



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Medicina

Unidad de Posgrado

**“Tipos moleculares de carcinoma pulmonar en el
Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas en
pacientes atendidos entre los años 2007 y 2013”**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Medicina

AUTOR

Carlos Edmundo BARRIONUEVO CORNEJO

ASESOR

Dr. Mario MONTEGHIRFO GOMERO

Lima, Perú

2020



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Barrionuevo C. Tipos moleculares de carcinoma pulmonar en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas en pacientes atendidos entre los años 2007 y 2013 [Tesis doctoral]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Unidad de Posgrado; 2020.

HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

CÓDIGO ORCID DEL AUTOR:

<https://orcid.org/0000-0003-2474-914X>

CÓDIGO ORCID DEL ASESOR:

<https://orcid.org/0000-0002-1292-1187>

DNI DEL AUTOR:

10305360

GRUPO DE INVESTIGACIÓN:

María Rostworowski

INSTITUCIÓN QUE FINANCIA PARCIAL O TOTALMENTE LA INVESTIGACIÓN:

Ninguna

UBICACIÓN GEOGRÁFICA DONDE SE DESARROLLO LA INVESTIGACIÓN.
DEBE INCLUIR LOCALIDADES Y COORDENADAS GEOGRÁFICAS:

Lima, Perú

AÑO O RANGO DE AÑOS QUE LA INVESTIGACIÓN ABARCÓ:

2007 - 2013



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina



Vicedecanato de investigación y Posgrado
Sección Doctoral

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR

En la ciudad de Lima, a los ocho días, del mes de enero del año dos mil veinte, siendo las 12.20 hrs., ante el Jurado de Sustentación, bajo la Presidencia del **Dr. Luis Alberto Riva González**, y los Miembros del mismo, los Doctores:

Dr. LUIS ALBERTO RIVA GONZÁLEZ	PRESIDENTE
Dr. MAXIMILIANO CÁRDENAS DÍAZ	MIEMBRO
Dr. CARLOS ALBERTO SAAVEDRA BEVEAU	MIEMBRO
Dra. AURORA VILLAR CHAMORRO	MIEMBRO
Dr. MARIO MONTEGHIRFO GOMERO	ASESOR

El postulante al Grado de Doctor en Ciencias de la Salud, es Magister en Bioquímica, don: **CARLOS EDMUNDO BARRIONUEVO CORNEJO**, procedió a hacer la exposición y defensa pública de su Tesis titulada: "TIPOS MOLECULARES DE CARCINOMA PULMONAR EN EL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS EN PACIENTES ATENDIDOS ENTRE LOS AÑOS 2007 Y 2013", para optar el grado Académico de Doctor.

Concluida la exposición, se procedió a la evaluación correspondiente, después de la cual obtuvo la siguiente calificación de "A" EXCELENTE 19 (DIECINUEVE) a continuación el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad de Medicina, proponga que se le otorgue al Magister: **CARLOS EDMUNDO BARRIONUEVO CORNEJO**, el Grado Académico de Doctor en Medicina.

Se expide la presente Acta en seis originales y siendo las 13.15 hrs. horas, se da por concluido el acto académico de sustentación.


DR. MAXIMILIANO CÁRDENAS DÍAZ
MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN


DR. CARLOS ALBERTO SAAVEDRA LEVEAU
MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN


DRA. AURORA VILLAR CHAMORRO
MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN


DR. MARIO MONTEGHIRFO GOMERO
ASESOR DE LA TESIS




DR. LUIS ALBERTO RIVA GONZALES
PRESIDENTE DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN

Av. Grau 755 - Cercado de Lima - Apartado Postal 529 - Lima 100 - Perú - Telf: (511) 6197000

Anexo 4645 Web: www.unmsm.edu.pe/medicina

Dedicatoria:

Dedicado a mis padres por quienes soy médico y la persona que soy, a mi esposa e hijas con quienes formamos la familia que me inspira día a día y a mis maestros con quienes fui aprendiendo esta apasionante profesión.

Agradecimiento:

A mi asesor y colegas que participaron y contribuyeron con el desarrollo de esta tesis.

INDICE GENERAL

Página del jurado	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice	iv
Lista de tablas	v
Lista de figuras	vi
Resumen	vii
Abstrac	viii
CAPÍTULO 1: INTRODUCCION	1
1.1. Situación problemática	1
1.2. Formulación del problema	3
1.3. Justificación teórica	3
1.4. Justificación práctica	3
1.5. Objetivos	3
1.5.1. Objetivo general	3
1.5.2. Objetivos específicos	4
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO	5
2.1. Marco epistemológico de la investigación	5
2.2. Antecedentes de la investigación	6
2.3. Bases Teóricas	16
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA	17
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSION	23
4.1. Presentación de resultados	23
4.2. Análisis, interpretación y discusión de resultados	40
CONCLUSIONES	46
RECOMENDACIONES	47
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	48
ANEXOS	52

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1. Tipos histológicos de carcinoma de pulmón.

Tabla N° 2. Características patológicas, inmunofenotípicas y moleculares de carcinoma de pulmón.

Tabla N° 3. Relación de características clínicas y tipos histológicos con EGFR y ALK en carcinoma de pulmón.

Tabla N° 4. Características sociodemográficas, clínicas y estadio clínico de carcinoma de pulmón.

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 1. Caso de adenocarcinoma tipo acinar, grado 2.

Figura N° 2. Caso de adenocarcinoma tipo papilar, grado 1.

Figura N° 3. Caso de adenocarcinoma tipo lepidico, grado 1.

Figura N° 4. Caso de adenocarcinoma mucinoso, grado 1.

Figura N° 5. Caso de adenocarcinoma sólido, grado 3.

Figura N° 6. Caso de carcinoma de células grandes neuroendocrino, grado 3.

