorales positivas y su pronóstico se han reportado diversos estudios como el estudio de Guo et al., 2016 que incluyó 5 estudios con 2061 pacientes con cáncer de mama triple negativo, demostró que los pacientes con PD-L1+ en células tumorales tenían una mayor tasa de riesgo de mortalidad a 10 años (MR, 46,8 % frente a 21,1 %) después de la cirugía.

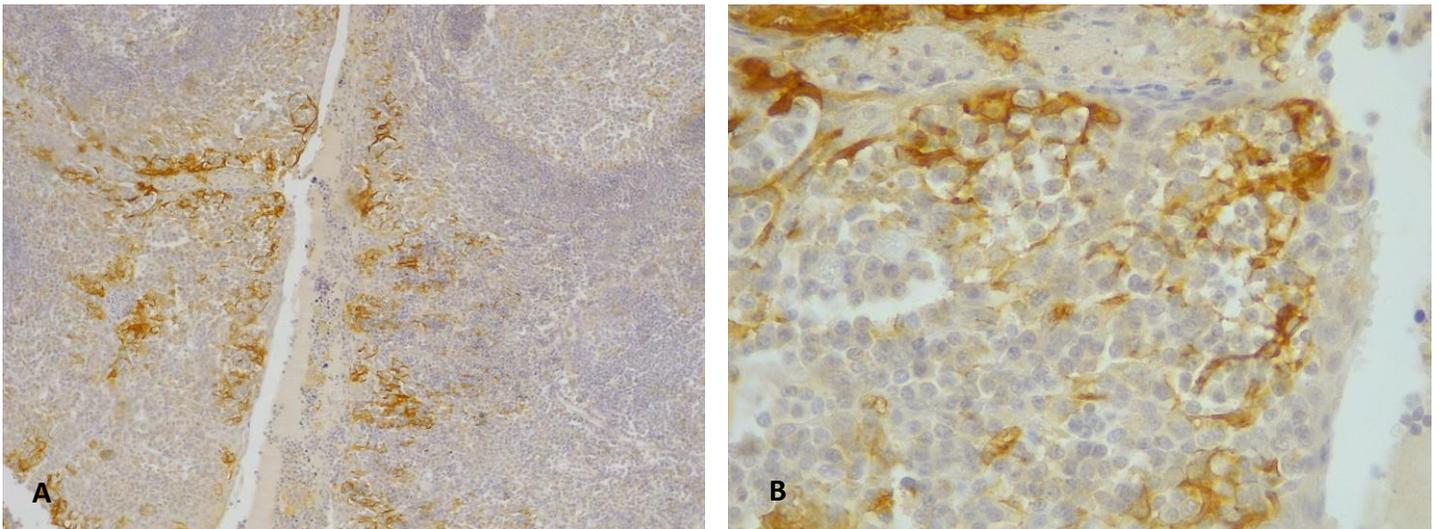


Imagen 3.- A y B Tejido de amígdala con tinción positiva para PD-L1 en células inflamatorias. Fotografías tomadas por el médico residente de tercer año César Orlando Angulo Sánchez.

Tabla 5. Descripción de la población.

Variable	n= 59
Edad	51.04 ±10.53
Intervención	
<i>Cuadrantectomía/Tumorectomía</i>	14 (23.7%)
<i>Cuadrantectomía MR</i>	2 (3.4%)
<i>Mastectomía</i>	31 (52.5%)
<i>Material de revisión</i>	12 (20.3%)
TNM	
Tamaño tumoral	2.30 cm (0.95 – 3.50 cm)
Metástasis a ganglios	
<i>Ausente</i>	46 (82.1%)
<i>Presente</i>	10 (16.9%)
Metástasis a distancia	
<i>Ausente</i>	56 (100%)
<i>Presente</i>	0 (0%)
SBR/Nottingham	
Túbulos	
1	1 (1.8%)
2	15 (26.8%)
3	40 (71.4%)
Grado nuclear	

	<i>1</i>	0 (0%)
	<i>2</i>	26 (46.4%)
	<i>3</i>	30 (53.6%)
Mitosis		
	<i>1</i>	3 (5.4%)
	<i>2</i>	30 (53.6%)
	<i>3</i>	23 (41.1%)
Puntaje		
	<i>4</i>	1 (1.8%)
	<i>6</i>	8 (14.3%)
	<i>7</i>	17 (30.4%)
	<i>8</i>	15 (26.8%)
	<i>9</i>	15 (26.8%)
Grado histológico		
	<i>De 3 a 5</i>	1 (1.7%)
	<i>De 6 a 7</i>	25 (44.6%)
	<i>De 8 a 9</i>	30 (53.6%)
Permeación linfovascular		
	<i>Ausente</i>	21 (37.5%)
	<i>Presente</i>	35 (62.5%)
Calcificaciones *		
	<i>Ausente</i>	47 (85.5%)
	<i>Presente</i>	8 (14.5%)

TILS %	20 (10 – 40)
TILS	
<i>Bajo (1 a 10%)</i>	16 (30.2%)
<i>Intermedio (10 a 40%)</i>	19 (35.8%)
<i>Alto (40 a 90%)</i>	18 (34%)
PD-L1 en células tumorales	
<i>Negativo</i>	21 (42%)
<i>Positivo</i>	29 (58%)
Células tumorales positivas (%)	5 (0 – 20)
PD-L1 en células inflamatorias	
<i>Negativo</i>	17 (34%)
<i>Positivo</i>	33 (66%)

Se muestra media y desviación estándar (\pm) así como mediana y rangos intercuartilares (RIC25-75%). Se muestra la frecuencia en número y porcentaje para valores válidos.

*Calcificaciones: 3 casos no contaban con todas las laminillas para valorar las microcalcificaciones.

ANÁLISIS DE LAS METÁSTASIS GANGLIONARES RELACIONADA CON LAS VARIABLES.

La metástasis ganglionar se valoró en 56 pacientes, una paciente fue excluida por la falta de material de revisión, la metástasis estuvo presente en 10 pacientes con un promedio de edad de 48.25 ± 6.79 . Se encontró asociación entre el grado histológico de Nottingham alto y la presencia o no de metástasis ganglionar. En el grupo sin metástasis ganglionar se encontró como grado 1 a 1 paciente (2.2%), con grado 2 a 24 pacientes (53.3%) y como grado 3 a 20 pacientes (44.4%) mientras que, en el grupo con metástasis ganglionar, el 90% de los pacientes se clasificó como grado 3 y el 10% restante como grado 2 ($p= 0.010$). En el estudio de Aitken & Osman, 2010 se encontró que el grado del tumor tiene un efecto estadísticamente significativo en la positividad ganglionar ($p < 0,001$) con más tumores de grado tres con metástasis ganglionares. (Tabla 6).

No se encontró significancia estadística al evaluar el tamaño tumoral y la metástasis ganglionar $p=0.078^U$. (Grafica 1).

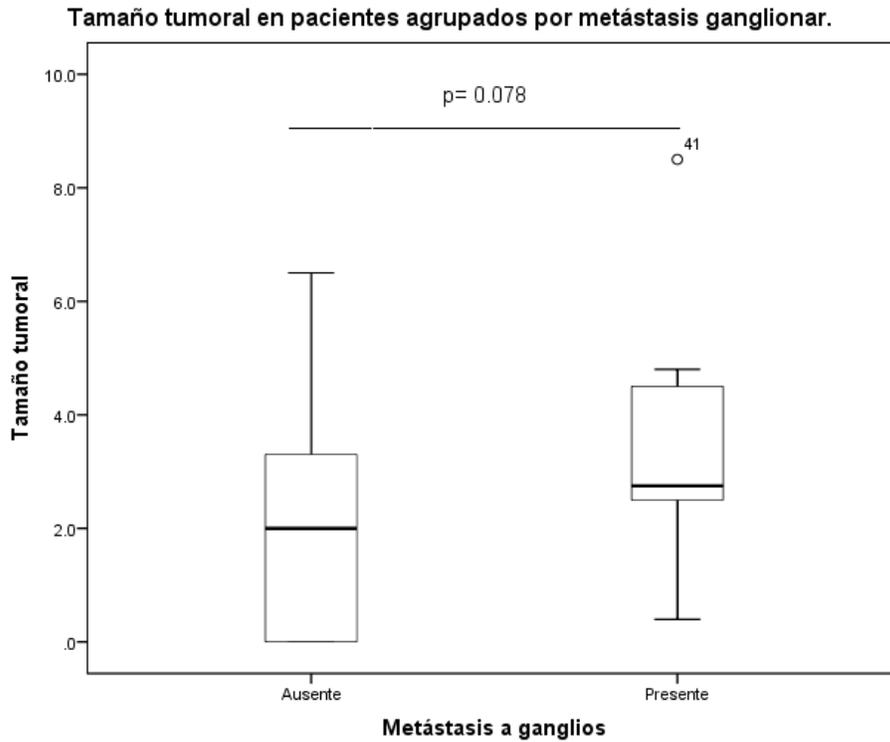
Tabla 6 Características de la población agrupada por metástasis ganglionar.