Figura N° 7. Caso de carcinoma de células pequeña, grado 3.

Figura N° 8. Curvas estimadas de la sobrevida global según mutación de EGFR en carcinoma de pulmón.

Figura N° 9. Caso de adenocarcinoma tipo acinar, TTF1 positivo.

Figura N° 10. Caso de adenocarcinoma tipo acinar, ALK positivo.

Figura N° 11. Curvas estimadas de la sobrevida global según delección de EGFR en carcinoma de pulmón.

Figura N° 12. Curvas estimadas de la sobrevida global según alteraciones del EGFR en carcinoma de pulmón.

Figura N° 13. Curvas estimadas de la sobrevida global según ALK en carcinoma de pulmón.

TIPOS MOLECULARES DE CARCINOMA PULMONAR EN EL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS EN PACIENTES ATENDIDOS ENTRE LOS AÑOS 2007 Y 2013

INTRODUCCION: La última clasificación de cáncer de pulmón de la OMS (2015), considera entre los tipos histológicos más frecuentes al adenocarcinoma y al carcinoma escamoso. El primero está asociado con mayor frecuencia a una serie de alteraciones moleculares con implicancias terapéuticas.

OBEJTIVO: Determinar las alteraciones moleculares más frecuentemente descritas en carcinoma de pulmón, en pacientes del instituto nacional de enfermedades neoplásicas entre los años 2007 y 2013.

METODOLOGIA: Se estudiaron 80 pacientes con diagnóstico de carcinoma broncogénico de pulmón y con muestras patológicas disponibles, reevaluándose las características histológicas y realizándose pruebas moleculares para la determinación de mutación y delección de EGFR y prueba de inmunohistoquímica para determinación de alteración de ALK, usando la clona D5F3.

RESULTADOS: 45.0% de pacientes fueron hombres y 55.0% mujeres, siendo la edad promedio de 64.7 años La mayoría de las pacientes tuvieron estadios clínicos avanzados (40% en estadio VI y 16.3% en estadio III). El tipo histológico más frecuente fue adenocarcinoma acinar (31.3%), seguido por adenocarcinoma mixto (26.3%) y adenocarcinoma lepidico (21.3%). 17.3% de los casos evaluados presentaron alteración del EGFR, principalmente delección del exón 19. Los casos con alteración del EGFR tuvieron menos sobrevida global, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa. No hubo predilección por los tipos histológicos de adenocarcinoma acinar, lepidico o mixto en los casos con alteraciones del EGFR. 6.5% de los casos evaluados mostraron sobreexpresión de ALK. La mayoría de los casos positivos fueron pacientes de mayor edad (más de 65 años) y fueron de tipo adenocarcinoma acinar. Se encontró una marcada tendencia a menor sobrevida global en los casos con sobreexpresión de ALK, aunque sin significancia estadística.

CONCLUSIONES: Los resultados encontrados son similares a los descritos en la literatura occidental. Debido a las implicancias terapéuticas en relación con las alteraciones moleculares en cáncer de pulmón, su determinación debe ser parte de la evaluación integral de estos pacientes.

Palabras claves: carcinoma broncogénico, adenocarcinoma, pulmón, EGFR, ALK.

MOLECULAR TYPES OF PULMONARY CARCINOMA IN THE NATIONAL INSTITUTE OF NEOPLASTIC DISEASES IN PATIENTS TREATED BETWEEN THE YEARS 2007 AND 2013

INTRODUCTION: The latest classification of lung cancer from WHO (2015), considers adenocarcinoma and squamous carcinoma among the most frequent histological types. The first is associated with the higher frequency of a series of molecular alterations with therapeutic implications.

OBJECTIVE: To determine the most frequent molecular alterations described in lung carcinoma, in patients of the national institute of neoplastic diseases between 2007 and 2013.

METHODOLOGY: 80 patients with a diagnosis of bronchogenic carcinoma of the lung and with available pathological samples were studied, the histological characteristics were reassessed and molecular tests were performed for the determination of mutation and deletion of EGFR, and immunohistochemistry test for the diagnosis of ALK alteration, using clone D5F3.

RESULTS: 45.0% of patients were men and 55.0% women, the average age being 64.7 years. Most patients had advanced clinical stages (40% in stage VI and 16.3% in stage III). The most frequent histological type was acinar adenocarcinoma (31.3%), followed by mixed adenocarcinoma (26.3%), and lepidic adenocarcinoma (21.3%). 17.3% of the cases evaluated presented alteration of the EGFR, mainly the deletion of exon 19. The cases with alteration of the EGFR had less overall survival, but the difference was not statistically significant. There was no predilection for histological types of acinar, lepidic or mixed adenocarcinoma in cases with EGFR alterations. 6.5% of the cases evaluated showed overexpression of ALK. The majority of positive cases were older patients (over 65 years), and were acinar adenocarcinoma. A marked tendency to lower overall survival was found in cases with ALK overexpression, although without statistical significance.

CONCLUSIONS: The results found are similar to those found in western literature. Due to the therapeutic implications in relation to molecular alterations in lung cancer, their determination should be part of the comprehensive evaluation of these patients.

Key words: bronchogenic carcinoma, adenocarcinoma, lung, EGFR, ALK.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCION

1.1 Situación problemática

Las primeras tentativas de clasificar al cáncer de pulmón se dieron en 1924 y 1926, con clasificaciones basadas en hallazgos morfológicos. En 1924, Marchesani los divide en: (1) carcinoma de células basales, (2) carcinoma polimorfocelular, (3) carcinoma escamoso queratinizante y (4) adenocarcinoma de células cilíndricas (Kreyberg L, Liebow AA, Uchinger EA, 1967). Dos años después, Bernard reconoce el carcinoma de células pequeñas (Watson WL, Berg JW, 1962). Años después vendrían las clasificaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), siendo la última la del año 2015 (Travis W, Brambilla E, Burke AP, Marx A, and Nicholson AG, 2015). Excepto el carcinoma de células pequeñas, por muchos años, el resto de los tipos histológicos no había tenido una verdadera relevancia para el tratamiento médico, lo que determinó que, hasta hace poco tiempo, el dato más importante para este tratamiento era si correspondían a carcinoma (1) tipo células pequeñas (SCLC) y (2) tipo células no pequeñas (NSCLC). Actualmente, la implicancia de los subtipos de SCLC ha adquirido gran relevancia sobre todo la distinción entre adenocarcinoma (ADC) y carcinoma escamoso (SCC) debido principalmente a la asociación entre ADC y ciertas alteraciones moleculares con implicancias terapéuticas (Travis W, Brambilla E, Burke AP, Marx A, and Nicholson AG, 2015).

Dentro del espectro de los carcinomas pulmonares actualmente se reconocen subtipos moleculares clínicamente relevantes, como son, los carcinomas asociados a mutaciones del receptor del factor de crecimiento epidermal (EGFR), quinasa del linfoma anaplásico (ALK), K-RAS y Her2Neu (West L, Vidman SJ, Campbell NP, et al., 2012). Diversas publicaciones han descrito múltiples mecanismos moleculares que están implicados en el desarrollo, progresión y pronóstico del cáncer de pulmón y han creado nuevas oportunidades para la terapia blanco, lo que ha mejorado notablemente el pronóstico de estos pacientes (Dacig S and Yousem SA, 2010); (Stieber P and Holdenreider S , 2010) y (Agguarwal Ch, Somaiah N, and Simon G, 2010). Los

diferentes subtipos moleculares del cáncer de pulmón están basados en aberraciones genéticas específicas y cada uno de éstos está asociado con pruebas moleculares que definen el subtipo y las drogas que potencialmente pueden ser utilizadas para el tratamiento.

Uno de los problemas que han surgido con el uso de técnicas moleculares para la detección de mutaciones genéticas, es el del alto costo y el tiempo que estas demandan, por lo que la utilidad para el uso clínico es limitada, dependiendo de una serie de factores, principalmente el económico. Sin embargo, es incuestionable la gran importancia que estas pruebas tienen para el estudio masivo de neoplasias malignas en búsqueda de rutas moleculares y blancos terapéuticos (West L, Vidman SJ, Campbell NP, et al., 2012). La técnica de inmunohistoquímica puede determinar las proteínas que son codificadas por los genes alterados, de tal forma que, en casos específicos, como es el carcinoma mamario, se utiliza como biomarcador la proteína de Her2Neu. En este caso, dependiendo de la negatividad o del grado de positividad, se utilizará la droga específica. La evaluación debe considerar la intensidad y el porcentaje de reacción, de tal modo que una reacción de 3+ implica el uso de la trastuzumab y una reacción de 2++ obliga a que este resultado tenga que ser corroborado con la técnica de FISH o CIHS (Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al., 2005). Este sistema de detección, que utiliza la inmunohistoquímica ha demostrado ser de gran utilidad clínica, además del hecho de usar una técnica no compleja, de bajo costo y relativamente rápida en el análisis de resultados (Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, et al., 2005).

En el caso de cáncer de pulmón, se ha venido sugiriendo el uso de la inmunohistoquímica como método de screening, especialmente en el caso de la determinación de alteraciones de las proteínas EGFR y ALK, sin embargo, aún no se ha producido un consenso respecto a la primera, si habiéndose aprobado la determinación de la expresión inmunohistoquímica de la proteína ALK por la administración de alimentos y drogas de Estados Unidos (FDA) con fines de tratamiento (Travis W, Brambilla E, Burke AP, Marx A, and Nicholson AG, 2015); (Kawahara A, Yamamoto Ch, Nakashima K, et al., 2010); (Brevet M, Arcilla M, and Ladanyi M., 2010) y (Mino-Kenudson M, Chirieac LR, Law K, Homick JL, et al., 2010).

1.2 Formulación del problema

¿Cuáles es la frecuencia de los tipos moleculares de carcinoma de pulmón con mutación de EGFR y sobreexpresión de la proteína ALK en los pacientes atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) en el periodo 2007 - 2013?

1.3 Justificación teórica

De acuerdo con la dirección general de epidemiológica de cáncer del ministerio de salud en nuestro país, de un total de 109914 casos notificados en el período 2006-2011, hubo 5044 casos de cáncer de pulmón, lo que corresponde a un 4.6% del total de los casos, ocupando el sexto lugar en frecuencia, habiendo fallecido 3047 pacientes solo en el año 2011 (Ramos WC, Venegas DR, Medina JL, y col., 2013). Esto lo ubica como uno de los cánceres más mortales en nuestro medio, lo mismo que ocurre en el resto del mundo.

1.4 Justificación práctica

El advenimiento de las plataformas moleculares y el diseño de terapias dirigidas al blanco están cambiando esta situación de forma dramática. Esto hace necesario que conozcamos el comportamiento biológico y molecular de esta neoplasia en nuestro país, con miras a un mejor diseño de estrategias terapéuticas.

1.5 Objetivo

1.5.1 Objetivo general:

Determinar la frecuencia de los subtipos moleculares del carcinoma de pulmón en pacientes atendidos en el INEN de acuerdo con la determinación de mutaciones del EGFR y sobreexpresión de ALK entre los años 2007 y 2013, utilizando técnicas moleculares y de inmunohistoquímica.