Variable	Metástasis ganglionar		p valor
	Ausente (n= 45)	Presente (n= 10)	
Edad	51.57 ±11.09	48.25 ±6.79	0.420 ^t
Intervención			
<i>Cuadrantectomía</i>	11 (24.4%)	0 (0 %)	0.130 ^{Xi}
<i>Cuadrantectomía MR</i>	1 (2.2%)	0 (0 %)	
<i>Mastectomía</i>	21 (46.6%)	9 (90%)	
<i>Material de revisión</i>	10 (22.2%)	0 (0%)	
<i>Tumorectomía</i>	2 (4.4%)	1 (10%)	
<i>Tumorectomía MR</i>	0 (0%)	0 (0%)	
TNM			
Tamaño tumoral	2.0 (0 – 3.3)	2.75 (2.5 – 4.5)	0.078 ^U
Grado histológico nuclear			
<i>1</i>	0 (0%)	0 (0%)	0.480 ^U
<i>2</i>	19 (42.2%)	3 (30%)	
<i>3</i>	26 (57.8%)	7 (70%)	
SBR/Nottingham			
Túbulos			
<i>1</i>	1 (2.2%)	0 (0%)	0.978 ^U
<i>2</i>	12 (26.7%)	3 (30%)	
<i>3</i>	32 (71.1%)	7 (70%)	
GN			
<i>1</i>	0 (0%)	0 (0%)	

	2	23 (51.1%)	3 (30%)	0.231 ^U
	3	22 (48.9%)	7 (70%)	
Mitosis				
	1	3 (6.7%)	0 (0%)	
	2	25 (55.6%)	5 (50%)	0.385 ^U
	3	17 (37.8%)	5 (50%)	
Puntaje				
	4	1 (2.2%)	0 (0%)	
	6	7 (15.6%)	1 (10%)	
	7	17 (37.8%)	0 (0%)	0.298 ^U
	8	7 (15.6%)	8 (80%)	
	9	13 (28.9%)	1 (10%)	
Grado histológico				
	<i>Grado 1 de 3 a 5</i>	1 (2.2%)	0 (0%)	
	<i>Grado 2 de 6 a 7</i>	24 (53.3%)	1 (10%)	0.010*^U
	<i>Grado 3 de 8 a 9</i>	20 (44.4%)	9 (90%)	
Permeación linfovascular				
	<i>Ausente</i>	19 (42.2%)	2 (20%)	0.287 ^F
	<i>Presente</i>	26 (57.8%)	8 (80%)	
Calcificaciones				
	<i>Ausente</i>	39 (86.7%)	8 (80%)	0.589 ^{Xi}
	<i>Presente</i>	6 (13.3%)	2 (20%)	

TILS %	20 (10 – 40)	30 (15 – 40)	0.656 ^U
TILS			
<i>Bajo (1 a 10%)</i>	14 (31.1%)	2 (25%)	
<i>Intermedio (10 a 40%)</i>	15 (33.3%)	4 (50%)	0.874 ^U
<i>Alto (40 a 90%)</i>	16 (35.6%)	2 (25%)	
PD-L1 en células tumorales			
<i>Negativo</i>	17 (40.5%)	4 (50%)	0.706 ^F
<i>Positivo</i>	25 (59.5%)	4 (50%)	
Células tumorales positivas (%)	5 (0 – 20)	2.5 (0 – 20)	0.709 ^U
PD-L1 en células inflamatorias			
<i>Negativo</i>	15 (35.7%)	2 (25%)	0.699 ^F
<i>Positivo</i>	27 (64.3%)	6 (75%)	

Se muestra media y desviación estándar (\pm) así como mediana y rangos intercuantiles (RIC25-75%). Se muestra la frecuencia en número y porcentaje para valores válidos. ^t Prueba t de Student, ^U Prueba U de Mann Whitney, ^{Xi} Prueba Chi cuadrada de Person, ^F Prueba exacta de Fisher.



Gráfica 1. - Tamaño tumoral en pacientes agrupados por metástasis ganglionar (p 0.0078)

PD-L1 POSITIVO EN CÉLULAS TUMORALES.

De las 59 pacientes encontradas con subtipo triple negativo, se realizó tinción de inmunohistoquímica en 50 pacientes, tres pacientes no contaban con bloques en el servicio y cinco no contaba con tejido en parafina suficiente para la realización de la tinción. De las 50 pacientes con tinción de inmunohistoquímica de PD-L1, resultaron positivas 29 casos (58%), siendo más alta a la reportada diversos estudios de Wang & Liu, 2020 que reportaron en su estudio una expresión positiva de PD-L1 muy baja en células tumorales (8,5 %) en carcinoma triple negativo, en el rango más bajo en comparación con una revisión sistemática reciente, basada en análisis de >2500 cánceres de mama, que reveló positividad de PD-L1 en el rango

21-56 % y 20-34 % en estudios previos. Esto puede ser debido a la clona utilizada en este estudio que fue CAL10, ya que se ha demostrado depende de la clona utilizada, en un estudio se utilizaron tres tipos de anticuerpos de PD-L1 (28-8, SP263, 22C3) tenían una buena consistencia, mientras que SP142 se tiñe en menos células tumorales. (Sakane et al., 2018).

Se encontró diferencia entre el grado histológico de Nottingham y los grupos con tinción de PD-L1 positiva y negativa. En el grupo con PD-L1 negativo se encontró como grado 1 a 1 paciente (4.8%), grado 2 a 12 pacientes (57.1%) y grado 3 a 8 pacientes (38.1%), mientras que en el grupo con PD-L1 positivo, el 82.8% de los pacientes se clasificó como grado 3 y el 17.2% como grado 2 ($p=0.046^{*U}$). Algo que ya se había establecido en diversos estudios, Kim et al., 2017 encontró que la expresión de PD-L1 en las células tumorales se asoció con un mayor grado histológico y metástasis en los ganglios linfáticos. El riesgo relativo agrupado para grado histológico más alto fue 1,87 (IC 95 %: 1,49–2,36, $Z = 5,32$, $p < 0,001$).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de infiltrado linfocítico tumoral ($p=0.008^{*U}$) y su clasificación del TIL's ($p= 0.006^{*U}$), siendo más alto el TIL's y frecuente en aquellos pacientes que expresan PD-L1 en células tumorales. Un hallazgo similar es el reportado en el estudio de Al-Jussani et al., 2021 donde todos los casos positivos para PD-L1 tenían más del 20 % de puntuación de expresión de TIL y el 61,11 % de los casos positivos para PD-L1 expresaron porcentajes altos (>40) de TIL. Grafica 2.

En el grupo positivo para PD-L1 en células tumorales, el infiltrado linfocítico tumoral fue negativo en 5 (17.2%) y positivo en 24 (82.8%) a la tinción de PD-L1, encontrándose diferencia de frecuencia con aquellos pacientes que fueron negativos a PD-L1 en células tumorales ($p= 0.003^{*Xi}$). Similar a la observada por Ni et al., 2022 donde se encontró que la

expresión de PD-L1 en células inflamatorias y PD-L1 en células tumorales se correlacionó positivamente entre sí ($P = 0,011$).

Los resultados demostraron que la positividad de PD-L1 fue más frecuente en células inflamatorias que en las células tumorales (TIL's 33 casos versus células tumorales 29 casos), concordante al estudio de Zhang et al., 2019 donde reportó que la expresión de PD-L1 tiende a expresarse en un mayor porcentaje y con mayor intensidad en TIL que en células tumorales en CMTN ($p = 0,006$ y $0,0005$, respectivamente). (Tabla 7 y Grafica 2)