1.5.2 Objetivos específicos:

1. Determinar la frecuencia de los diferentes tipos histológicos del carcinoma de pulmón en pacientes atendidos en el INEN entre los años 2007 y 2013, de acuerdo con la clasificación vigente de la OMS.
2. Describir las características citológicas, histopatológicas e inmunofenotípicas en los pacientes mencionados
3. Determinar la correlación entre los tipos histológicos OMS y los tipos moleculares asociados a EGFR y ALK de carcinoma de pulmón en los pacientes mencionados.
4. Describir las características sociodemográficas, clínicas y el estadio clínico (TNM) en los pacientes mencionados.

CAPITULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1 Marco epistemológico de la investigación

En la actualidad, el conocimiento biológico de las diversas enfermedades oncológicas se ha incrementado de forma acelerada debido al desarrollo tecnológico, gracias a lo cual, se han realizado numerosas investigaciones en el área genético molecular (Ziogas DE, Katsios C, Roukos DH, 2011); (Imran A, Qamar HY, Ali Q, et al., 2017).

Estos conocimientos también se han trasladado al campo clínico, remarcando la relación entre la biológica molecular de las neoplasias malignas y el comportamiento clínico, lo que ha impactado en la posibilidad de dar tratamientos personalizados. En la actualidad, los métodos de diagnóstico histológico y molecular han sido beneficiados por el desarrollo de la tecnología, mejorándose la automatización de los procesos en los diversos laboratorios. Incluso, ahora se puede realizar la detección de mutaciones relacionadas al cáncer en sangre periférica (biopsia líquida). Para el uso masivo de los métodos diagnósticos modernos, debe haber colaboración entre los gobiernos e industrias farmacéuticas para crear plataformas de despistaje molecular, que estén al alcance de la población general (Stahel R, Bogaerts J, Ciardiello F, et al., 2015); (Fisher R, Pusztai L, Swanton C, 2013); (O'Brien CP, Taylor SE, O'Leary JJ, Finn SP, 2014); (Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, et al., 2013) y (Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Bardelli A, 2013).

En relación con el cáncer pulmonar, se han producido cambios epidemiológicos en los últimos años, observándose una disminución de la frecuencia del SCC y del SCLC, los cuales están asociados al alto consumo de tabaco, incrementándose la frecuencia de ADC no asociado a este carcinógeno, ligado a mutaciones genéticas descubiertas en los últimos años, sobre todo en la población femenina (de Groot PM, Wu CC, Carter BW, and Munden RF, 2018); (Kashima J, Kitadai R, Okuma Y, 2019) y (Rudin CM, Poirier JT, Byers LA, et al., 2019).

Actualmente, el cáncer pulmonar y otras neoplasias malignas se están clasificando, integrando las características histológicas y los conocimientos biológicos en relación con inmunofenotipo y alteraciones genético-moleculares. La intención es desarrollar clasificaciones con sentido práctico e implicancias terapéuticas. Específicamente, en

cáncer de pulmón, deben permitir predecir la evolución clínica, utilizando un tratamiento personalizado, eficaz y curativo. Asimismo, recientemente, se ha observado que la estimulación del sistema inmune (inmunoterapia) es otra herramienta eficaz en el tratamiento del NSCLC y SCLC (Kashima J, Kitadai R, Okuma Y , 2019); (Hoadley KA, Yau C, Wolf DM, et al., 2014); (Travis WD, 2011); (Jordan, E. J. et al., 2017); (Gazdar, AF, Bunn, PA & Minna JD, 2017) y (Ott, PA et al., 2017).

2.2 Antecedentes de investigación

Pøhl M, Olsen KE, Holst R, Ditzel HJ, Hansen O, 2014:

Los autores evalúan la confiabilidad del método de inmunohistoquímica usando 11 biomarcadores en biopsias core, usando microarrays de tejido (TMAs) en pacientes con carcinoma de pulmón NSCLC.

Se examinaron biopsias core de 4 mm de 178 NSCLCs, 2 representativas de áreas periféricas cercanas al tejido pulmonar normal y 2 representativas de áreas centrales. Los biomarcadores analizados incluyeron p63, p40, Citoqueratinas 1/5/10/14, Citoqueratina 7, Factor de Transcripción Tiroidea 1, Napsina A, Ciclina-D1, p53, Ki-67, Integrina Beta-1 y Timidilato Sintetasa.

Usando un modelo de regresión logística de intercepción aleatorio, se observó que la expresión de marcadores de inmunohistoquímica tuvo de moderada a alta confiabilidad, usando el coeficiente de correlación intraclase (0.67-0.99) entre biopsias core del mismo tumor. La confiabilidad, con biomarcadores específicos de linaje, fue dependiente del biomarcador seleccionado, siendo menos heterogéneamente expresados que en los biomarcadores funcionales. La expresión de la mayoría de los biomarcadores no mostró diferencias significativas entre las biopsias core periféricas vs centrales.

Los resultados demostraron que los biomarcadores relacionados a la clasificación tumoral clínica (marcadores de linaje celular) de los NSCLC, pueden ser adecuadamente investigados usando 1 o 2 biopsias. Sin embargo, el número óptimo de biopsias core para biomarcadores con propiedades funcionales varió entre 1 a más de 4 biopsias. Los resultados indicaron que el número óptimo de biopsias que se requieren para compensar el potencial de heterogeneidad del biomarcador debe ser determinado individualmente por cada biomarcador usado, de acuerdo con el contexto clínico.

Sakashita S, Sakashita M, Sound Tsao M, 2014:

Mientras que la histopatología tradicionalmente ha sido la piedra angular para la toma de decisiones en el tratamiento del cáncer pulmonar, la complejidad y la heterogeneidad de la clasificación histológica ha tenido un impacto limitado en la práctica rutinaria de la oncología. Esto ha cambiado dramáticamente en los últimos años debido al descubrimiento de las aberraciones genómicas y al resultado de los ensayos clínicos y las nuevas terapias dirigidas al blanco. Esos descubrimientos han resultado en una forma de clasificar el NSCLC, basada en la ocurrencia de cambios genómicos. La rapidez con que el panorama de los cambios genómicos está siendo identificado también ha permitido un nuevo paradigma en el enfoque del diagnóstico patológico del NSCLC. En este contexto, el consorcio internacional ha propuesto nuevas clasificaciones del adenocarcinoma pulmonar y guías para las pruebas moleculares, así como recomendaciones concretas en nuevas formas para la práctica de la patología en cáncer de pulmón.

Bjaanaes MM, Halvorsen AR, Solberg S, et al., 2014:

Los autores estudian la expresión de microRNA en biopsias de pacientes con ADC y sus tejidos pulmonares normales correspondientes, correlacionando los hallazgos con los datos clínicos y el estatus de las mutaciones de EGFR y KRAS. Se usaron microarrays, examinando la expresión de microRNA en 154 especímenes quirúrgicos resecados de adenocarcinoma pulmonar y 20 muestras de tejido pulmonar correspondiente. Los hallazgos fueron confirmados RT-qPCR en la misma cohorte en 103 pacientes con cáncer de pulmón. Las mutaciones de EGFR y KRAS también fueron determinadas. Se expresaron significativamente 129 microRNAs comparados con el tejido normal y 17 microRNAs fueron diferencialmente expresados en tumores con mutación de EGFR y tumores con EGFR nativo. Los autores identificaron microRNAs asociados con el tiempo de progresión, así como varias expresiones aberrantes microRNAs que discriminan ADC pulmonar de tejidos pulmonares normales, por lo que podrían ser potenciales biomarcadores para la detección temprana. También encontraron microRNAs que son diferencialmente expresados entre el EGFR-mutado y el EGFR nativo en adenocarcinoma pulmonar, sugiriendo que los marcadores biomoleculares de microRNAs pueden ser usados en la clasificación. Los autores proponen que la expresión de microRNA puede ser usada como biomarcador para el curso clínico.

Yu H, Han Z, Wang Y, Xin H, 2014:

En este artículo, los autores se focalizan en los aspectos básicos del cáncer pulmonar, como la etiología, factores de riesgo y la evolución clonal. La exposición al tabaco se constituye como una de las mayores causas de esta enfermedad. Se discute la clasificación del cáncer de pulmón basada en inmunohistoquímica, así como el enfoque terapéutico moderno con su pro y contras. Técnicas recientes como el perfil molecular pueden ser altamente beneficiosas si están apropiadamente estandarizadas. Estos avances en la terapia junto con la actualización en el diagnóstico implican una esperanza real en el tratamiento del cáncer pulmonar.

Wang CX, Liu B, Wang YF, et al., 2014:

Los autores discuten el denominado adenocarcinoma pulmonar entérico (PEAC), una variante extremadamente rara de adenocarcinoma invasivo de pulmón, el mismo que fue reconocido en la clasificación internacional multidisciplinaria del cáncer pulmonar, propuesta por la “International Association for the Study of Lung Cancer” (IASLC), la “American Thoracic Society” (ATS), y la “European Respiratory Society” (ERS) publicada en 2011. Histológicamente el PEAC se considera que está compuesto principalmente por células columnares dispuestas en un arreglo glandular irregular cavilado o en un patrón cribiforme, con extensa necrosis central, lo que recuerda al epitelio intestinal y al carcinoma colorectal. Inmunohistoquímicamente el PEAC no expresa proteínas típicas comunes para primarios pulmonares, pero si es positiva, al menos, en un marcador intestinal, tales como CDX2, Citoqueratina (CK) 20, MUC2, de este modo, diferenciar los PEACs de los cánceres metastásicos colorectales, puede ser dificultoso. En el presente estudio, los autores reportan 9 casos de PEAC usando un panel de inmunohistoquímica constituido por CK7, CK20, factor de transcripción 1 (TTF-1), Napsin-A, MUC2 y Villina, en comparación con 20 casos típicos de carcinoma colorectal carcinomas (MCRs) y 20 casos típicos de adenocarcinoma primario (tPACs). Como se esperaba la expresión de CK7 fue documentada en los 9 PEACs y en los 20 tPCAs, mientras que CK20 fue significativamente más prevalente en adenocarcinoma colorectal. Adicionalmente, los autores evaluaron mutaciones para EGFR y KRAS en los 9 casos de PEACs, resultando que todos los tumores fueron de tipo EGFR y KRAS nativos, lo que confirma que el PEAC tiene un fenotipo diferente al adenocarcinoma pulmonar.

Roth JA, Billings P, Ramsey SD, et al., 2014:

El objetivo del presente estudio fue evaluar el costo-efectividad del estudio molecular de 14 genes que proveen información sobre el riesgo de mortalidad en estadios temprano de NSCLC postquirúrgica. Los autores desarrollaron el modelo de Markov para estimar la expectativa de vida, calidad de vida ajustada a los años (QALYs) y el costo para hacer los análisis versus el costo estándar. La clasificación de grupos de riesgo se basó en estudios de ensayo-validación y la administración de quimioterapia se basó en recomendaciones pre y post-test de un estudio de 58 médicos clínicos. Los autores evaluaron tres escenarios de beneficio de la quimioterapia: moderadamente predictivo (caso base), no predictivo (por ejemplo, el mismo beneficio para cada grupo) y fuertemente predictivo. Se calculó el incremento del ratio costo-efectividad (ICER) y el análisis de sensibilidad probabilístico. En el caso base, la prueba y la estrategia de cuidado estándar, resultó en 6.81 y 6.66 años de vida, 3.76 y 3.68 QALYs, y \$122,400 y \$118,800 en costos, respectivamente. El ICER fue \$23,200 por QALY (estadio I: \$29,200 por QALY; estadio II: \$12,200 por QALY). El ICER osciló desde "dominante" para \$92,100 por QALY y escenarios no predictivos y fuertemente predictivos. El modelo fue más sensitivo para la proporción de pacientes de alto riesgo que recibieron quimioterapia y el ratio riesgo alto-riesgo. La estrategia de ensayo de score de riesgo de 14 genes fue 68% de simulación costo-efectividad. En conclusión, los resultados sugieren que el ensayo de score de 14 genes de alto riesgo puede ser una alternativa costo-efectividad a la base guía estándar de quimioterapia adyuvante realizada para el NSCLC.