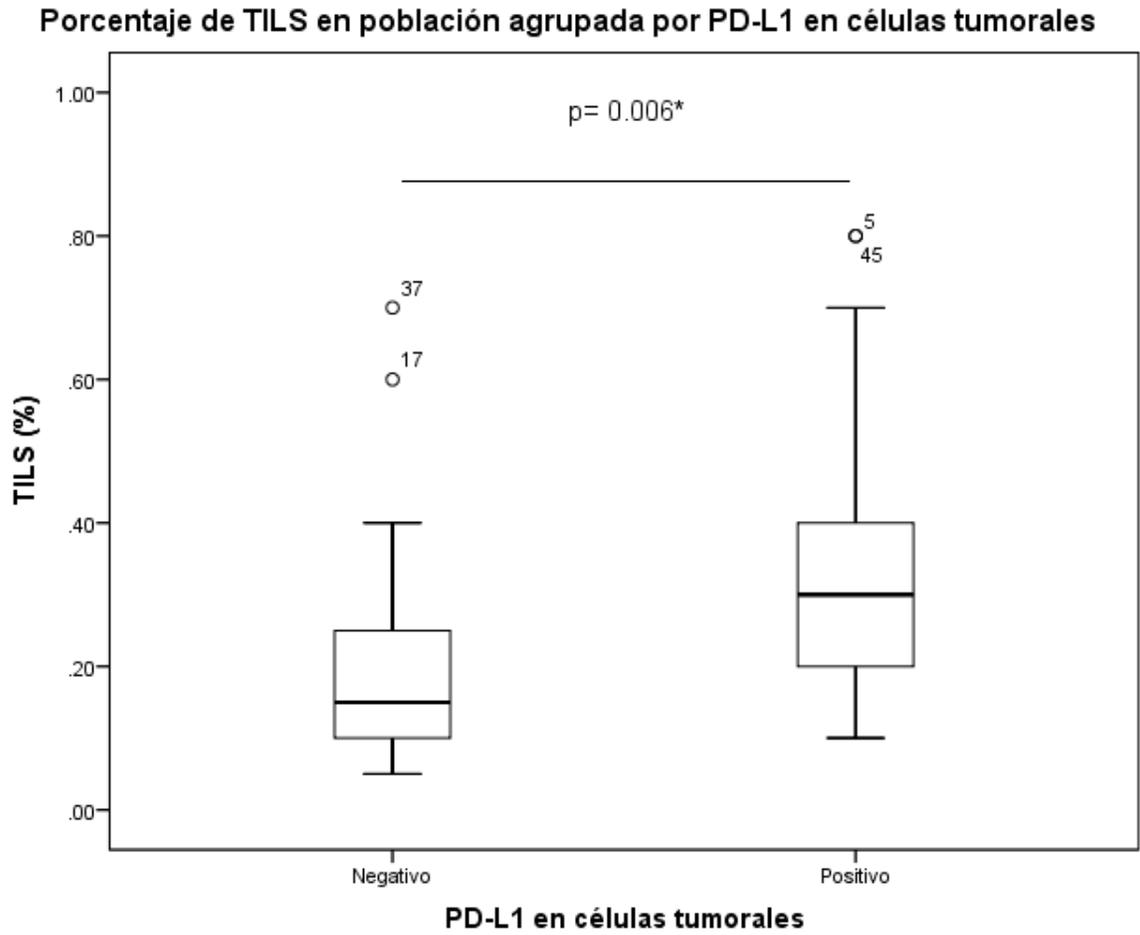
Tabla 7. Características de la población agrupada por PD-L1 en células tumorales.

	PD-L1 en células tumorales		p valor
	Negativo (n= 21)	Positivo (n= 29)	
Edad	50.86 ±8.82	51.17 ±11.77	0.420 ^t
Intervención			
<i>Cuadrantectomía</i>	6 (28.6%)	4 (13.8 %)	
<i>Cuadrantectomía MR</i>	0 (0%)	1 (3.4 %)	
<i>Mastectomía</i>	11 (52.4%)	16 (55.2%)	0.707 ^{Xi}
<i>Material de revisión</i>	3 (14.3%)	5 (17.2%)	
<i>Tumorectomía</i>	1 (4.8%)	2 (6.9%)	
<i>Tumorectomía MR</i>	0 (0%)	1 (3.4%)	
TNM			
Tamaño tumoral	2.4 (1.5 – 3.0)	2.5 (0.9 – 3.5)	0.882 ^U
Metástasis a ganglios			
<i>Ausente</i>	17 (81%)	25 (86.2%)	0.617 ^{Xi}
<i>Presente</i>	4 (19%)	4 (13.8%)	

Grado histológico nuclear				
	<i>1</i>	0 (0%)	0 (0%)	0.075 ^U
	<i>2</i>	11 (52.4%)	8 (27.6%)	
	<i>3</i>	10 (47.6%)	21 (72.4%)	
SBR/Nottingham				
Túbulos				
	<i>1</i>	1 (4.8%)	0 (0%)	0.043*^U
	<i>2</i>	8 (38.1%)	5 (17.2%)	
	<i>3</i>	12 (57.1%)	24 (82.8%)	
GN				
	<i>1</i>	0 (0%)	0 (0%)	0.057 ^U
	<i>2</i>	13 (61.9%)	10 (34.5%)	
	<i>3</i>	8 (38.1%)	19 (64.5%)	
Mitosis				
	<i>1</i>	2 (9.5%)	0 (0%)	0.543 ^U
	<i>2</i>	11 (52.4%)	17 (58.6%)	
	<i>3</i>	8 (38.1%)	12 (41.4%)	
Puntaje				
	<i>4</i>	1 (4.8%)	0 (0%)	0.035*^U
	<i>6</i>	3 (14.3%)	2 (6.9%)	
	<i>7</i>	9 (42.9%)	8 (27.6%)	
	<i>8</i>	5 (23.8%)	9 (31%)	
	<i>9</i>	3 (14.3%)	10 (34.5%)	
Grado histológico				

<i>Grado 1 de 3 a 5</i>	1 (4.8%)	0 (0%)	
<i>Grado 2 de 6 a 7</i>	12 (57.1%)	10 (34.5%)	0.046*^U
<i>Grado 3 de 8 a 9</i>	8 (38.1%)	19 (65.5%)	
Permeación linfovascular			
<i>Ausente</i>			
<i>Presente</i>	7 (33.3%)	11 (37.9%)	0.738 ^{Xi}
	14 (66.7%)	18 (62.1%)	
Calcificaciones			
<i>Ausente</i>	17 (81%)	26 (89.7%)	0.434 ^F
<i>Presente</i>	4 (19%)	3 (10.3%)	
TILS %	15 (10 – 25)	30 (20 – 40)	0.006*^U
TILS			
<i>Bajo (1 a 10%)</i>	9 (42.9%)	5 (17.2%)	
<i>Intermedio (10 a 40%)</i>	9 (42.9%)	10 (34.5%)	0.008*^U
	3 (14.3%)	14 (48.3%)	
<i>Alto (40 a 90%)</i>			
PD-L1 en células inflamatorias			
<i>Negativo</i>	12 (57.1%)	5 (17.2%)	0.003*^{Xi}
<i>Positivo</i>	9 (42.9%)	24 (82.8%)	

Se muestra media y desviación estándar (\pm) así como mediana y rangos intercuartiles (RIC25-75%). Se muestra la frecuencia en número y porcentaje para valores válidos. ^t Prueba t de Student, ^U Prueba U de Mann Whitney, ^{Xi} Prueba Chi cuadrada de Person, ^F Prueba exacta de Fisher.



Gráfica 2. – Porcentaje de Infiltrado inflamatorio tumoral agrupada por positividad de PD-L1 en células tumorales.

PD-L1 POSITIVO EN INFILTRADO INFLAMATORIO LINFOCITICO TUMORAL.

El infiltrado linfocítico tumoral fue negativo para PD-L1 en 17 casos y positivo en 33 casos, la mediana de expresión fue 10 (10 – 20) y 30 (20 – 40) respectivamente ($p=0.006^{*U}$). El rango de expresión se distribuyó de manera diferente entre los grupos ($p=0.0009$), para aquellos que fueron PD-L1 positivo en células inflamatorias, fue leve en 5 casos (15.2%), moderado en 14 casos (42.4%) y alto en 14 casos (42.4%). Este hallazgo demuestra que existe asociación entre un TIL's moderado y alto con una expresión de PD-L1, además de una expresión negativa de PD-L1 en células inflamatorias con TIL's más bajo. Este hallazgo es concordante con Evangelou et al., 2020 donde la expresión de PD-L1 en células tumorales y células inflamatorias revelaron una asociación significativa con TIL estromales altos (77,78 %, $p = 0,001$, 79,92 %, $p = 0,005$, respectivamente). (Tabla 8 y Grafica 3)

Para Stanton & Disis, 2016, reportaron que la expresión de PD-L1 se ha asociado con un aumento de los TIL y un mejor pronóstico en el cáncer de mama. En un estudio de 45 cánceres de mama primarios, el 89 % de los cánceres de mama PD-L1 +, tenían TIL moderados o difusos. Además, ninguno de los pacientes que tenían cáncer de mama PD-L1 + en el momento del diagnóstico desarrollaron recurrencia a distancia, mientras que el 15 % de los pacientes que tenían cáncer de mama PD-L1 - en el momento del diagnóstico desarrollaron recurrencia a distancia.

Las calcificaciones intratumorales en pacientes con PD-L1 negativo en células inflamatorias fueron ausentes en 12 (70.6%) y presentes 5 (29.4%) y aquellos con PD-L1 positivo

estuvieron ausentes en la mayoría de los casos 31 (93.9%) y presentes en 2 casos (6.1%) con una diferencia de frecuencia estadísticamente significativa entre los grupos ($p=0.037^{*F}$). En algunos microambientes tumorales, PD-L1 no se expresa constitutivamente por células tumorales, sino que puede expresarse en TIL en respuesta a señales inflamatorias que son producidas por una respuesta inmune antitumoral activa. Los TIL PD-L1+ en este entorno pueden equilibrar las actividades de linfocitos T citotóxicos y proteger a las células normales del sistema inmunitario de ataque.(Huang et al., 2019).

Tabla 8. Características de la población agrupada por PD-L1 en células inflamatorias.