Wright GM, Do H, Weiss J, et al., 2014:

Una reciente propuesta estratifica al adenocarcinoma pulmonar en subtipos diferentes de acuerdo con su potencial metastásico. Los autores cuestionan la presunción que mutaciones mayores están uniformemente presentes en los tumores, especialmente en los que muestran subtipos diferentes discretos. Los autores seleccionaron muestras de adenocarcinoma con áreas discretas de subtipos diferentes. Se extrajeron muestras de DNA de estas áreas y se tamizaron para mutaciones en regiones calientes de genes de EGFR, KRAS y BRAF usando análisis de alta resolución del punto de fusión. Se utilizó la secuenciación Sanger para confirmar todas las mutaciones identificadas. Se usó hibridación in situ cromogénica (CISH) para identificar imbalances específicos de un alelo mutante en tumores con mutación de EGFR. Interesantemente, los autores

encontraron que las mutaciones de KRAS y BRAF podrían estar confinadas al dominio morfológico de alto grado. Por otro lado, se encontraron mutaciones de EGFR en todos los subtipos histológicos en cada tumor consistente con el estatus de esta mutación. La heterogeneidad intratumoral tiene implicaciones mayores para la génesis tumoral, quimioresistencia y rol histopatológico en el tamizaje molecular para la medicina de precisión. Este estudio no solo confirma que la heterogeneidad mutacional intratumoral ocurre, sino que también está asociada a distintas regiones morfológicas en algunos tumores. Para una perspectiva práctica, las biopsias pequeñas pueden no representar de manera adecuada el perfil mutacional completo de un tumor, particularmente para las originadas posteriormente, aunque importantes desde el punto de vista pronóstico, como los genes de KRAS y BRAF.

Su Y, Pan L., 2014:

El objetivo del presente artículo es superar el análisis algorítmico lógico para obtener las mejores condiciones para evaluar la presencia o ausencia de estados fenotípicos del cáncer de pulmón. Los autores aplican un método propio en especímenes de adenocarcinoma (ADC) y SCLC identificando una relación lógica baja o alta entre genes y subtipos histológicos de NSCLC. La relación encontrada fue independiente del espécimen seleccionado y su significado fue validado por test estadísticos. Al hacer la comparación con dos métodos previos (método de la factorización de matriz no negativo y método del análisis de la relevancia), el método actual superó a estos métodos en el grado de positividad real y en la precisión de la clasificación en especímenes de NSCLC y especímenes normales. Los autores utilizaron biomarcadores de genes para distinguir ADC de SCLC y, otros seis genes recientemente cubiertos para diferenciar los subtipos. El NKX2-1 ha sido considerado una diana de ADC pudiendo otros genes ser dianas moleculares nóveles. Para el análisis ontológico, los autores encontraron que dos procesos biológicos (“desarrollo epidermal” y “adhesión celular”) estuvieron estrechamente relacionados con la génesis tumoral de los subtipos de NSCLC. Por otro lado, el método actual podría extenderse a otras enfermedades complejas para distinguir subtipos y detectar dianas moleculares para la terapia dirigida al blanco.

Ao MH, Zhang H, Sakowski L, et al., 2014:

En el presente artículo, los autores investigaron la utilidad de marcación triple (TTF1/Napsin-A/p40) comparando su sensibilidad y especificidad con marcadores individuales en la subclasificación del NSCLC. Se elaboraron microarrays de tejido utilizando material obtenido de resecciones quirúrgicas del Johns Hopkins Hospital. Se incluyeron 77 ADCs, 77 SCLCs y 46 casos de ADCs metastásicos. Se determinaron los patrones de inmunohistoquímica en forma semicuantitativa para la comparación. En los ADCs, la sensibilidad y especificidad de la marcación triple fue de 93.5% y 77.5%, respectivamente. Para TTF1 y Napsina A fue de 85.7% y 75.0%, y 89.6% y 90.0%. En SCLCs, la sensibilidad y especificidad de la marcación triple fue de 88.3% y 92.5%, mientras que para p40, p63 y CK5/6 fue de 80.5% y 90.0%; 93.5% y 80.0%; y 89.6% y 80.0%. Además, la sensibilidad y especificidad de la marcación triple en ADCs mostró 71.7% y 73.5%, respectivamente. La marcación triple mostró una sensibilidad y especificidad similar para la subclasificación del NSCLC cuando fue comparada con los marcadores individuales. Este estudio demostró la utilidad de la combinación de inmunomarcadores y la optimización de la conservación de los tejidos para estudios moleculares.