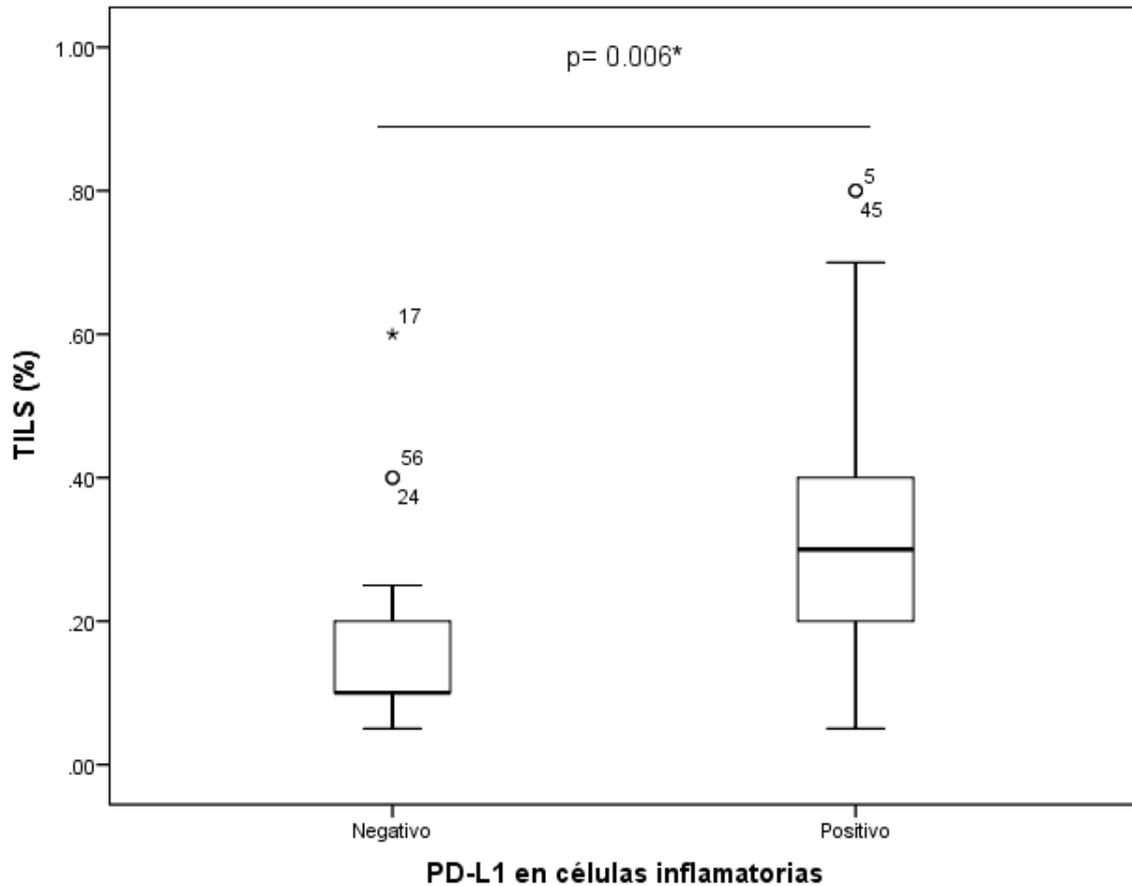
	PD-L1 en células inflamatorias		p valor
	Negativo (n=17)	Positivo (n= 33)	
Edad	53.00 ±8.31	50.03 ±11.50	0.350 ^t
Intervención			
<i>Cuadrantectomía</i>	5 (29.4%)	5 (15.2 %)	
<i>Cuadrantectomía MR</i>	0 (0%)	1 (3.0 %)	
<i>Mastectomía</i>	10 (58.8%)	17 (51.5%)	0.533 ^{Xi}
<i>Material de revisión</i>	2 (11.8%)	6 (18.2%)	
<i>Tumorectomía</i>	0 (0%)	3 (9.1%)	
<i>Tumorectomía MR</i>	0 (0%)	1 (3.0%)	
TNM			
Tamaño tumoral	2.5 (2.0 – 3.2)	2.0 (0.9 – 4.0)	0.517 ^U
Metástasis a ganglios			
<i>Ausente</i>	15 (88.2%)	27 (81.8%)	0.699 ^F

	<i>Presente</i>	2 (11.8%)	6 (18.2%)	
Grado histológico nuclear				
<i>1</i>		0 (0%)	0 (0%)	0.779 ^U
<i>2</i>		6 (35.3%)	13 (39.4%)	
<i>3</i>		11 (64.7%)	20 (60.6%)	
SBR/Nottingham				
Túbulos				
<i>1</i>		1 (5.9%)	0 (0%)	0.119 ^U
<i>2</i>		6 (35.3%)	7 (21.2%)	
<i>3</i>		10 (58.8%)	26 (78.8%)	
GN				
<i>1</i>		0 (0%)	0 (0%)	0.627 ^U
<i>2</i>		7 (41.2%)	16 (48.5%)	
<i>3</i>		10 (58.8%)	17 (51.5%)	
Mitosis				
<i>1</i>		1 (5.9%)	0 (0%)	0.573 ^U
<i>2</i>		10 (58.8%)	18 (54.5%)	
<i>3</i>		6 (35.3%)	14 (42.4%)	
Puntaje				
<i>4</i>		1 (5.9%)	0 (0%)	0.522 ^U
<i>6</i>		0 (0%)	5 (15.2%)	
<i>7</i>		9 (52.9%)	8 (24.2%)	
<i>8</i>		3 (17.6%)	11 (33.3%)	
<i>9</i>		4 (23.5%)	9 (27.3%)	

Grado histológico			
<i>De 3 a 5</i>	1 (5.9%)	0 (0%)	
<i>De 6 a 7</i>	9 (52.9%)	13 (39.4%)	0.151 ^U
<i>De 8 a 9</i>	7 (41.2%)	20 (60.6%)	
Permeación linfovascular			
<i>Ausente</i>			
<i>Presente</i>	3 (17.6%)	15 (45.5%)	0.052 ^{Xi}
	14 (82.4%)	18 (54.5%)	
Calcificaciones			
<i>Ausente</i>	12 (70.6%)	31 (93.9%)	0.037*^F
<i>Presente</i>	5 (29.4%)	2 (6.1%)	
TILS %	10 (10 – 20)	30 (20 – 40)	0.006*^U
TILS			
<i>Bajo (1 a 10%)</i>	9 (52.9%)	5 (15.2%)	
<i>Intermedio (10 a 40%)</i>	5 (29.4%)	14 (42.4%)	0.009*^U
	3 (17.6%)	14 (42.4%)	
<i>Alto (40 a 90%)</i>			

Se muestra media y desviación estándar (\pm) así como mediana y rangos intercuartiles (RIC25-75%). Se muestra la frecuencia en número y porcentaje para valores válidos. ^t Prueba t de Student, ^U Prueba U de Mann Whitney, ^{Xi} Prueba Chi cuadrada de Person, ^F Prueba exacta de Fisher.

Porcentaje de TILS en población agrupada por PD-L1 en células inflamatorias



Grafica 3.- Porcentaje de TIL's en pacientes con tinción de PD-L1 en células inflamatorias (p=0.006)

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO PATOLÓGICAS QUE AFECTAN LA EXPRESIÓN DE PD-L1 EN CÉLULAS TUMORALES

En un modelo de regresión logística múltiple, donde se tomó como variable dependiente en células tumorales (Tabla 9), no se encontró asociación con tamaño tumoral (p=0.834), metástasis a ganglios linfáticos (p=0.325) y grado histológico nuclear (p=0.058). En un análisis posterior, se tomó la variable con el estadístico de Wald más alto (Wald=3.584) y se realizó un modelo de regresión logística simple, donde no se encontró asociación con la

expresión de PD-L1 en células tumorales ($p=0.079$) la variable en el modelo fue el grado nuclear (Tabla 10). En un tercer modelo para la expresión de PD-L1 en células tumorales se consideró el grado histológico de Nottingham ($p=0.185$) y el porcentaje de TIL's ($p=0.063$). Finalmente, en un cuarto modelo, se consideró la variable con estadístico de Wald mayor que el previo (Wald= 3.450), encontrando asociación estadísticamente significativa [OR=1.041 (IC95%= 1.006-1.078); $p=0.023$]. Estos hallazgos sugieren que cada punto porcentual de TIL's aumenta la probabilidad de tener un PD-L1 positivo a una razón de B=0.041 (Tabla 12) en la función de logit.

Tabla 9. Regresión logística múltiple para PD-L1 positivo en células tumorales.

Variable	B	Wald	Error estándar	p	OR (IC95%)
<i>Tamaño tumoral</i>	0.034	0.044	0.164	0.834	1.035 (0.750 – 1.428)
<i>Metástasis a ganglios linfáticos (Presente)</i>	-0.844	0.970	0.857	0.325	0.430 (0.080 – 2.306)
<i>Grado histológico nuclear</i>	1.207	3.584	0.638	0.058	3.344 (0.958 – 11.699)

B: Coeficiente de regresión, OR: Odds ratio, IC95%: Intervalo de confianza al 95%, *Significancia estadística ($p<0.05$).

Tabla 10. Regresión logística simple para PD-L1 positivo en células tumorales.

Variable	B	Wald	Error estándar	p	OR (IC95%)
<i>Grado histológico nuclear</i>	1.060	3.093	0.603	0.079	2.887 (0.886 – 9.413)

B: Coeficiente de regresión, OR: Odds ratio, IC95%: Intervalo de confianza al 95%, *Significancia estadística (p<0.05).