Somoza AD, and Aly FZ, 2014:

En este artículo, los autores examinan el uso de pruebas moleculares en citología cervical, especímenes citológicos tiroideos “indeterminados”, líquidos quísticos pancreáticos, tracto urinario material citológico de ADC pulmonar. La prueba molecular para el Papiloma Virus Humano (HPV) combinada con citología cervical, incrementó la sensibilidad de la detección de lesiones de alto grado. En los casos citológicamente negativos la negatividad de HPV predijo la proyección de intervalo largo. Con la alta prevalencia de nódulos tiroideos benignos, la citología juega un rol vital en la detección. Sin embargo, el 10-40% de los especímenes obtenidos son citológicamente indeterminados. El análisis molecular de estos especímenes puede predecir el riesgo de malignidad en estos casos. El incremento en la detección de quistes pancreáticos necesitó un diagnóstico preoperatorio certero diferenciando quistes mucinosos de no mucinosos, los cuales tienen un potencial de progresión a ADC. Un diagnóstico multimodal de quistes pancreáticos y análisis molecular ayudó a clarificar el riesgo de neoplasia y en los casos de muestra líquida limitada puede ser la única información diagnóstica disponible. El carcinoma urotelial de vejiga (UC), un cáncer común con

recurrencias frecuentes requiere una larga vigilancia. El kit UroVysion™ puede incrementar la sensibilidad de detección de UC, especialmente en los casos de carcinoma residual/recurrente después de la terapia. Subtipos de ADC pulmonar son, ahora, comúnmente tratados con terapias basadas en resultados de mutaciones moleculares del EGFR, KRAS o el re-arreglo del ALK. La tendencia hacia la estandarización del reporte de especímenes citológicos, comenzando con los extendidos cervicales y, más recientemente, especímenes citológicos tiroideos, está, también cambiando la práctica de la citopatología. La combinación de criterios citológicos rigurosos con pruebas moleculares auxiliares se espera que produzca categorías diagnósticas más discretas para el reporte y la investigación.

Crapanzano JP, Heymann JJ, Monaco S, et al., 2014:

El propósito del presente reporte fue realizar una encuesta de técnicas de preparación de bloques celulares (CB) utilizados en varios escenarios y analizar los tópicos actuales.

Se distribuyó una encuesta electrónica a través de correos electrónicos a los miembros de la Sociedad de Citopatología y a otros patólogos. Las preguntas a los participantes fueron acerca del volumen de los CB, el método usado, la calidad y la satisfacción.

De 95, 90/95 (94%) completó la encuesta. La mayoría de los participantes tuvo práctica en hospitales comunitarios/práctica privada (44%) o centros académicos (41%). En promedio, 14 CBs (rango de 0-50; media 10) son preparados diariamente en un laboratorio. Se utilizaron cerca de 10 métodos: Plasma thrombin (33%), HistoGel (27%), Cellient automated cell block system (8%) y otros (31%) respectivamente. 40 de 90 (44%) respuestas fueron insatisfactorias o, a veces, satisfactorias con la calidad de los CBs, con baja celularidad, siendo la principal causa de insatisfacción. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los tres métodos de preparación más común de CBs y satisfacción con la calidad. Varios manifestaron insatisfacción con su método actual de preparación de CBs. En la era actual de medicina personalizada, con el incremento de pruebas de arrays moleculares aplicados a especímenes citológicos, existe la necesidad de estandarizar protocolos de optimización de CBs para incrementar la celularidad.

2.1 Bases teóricas

Carcinoma broncogénico de pulmón:

Neoplasia maligna epitelial originada en el epitelio broncopulmonar. Su patogénesis está asociada a una variedad de factores como son: tabaquismo, exposición a determinados agentes industriales, contaminación atmosférica y alteraciones genético-moleculares. Actualmente es el sexto tipo de cáncer más frecuente en nuestro país y ocupa el tercer lugar en mortalidad, luego del cáncer de estómago y cáncer hepático y de vías biliares (Ramos WC, Venegas DR, Medina JL, y col., 2013). Los tipos más frecuentes de carcinoma broncogénico son el ADC y el SCC.

De acuerdo con la última clasificación de cáncer de pulmón de la OMS (Travis W, Brambilla E, Burke AP, Marx A, and Nicholson AG, 2015), los tipos epiteliales de cáncer de pulmón son: el **ADC** y el **SCC**, con sus diversos subtipos y los **tumores neuroendocrinos**, que incluyen el SCLC, el carcinoma de células grandes neuroendocrino y los tumores carcinoides. Mediante inmunohistoquímica, los ADC suelen expresar TTF1 (70% de los casos) y los tumores neuroendocrinos los llamados marcadores de citotoxicidad: SINAPTOFISINA (SNF) y CROMOGRANINA (CR).

Se describen, además, lesiones pre-invasivas como son, el **carcinoma escamoso in situ**, **ADC in situ (mucinoso y no mucinoso)**, **hiperplasia adenomatosa atípica** y la **hiperplasia difusa de células neuroendocrinas**.

Otros tipos descritos son: **carcinoma de células grandes**, **carcinoma adenoescamoso**, **carcinomas sarcomatoides**, **tumores tipo glándula salival** y **otros no clasificados (carcinoma tipo linfopitelioma y carcinoma NUT)**.

La actual clasificación de la OMS de tumores pulmonares destaca la importancia de las características histológicas y genéticas específicas de las neoplasias pulmonares para la toma de decisiones terapéuticas. Así, la clasificación de los NSCLC en subtipos histológicos específicos (por ejemplo, ADC vs SCC) determina la elegibilidad para ciertos tipos de pruebas moleculares y estrategias de tratamiento. El descubrimiento de mutaciones del EGFR y rearrreglos de ALK son blancos terapéuticos efectivos para inhibidores tirosina quinasa o inhibidores de ALK en pacientes con cáncer de pulmón. La importancia de diferenciar ADC de SCC ha sido enfatizada por la observación que las mutaciones del EGFR y rearrreglos de ALK y ROS1 se encuentran principalmente en ADC, que pemetrexed es efectivo en adenocarcinoma avanzado antes que en carcinoma escamoso y que bevacizumab está contraindicado en carcinoma escamoso, mientras que nivolumab fue aprobado para pacientes con carcinoma escamoso de pulmón avanzado. Debido a las implicaciones terapéuticas, actualmente, se recomienda realizar test moleculares para mutación de EGFR y rearrreglo de ALK o inmunohistoquímica para

sobreexpresión de ALK (Travis W, Brambilla E, Burke AP, Marx A, and Nicholson AG, 2015).