Tabla 11. Regresión logística simple para PD-L1 positivo en células tumorales.

Variable	B	Wald	Error estándar	p	OR (IC95%)
<i>SBR/Nottingham</i>	0.802	1.753	0.606	0.185	2.230 (0.680 – 7.307)
<i>TILS (%)</i>	0.034	3.450	0.018	0.063	1.035 (0.998 – 1.073)

B: Coeficiente de regresión, OR: Odds ratio, IC95%: Intervalo de confianza al 95%, *Significancia estadística (p<0.05).

Tabla 12. Regresión logística simple para PD-L1 positivo en células tumorales.

Variable	B	Wald	Error estándar	p	OR (IC95%)
<i>TILS (%)</i>	0.041	5.198	0.018	0.023*	1.041 (1.006 – 1.078)

B: Coeficiente de regresión, OR: Odds ratio, IC95%: Intervalo de confianza al 95%, *Significancia estadística (p<0.05).

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO PATOLÓGICAS QUE AFECTAN LA EXPRESIÓN DE PD-L1 EN CÉLULAS INFLAMATORIAS.

En un modelo de regresión logística múltiple, donde se tomó como variable dependiente en células inflamatorias (Tabla 13), no se encontró asociación con tamaño tumoral ($p=0.545$), metástasis a ganglios linfáticos ($p=0.434$) y grado histológico nuclear ($p=0.711$). En un análisis posterior de regresión logística simple no se encontró asociación con grado histológico de Nottingham ($p=0.484$); se tomó la variable con el estadístico de Wald más alto para TIL's (Wald=4.242) y calcificaciones presentes (Wald=4.110), encontrando asociación estadísticamente significativa [OR=1.046 (IC95%= (1.002 – 1.092); $p=0.039$)] y [OR=0.134 (IC95%= (0.019 – 0.935); $p=0.043$)] respectivamente, estos hallazgos sugieren que la presencia de un porcentaje de TIL's elevado y la presencia de calcificaciones aumenta la probabilidad de tener PD-L1 positivo en células inflamatorias. (Tabla 14 y 15)

Tabla 13. Regresión logística múltiple para PD-L1 positivo en células inflamatorias.

Variable	B	Wald	Error estándar	p	OR (IC95%)
<i>Tamaño tumoral</i>	-0.100	0.366	0.166	0.545	0.904 (0.653 – 1.252)
<i>Metástasis a ganglios linfáticos (Presente)</i>	0.732	0.613	0.936	0.434	2.080 (0.332 – 13.012)
<i>Grado histológico nuclear</i>	-0.237	0.137	0.642	0.711	0.789 (0.224 – 2.774)

B: Coeficiente de regresión, OR: Odds ratio, IC95%: Intervalo de confianza al 95%, *Significancia estadística ($p<0.05$).

Tabla 14. Regresión logística simple para PD-L1 positivo en células inflamatorias.

Variable	B	Wald	Error estándar	p	OR (IC95%)
<i>SBR/Nottingham</i>	0.431	0.491	0.615	0.484	1.539 (0.461 – 5.140)
<i>TILS (%)</i>	0.045	4.242	0.022	0.039*	1.046 (1.002 – 1.092)

B: Coeficiente de regresión, OR: Odds ratio, IC95%: Intervalo de confianza al 95%, *Significancia estadística (p<0.05).

Tabla 15. Regresión logística simple para PD-L1 positivo en células inflamatorias.

Variable	B	Wald	Error estándar	p	OR (IC95%)
<i>TILS (%)</i>	0.055	4.889	0.025	0.027*	1.057 (1.006 – 1.110)
<i>Calcificaciones (Presentes)</i>	-2.009	4.110	0.991	0.043*	0.134 (0.019 – 0.935)

B: Coeficiente de regresión, OR: Odds ratio, IC95%: Intervalo de confianza al 95%, *Significancia estadística (p<0.05).

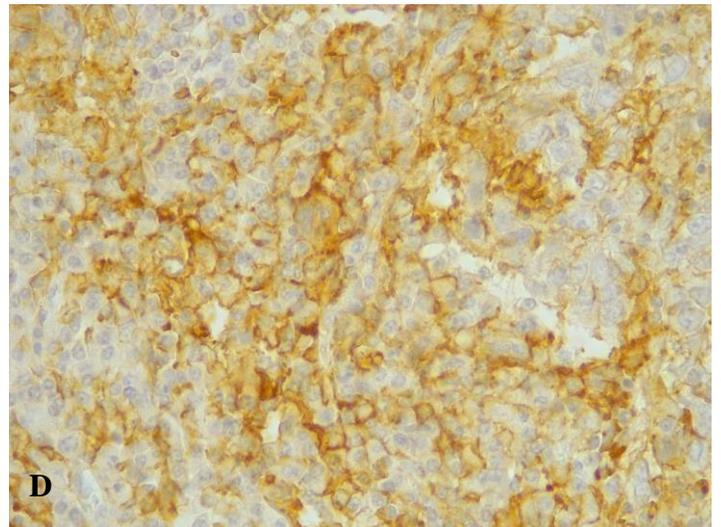
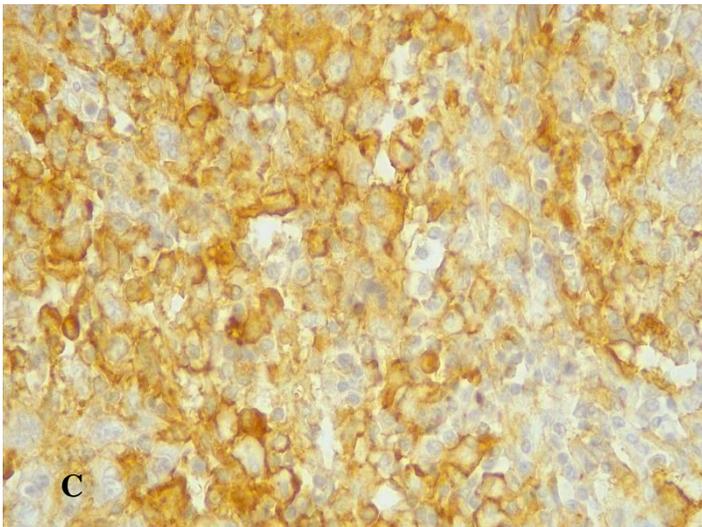
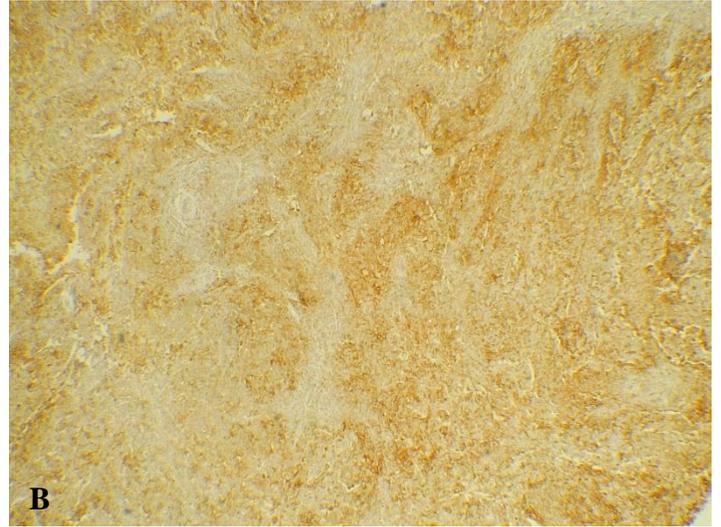
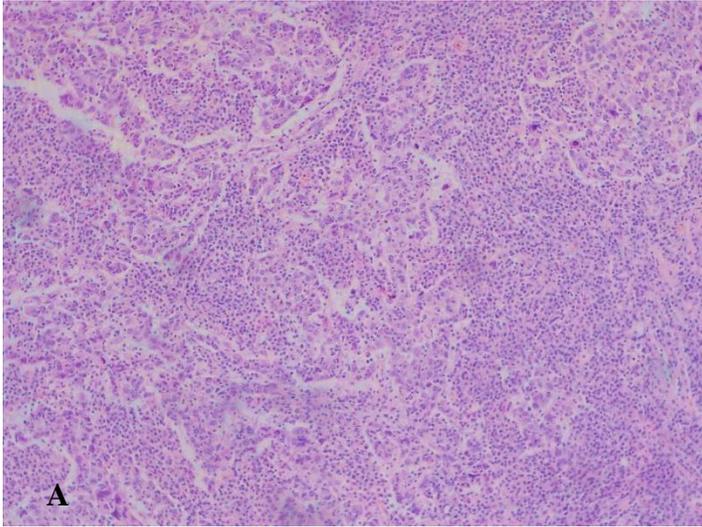


Imagen 4.- A.- Carcinoma infiltrante NST con TIL's elevado en H&E (4x). B.- Tinción PD-L1 positiva (4x). C.- Tinción positiva en células tumorales (40x) D.- Tinción positiva en células inflamatorias (40x). Fotografías tomadas por el médico residente de tercer año César Orlando Angulo Sánchez.

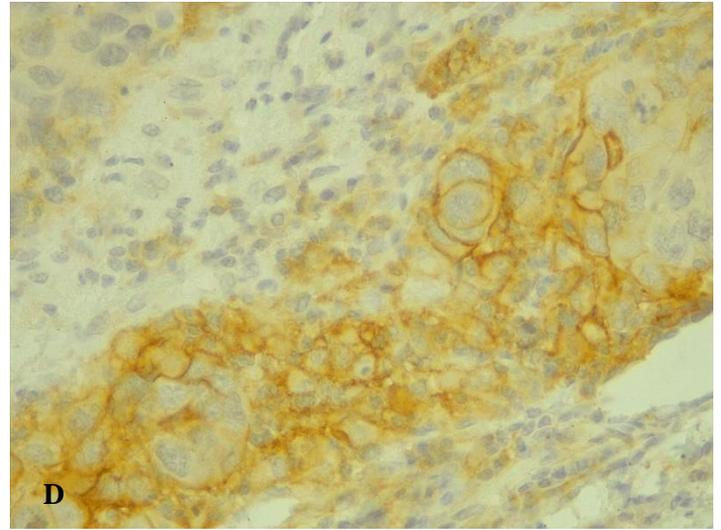
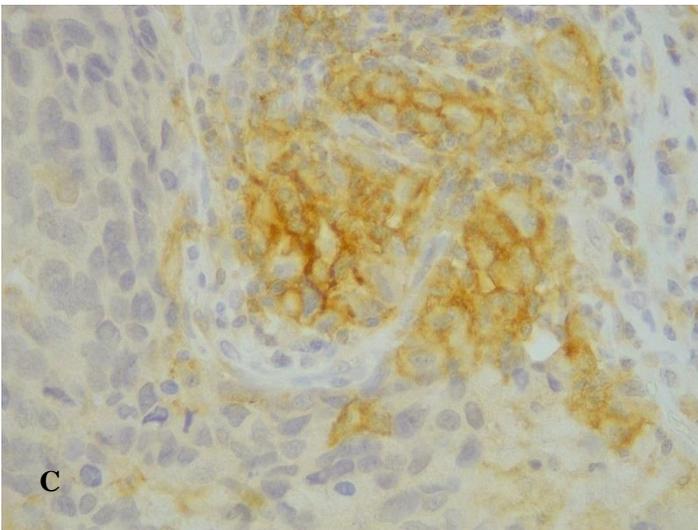
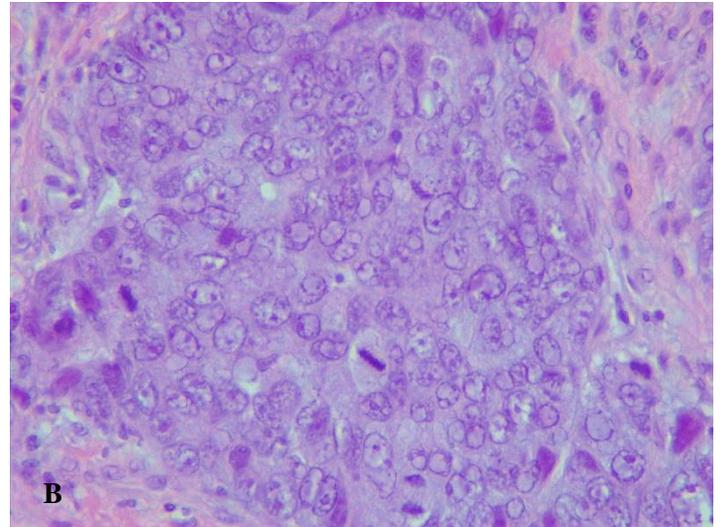
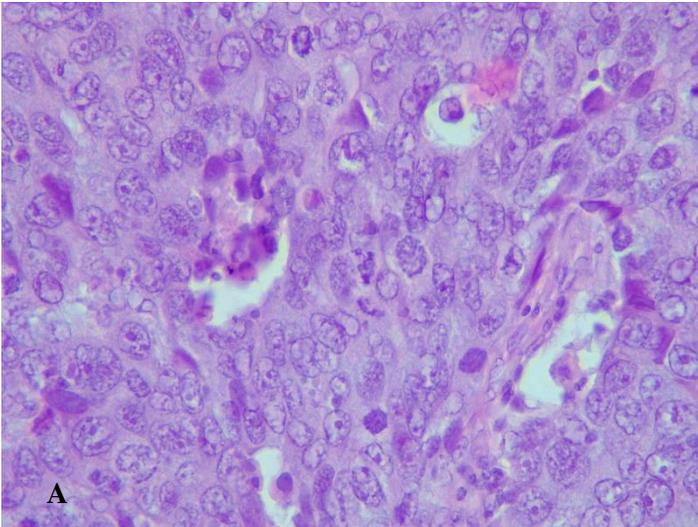


Imagen 5.- A y B) Carcinoma infiltrante NST grado histológico 3. C y D) Tinción positiva para células tumorales y células inflamatorias. Fotografías tomadas por el médico residente de tercer año César Orlando Angulo Sánchez.

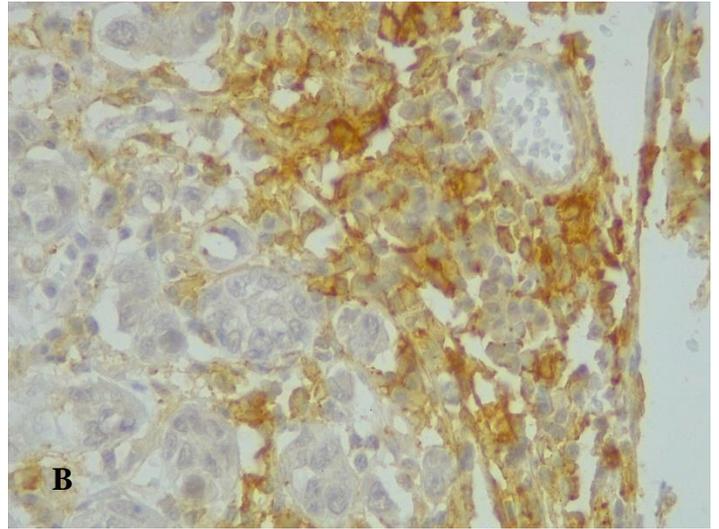
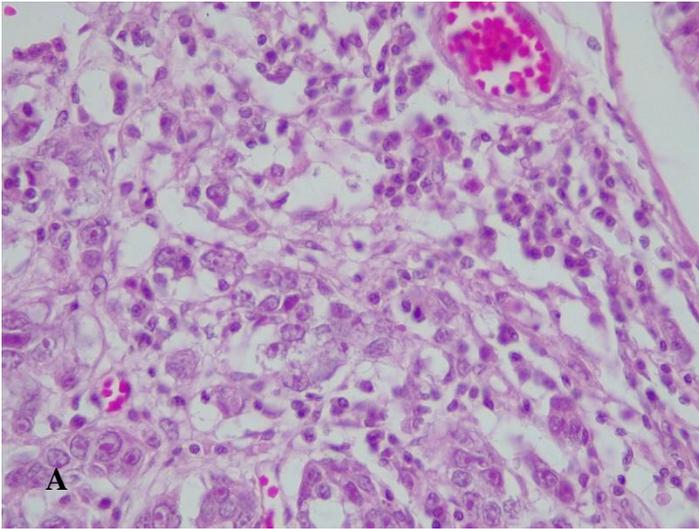


Imagen 6.-A) Carcinoma infiltrante NST con TIL's moderado (20x) B) Tinción positiva para células inflamatorias y negativa para células tumorales. (20x). Fotografías tomadas por el Médico residente de tercer año César Orlando Angulo Sánchez.

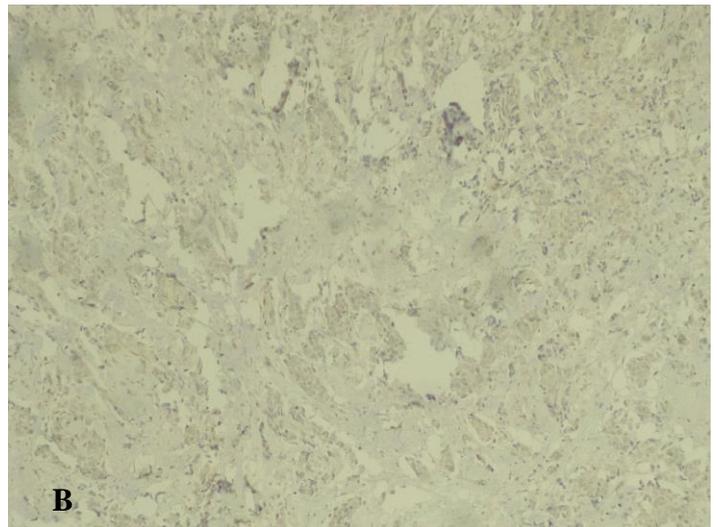
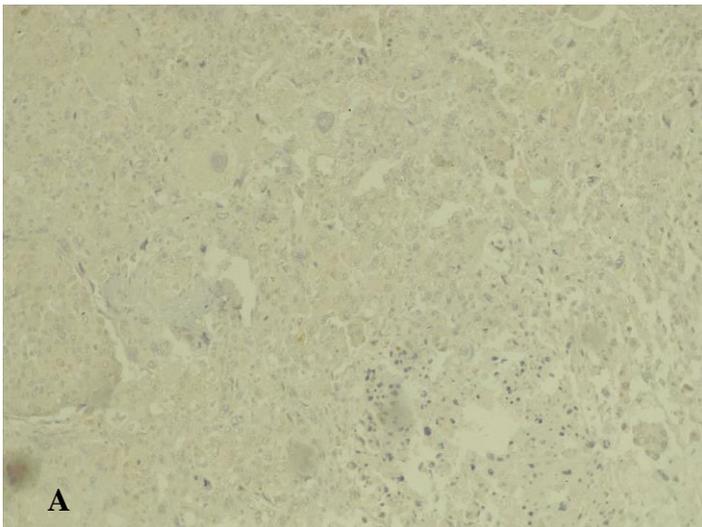


Imagen 7.- Tinción negativa en células tumorales e inflamatorias para PD-L1. (10x)
Fotografías tomadas por el Médico residente de tercer año César Orlando Angulo Sánchez.

CONCLUSIONES

En el Hospital General del Estado de Sonora el porcentaje de carcinoma infiltrante NST subtipo triple negativo es el tercer subtipo inmunohistoquímico más frecuente. En cuanto a las características clínico patológicas, se encontró que el grado histológico 3, TIL's elevados con un rango intermedio o alto y ausencia de microcalcificaciones se asocian a una expresión de PD-L1 en células tumorales y células inflamatorias con una $p < 0.05$ con lo que se confirma que existe correlación clínico-patológica con la expresión de PD-L1.

El infiltrado linfocítico tumoral elevado este asociado a una expresión de PD-L1 en células inmunitarias y células tumorales. La expresión de PD-L1 en células tumorales y células inflamatorias es elevada en más del 50% de los casos registrados en el HGE, pudiendo ser punto de partida para nuevos estudios que valoren la respuesta al tratamiento anti-PD-L1.

PD-L1 podría considerarse dentro del panel de inmunohistoquímica de todas aquellas pacientes con diagnóstico de subtipo triple negativo, por su alta expresión y probable opción terapéutica; siendo importante posteriormente la realización de un estudio prospectivo con un análisis de sobrevida.

LITERATURA CITADA

1. Ai, L., Chen, J., Yan, H., He, Q., Luo, P., Xu, Z., & Yang, X. (2020). Research status and outlook of pd-1/pd-l1 inhibitors for cancer therapy. In *Drug Design, Development and Therapy* (Vol. 14, pp. 3625–3649). Dove Medical Press Ltd.
<https://doi.org/10.2147/DDDT.S267433>
2. Aitken, E., & Osman, M. (2010). Factors affecting nodal status in invasive breast cancer: A retrospective analysis of 623 patients. *Breast Journal*, *16*(3), 271–278.
<https://doi.org/10.1111/j.1524-4741.2009.00897.x>
3. Al-Jussani, G. N., Dabbagh, T. Z., Al-Rimawi, D., & Sughayer, M. A. (2021). Expression of PD-L1 using SP142 CDx in triple negative breast cancer. *Annals of Diagnostic Pathology*, *51*. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2021.151703>
4. Begue, J. P., Begue, P., Rodríguez, L., Blumetti, H., & Alvarado, E. (2016). Clasificación molecular (ihq): subtipos intrínsecos y compromiso axilar. *Revista Argentina de Mastología*, *36*(128), 106–123.
5. Borri, F., & Granaglia, A. (2021). Pathology of triple negative breast cancer. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 72, pp. 136–145). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/j.semancer.2020.06.005>
6. Cabrera-Galeana, P., Soto-Perez-de-Celis, E., Reynoso-Noverón, N., Villarreal-Garza, C., Arce-Salinas, C., Matus-Santos, J., Ramírez-Ugalde, M. T., Alvarado-Miranda, A., Meneses-García, A., Lara-Medina, F., Torres-Dominguez, J., Bargalló-Rocha, E., & Mohar, A. (2018). Clinical characteristics and outcomes of older women with breast cancer in Mexico. *Journal of Geriatric Oncology*, *9*(6), 620–625.
<https://doi.org/10.1016/j.jgo.2018.04.003>
7. Cipriano, É., & Mesquita, A. (2021). Emerging Therapeutic Drugs in Metastatic Triple-Negative Breast Cancer. In *Breast Cancer: Basic and Clinical Research* (Vol. 15). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/11782234211002491>
8. College of American Pathologists. (2022). *Protocol for the Examination of Resection Specimens from Patients with Invasive Carcinoma of the Breast*.
www.cap.org/cancerprotocols
9. Consenso Mexicano 2021. (2021). Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario., 36–38.
10. Dent, R., Trudeau, M., Pritchard, K. I., Hanna, W. M., Kahn, H. K., Sawka, C. A., Lickley, L. A., Rawlinson, E., Sun, P., & Narod, S. A. (2007). Triple-negative breast cancer: Clinical features and patterns of recurrence. *Clinical Cancer Research*, *13*(15), 4429–4434. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-3045>
11. Dieci, M. v., Criscitiello, C., Goubar, A., Viale, G., Conte, P., Guarneri, V., Ficarra, G., Mathieu, M. C., Delalogue, S., Curigliano, G., & Andre, F. (2014). Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for

- triple-negative breast cancer: A retrospective multicenter study. *Annals of Oncology*, 25(3), 611–618. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt556>
12. Emens, L. A. (2018). Breast cancer immunotherapy: Facts and hopes. In *Clinical Cancer Research* (Vol. 24, Issue 3, pp. 511–520). American Association for Cancer Research Inc. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-3001>
 13. Erber, R., & Hartmann, A. (2020). Understanding PD-L1 Testing in Breast Cancer: A Practical Approach. In *Breast Care* (Vol. 15, Issue 5, pp. 481–490). S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000510812>
 14. Evangelou, Z., Papoudou-Bai, A., Karpathiou, G., Kourea, H., Kamina, S., Goussia, A., Harisis, H., Peschos, D., & Batistatou, A. (2020). PD-L1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer: Clinicopathological analysis in women younger than 40 years old. *In Vivo*, 34(2), 639–647. <https://doi.org/10.21873/invivo.11818>
 15. Fernández Parras, J., Bernet Vegué, E., & Fernández Parra, J. (2002). *Receptores hormonales en cancer de mama*.
 16. GLOBOCAN., WHO, & International Agency for Research on Cancer. (2020). *Mexico Source: Globocan 2020*.
 17. Goto, Y., Thike, A. A., Ong, C. C. H., Lim, J. X., Md Nasir, N. D., Li, H., Koh, V. C. Y., Chen, X. Y., Yeong, J. P. S., Sasano, H., & Tan, P. H. (2020). Characteristics, behaviour and role of biomarkers in metastatic triple-negative breast cancer. *Journal of Clinical Pathology*, 73(3), 147–153. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2019-206078>
 18. Guo, Y., Yu, P., Liu, Z., Maimaiti, Y., Wang, S., Yin, X., Liu, C., & Huang, T. (2016). Prognostic and clinicopathological value of programmed death ligand-1 in breast cancer: A meta-analysis. *PLoS ONE*, 11(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156323>
 19. Han, Y., Liu, D., & Li, L. (2020). PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. In *Am J Cancer Res* (Vol. 10, Issue 3). www.ajcr.us/
 20. Hendry, S., Salgado, R., Gevaert, T., Russell, P. A., John, T., Thapa, B., Christie, M., van de Vijver, K., Estrada, M. v., Gonzalez-Ericsson, P. I., Sanders, M., Solomon, B., Solinas, C., van den Eynden, G. G. G. M., Allory, Y., Preusser, M., Hainfellner, J., Pruner, G., Vingiani, A., ... Fox, S. B. (2017). Assessing Tumor-infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method from the International Immunooncology Biomarkers Working Group: Part 1: Assessing the Host Immune Response, TILs in Invasive Breast Carcinoma and Ductal Carcinoma in Situ, Metastatic Tumor Deposits and Areas for Further Research. In *Advances in Anatomic Pathology* (Vol. 24, Issue 5, pp. 235–251). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/PAP.000000000000162>
 21. Hoda, S. A., Hoda, R. S., Merlin, S., Shamonki, J., & Rivera, M. (2006). *Issues Relating to Lymphovascular Invasion in Breast Carcinoma*. <http://journals.lww.com/anatomicpathology>
 22. Huang, W., Ran, R., Shao, B., & Li, H. (2019). Prognostic and clinicopathological value of PD-L1 expression in primary breast cancer: a meta-analysis. In *Breast Cancer*

- Research and Treatment* (Vol. 178, Issue 1, pp. 17–33). Springer New York LLC.
<https://doi.org/10.1007/s10549-019-05371-0>
23. Iacoviello, L., Bonaccio, M., de Gaetano, G., & Donati, M. B. (2021). Epidemiology of breast cancer, a paradigm of the “common soil” hypothesis. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 72, pp. 4–10). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.02.010>
 24. INEGI. (2021). *COMUNICADO DE PRENSA NÚM. 571/21 18 DE OCTUBRE DE 2021 PÁGINA 1/5 ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL DÍA MUNDIAL DE LA LUCHA CONTRA EL CÁNCER DE MAMA (19 DE OCTUBRE)*.
<https://news.un.org/es/story/2021/02/1487492>
 25. Kim, H. M., Lee, J., & Koo, J. S. (2017). Clinicopathological and prognostic significance of programmed death ligand-1 expression in breast cancer: A meta-analysis. *BMC Cancer*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3670-1>
 26. Krishnamurti, U., & Silverman, J. F. (2014). *HER2 in Breast Cancer: A Review and Update*. www.anatomicpathology.com
 27. Lehmann, B. D., Bauer, J. A., Chen, X., Sanders, M. E., Chakravarthy, A. B., Shyr, Y., & Pietenpol, J. A. (2011). Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *Journal of Clinical Investigation*, 121(7), 2750–2767. <https://doi.org/10.1172/JCI45014>
 28. Martínez, M., García-Chagollan Mariel., Aguilar-Lemarroy, A., Hernández-Gutiérrez, R., & Leal-Herrera, Y. (2020). Subtipos moleculares y características clinicopatológicas de cáncer de mama en mujeres mexicanas. *Revista Mexicana Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 21–31.
 29. Neel, B. G., Gu, H., & Pao, L. (2003). The ‘Shp’ing news: SH2 domain-containing tyrosine phosphatases in cell signaling. In *Trends in Biochemical Sciences* (Vol. 28, Issue 6, pp. 284–293). Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(03\)00091-4](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(03)00091-4)
 30. Ni, Y., Tsang, J. Y., Shao, Y., Poon, I. K., Tam, F., Shea, K.-H., & Tse, G. M. (2022). Combining Analysis of Tumor-infiltrating Lymphocytes (TIL) and PD-L1 Refined the Prognostication of Breast Cancer Subtypes. *The Oncologist*, 27(4), e313–e327. <https://doi.org/10.1093/oncolo/oyab063>
 31. Pérez-Rodríguez, G. (2015). Prevalencia de subtipos por inmunohistoquímica del cáncer de mama en pacientes del Hospital General Regional 72, Instituto Mexicano del Seguro Social. *Cirugía y Cirujanos (English Edition)*, 83(3), 193–198. <https://doi.org/10.1016/j.circir.2015.05.003>
 32. Rakha, E. A., & Chan, S. (2011). Metastatic Triple-negative Breast Cancer. *Clinical Oncology*, 23(9), 587–600. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2011.03.013>
 33. Rakha, E. A., & Green, A. R. (2017). Molecular classification of breast cancer: what the pathologist needs to know. *Pathology*, 49(2), 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2016.10.012>
 34. Sakach, E., O’Regan, R., Meisel, J., & Li, X. (2021). Molecular Classification of Triple Negative Breast Cancer and the Emergence of Targeted Therapies. *Clinical Breast Cancer*. <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2021.09.003>

35. Sakane, T., Murase, T., Okuda, K., Takino, H., Masaki, A., Oda, R., Watanabe, T., Kawano, O., Haneda, H., Moriyama, S., Saito, Y., Yamada, T., Nakanishi, R., & Inagaki, H. (2018). *A comparative study of PD-L1 immunohistochemical assays with four reliable antibodies in thymic carcinoma*. www.impactjournals.com/oncotarget
36. Salmaninejad, A., Khoramshahi, V., Azani, A., Soltaninejad, E., Aslani, S., Zamani, M. R., Zal, M., Nesaei, A., & Hosseini, S. M. (2018). PD-1 and cancer: molecular mechanisms and polymorphisms. In *Immunogenetics* (Vol. 70, Issue 2, pp. 73–86). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00251-017-1015-5>
37. Sánchez, J. C., Rocha, J. E. B., Piña, V. B., Sánchez, G. C., Erazo Valle-Solís, A. A., Balcázar, C. H. F., Aziz, A. M., Sánchez, V. M. P., Chacón, A. P., González, E. S., Torres, L. T., Castillo, V. V., Wong, A. A. A., Sarvide, F. A., Pérez, S. A., Aloí-Timeus Salvato, T. F. I., Aguilar, S. A., Cabrero, I. A., Miranda, A. A., ... Queijeiro, M. A. V. (2017). Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cancer mamario. In *Gaceta Mexicana de Oncología* (Vol. 16, pp. 7–78). Publicaciones Permanyer. <https://doi.org/10.24875/j.gamo.m21000213>
38. Sawaki, M., Shien, T., & Iwata, H. (2019). TNM classification of malignant tumors (Breast Cancer Study Group). In *Japanese Journal of Clinical Oncology* (Vol. 49, Issue 3, pp. 228–231). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/jjco/hyy182>
39. Shen, X., Zhang, L., Li, J., Li, Y., Wang, Y., & Xu, Z. X. (2019). Recent findings in the regulation of programmed death ligand 1 expression. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 10, Issue JUN). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01337>
40. Soto-Perez-de-Celis, E., & Chavarri-Guerra, Y. (2016). National and regional breast cancer incidence and mortality trends in Mexico 2001-2011: Analysis of a population-based database. *Cancer Epidemiology*, 41, 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2016.01.007>
41. Stanton, S. E., & Disis, M. L. (2016). Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer. In *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* (Vol. 4, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s40425-016-0165-6>
42. Tan, P. H., Ellis, I., Allison, K., Brogi, E., Fox, S. B., Lakhani, S., Lazar, A. J., Morris, E. A., Sahin, A., Salgado, R., Sapino, A., Sasano, H., Schnitt, S., Sotiriou, C., van Diest, P., White, V. A., Lokuhetty, D., & Cree, I. A. (2020). The 2019 World Health Organization classification of tumours of the breast. In *Histopathology* (Vol. 77, Issue 2, pp. 181–185). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/his.14091>
43. Tsang, J. Y. S., & Tse, G. M. (2019). *Molecular Classification of Breast Cancer*. www.anatomicpathology.com
44. Vallejos, C., Gómez, H., Cruz, W., Pinto, J., Dyer, R., Velarde, R., Suazo, J., Neciosup, S., León, M., de La Cruz, M., & Vigil, C. (2010). Breast cancer classification according to immunohistochemistry markers: Subtypes and association with clinicopathologic variables in a peruvian hospital database. *Clinical Breast Cancer*, 10(4), 294–300. <https://doi.org/10.3816/CBC.2010.n.038>

45. Wang, X., & Liu, Y. (2020). PD-L1 expression in tumor infiltrated lymphocytes predicts survival in triple-negative breast cancer. *Pathology Research and Practice*, 216(3).
<https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.152802>
46. Zhang, L., Wang, X. I., Ding, J., Sun, Q., & Zhang, S. (2019). The predictive and prognostic value of Foxp3+/CD25+ regulatory T cells and PD-L1 expression in triple negative breast cancer. *Annals of Diagnostic Pathology*, 40, 143–151.
<https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2019.04.004>

ANEXOS

Anexo 1 Categorías según el diámetro del campo y el recuento mitótico tomado de College of American Pathologists, 2022

Puntuación de las categorías de recuentos mitóticos

Diámetro de campo (mm)	Área (mm ²)	Número de mitosis por 10 campos correspondientes a:		
		Puntaje 1	Puntaje 2	Puntaje 3
0.40	0.125	≤4	5 to 9	≥10
0.41	0.132	≤4	5 to 9	≥10
0.42	0.139	≤5	6 to 10	≥11
0.43	0.145	≤5	6 to 10	≥11
0.44	0.152	≤5	6 to 11	≥12
0.45	0.159	≤5	6 to 11	≥12
0.46	0.166	≤6	7 to 12	≥13
0.47	0.173	≤6	7 to 12	≥13
0.48	0.181	≤6	7 to 13	≥14
0.49	0.189	≤6	7 to 13	≥14
0.50	0.196	≤7	8 to 14	≥15
0.51	0.204	≤7	8 to 14	≥15
0.52	0.212	≤7	8 to 15	≥16
0.53	0.221	≤8	9 to 16	≥17
0.54	0.229	≤8	9 to 16	≥17
0.55	0.238	≤8	9 to 17	≥18
0.56	0.246	≤8	9 to 17	≥18
0.57	0.255	≤9	10 to 18	≥19

Anexo 2

Procedimiento 1.- Tinción de inmunohistoquímica de PD-L1.

- Bloque de peróxido: Bloquear durante 5 minutos con Peroxidazed 1.
- Pretratamiento: Realice la recuperación de calor usando Diva Decloaker.
- Anticuerpo primario: Incubar durante 30 minutos a TA.
- Sonda: N / A
- Polímero: Incubar durante 30 minutos a TA con un conjugado secundario
- polímero.

- Cromógeno: Incube durante 5 minutos a temperatura ambiente con DAB de Biocare
- Incubar durante 5-7 minutos a temperatura ambiente con WarpRed.
- Contratinción con hematoxilina. Enjuague con agua desionizada. Solicitar
- Solución Bluing de Tacha durante 1 minuto. Enjuague con agua desionizada