Mutación del EGFR:

El receptor del factor de crecimiento epidérmico es un gen tipo receptor tirosina cinasa que puede sufrir mutaciones puntuales, lo que determina una activación constitucional tirosina cinasa, constituyendo un tipo de oncogén. Es frecuente en ADC de pulmón.

La mutación del EGFR se asocia con alta respuesta a agentes inhibidores de tirosina cinasa, preferentemente en un subgrupo de pacientes: mujeres asiáticas no fumadoras con ADC no mucinoso. La mayoría de estas mutaciones se han identificado en los exones 18–21 del gen EGFR. Estas mutaciones se pueden clasificar en tres categorías: deleción en el marco de la lectura (in frame) del exón 19, mutaciones insercionales del exón 20 y mutaciones sin sentido (missense) de exones 18–21, siendo la más frecuente la deleción del exón 19 y las mutaciones del exón 21L858R. La mayoría de las inserciones en el exón 20 se asocian con pérdida de respuesta a los inhibidores tirosina cinasa de EGFR de primera generación. La mutación T790M en el exón 20 se ha considerado como resistencia adquirida a estos inhibidores (Sakashita S, Sakashita M, Sound Tsao M, 2014).

Fusión ELM4-ALK:

ALK (anaplastic lymphoma kinase) es un protooncogén de tipo receptor de factor de crecimiento. La fusión con el gen ELM4 (ecchinoderm microtubule-like 4) se forma como resultado de una pequeña inversión dentro del brazo corto del cromosoma 2 que une el intrón 13 del EML4 con el intrón 19 del ALK [inv (2) (p21; p23)]. Esto genera una fusión que codifica una proteína tirosina cinasa constitutivamente activada. La fusión EML4-ALK es rara y se detecta en 3%–13% de pacientes con ADC. Se distinguen varias variantes por sitios de translocación (en diferentes intrones) en el gen EML4. Aunque la fusión EML4-ALK es la más común, se han reportado otras menos comunes, incluyendo translocaciones con otros cromosomas como son KIF5B-ALK y TFG-ALK (Sakashita S, Sakashita M, Sound Tsao M, 2014).

2.1.2 Marcos Conceptuales o Glosario

Estadio TNM40 (Golstraw P et al., 2016):

Corresponde a la determinación de estadios según la 8va edición de la clasificación TNM del cáncer de pulmón, basado en las características del tumor (T), estado metastásico de los ganglios linfáticos (N) o metástasis a distancia (M). Clasifica al cáncer de pulmón en 4 estadios, de acuerdo con las características mencionadas (IA, IB, IIA, IIB, IIIA, IIIB, IVA, IVB), siendo los estadios III y IV los de peor pronóstico.

	N0	N1	N2	N3	M1a, cualquier N	M1b, cualquier N	M1c, cualquier N
T1a	IA1	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T1b	IA2	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T1c	IA3	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	IVA	IVB
T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	IVA	IVB

Pronóstico:

Es el conjunto de datos que posee la ciencia médica sobre la probabilidad de que ocurran determinadas situaciones en el transcurso del tiempo o historia natural de la enfermedad.

Sobrevida Global (OS):

Porcentaje de pacientes que permanecen vivos durante un determinado tiempo. Se calcula con el tiempo de seguimiento (periodo desde el inicio del tratamiento hasta la última consulta o fecha de fallecimiento).

Inmunohistoquímica (IHQ):

Procedimiento histológico en el que se utiliza un anticuerpo marcado con una enzima, para la detección de un antígeno determinado dentro de un tejido embebido en parafina y fijado en formalina (FFPET). La enzima unida al anticuerpo permite que la reacción antígeno-anticuerpo sea visible al microscopio de luz.

Reacción en cadena de polimerasa (PCR):

Técnica de laboratorio utilizada para producir millones de copias en particular de una determinada región de ADN para que sea analizada. Luego de la amplificación del ADN mediante esta técnica, este ADN se puede secuenciar, visualizar mediante electroforesis en gel o clonar en un plásmido.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de investigación

La presente investigación fue desarrollada bajo el enfoque del paradigma cuantitativo y el diseño del presente estudio es de tipo descriptivo, observacional, transversal y retrospectivo.

Observacional: se obtuvieron los datos como están registrados en las historias clínicas estudiadas.

Transversal: se recolectaron los datos registrados en las historias clínicas y se procedió a la realización de IHQ y estudios moleculares de los casos seleccionados en un determinado momento por única vez.

Retrospectivo: los datos fueron procedentes de historias clínicas entre los años 2007 y 2013.

3.2 Unidad de análisis

Pacientes con diagnóstico de carcinoma pulmonar, con historias clínicas disponibles en el INEN.

3.3 Población de estudio:

Pacientes con diagnóstico de carcinoma pulmonar atendidos en el INEN entre los años 2007 y 2013

3.4 Tamaño de la muestra:

80 pacientes cumplieron con los criterios de inclusión.

Operacionalización de las Variables:

VARIABLE	INDICADOR	TIPO	ESCALA	MÉTODO DE OBSERVACIÓN	UNIDAD DE ANÁLISIS	INSTRUMENTO
Tipo histológico	Adenocarcinoma	Cualitativo	Nominal	Anamnesis	Historia clínica	Ficha de recolección de datos
	Carcinoma escamoso					
	Carcinoma de células grandes					
	Carcinoma de células pequeñas					
	Carcinoma endocrino					
EGFR	Mutado/Delecionado No mutado o delecionado	Cualitativo	Nominal	PCR	Biopsia embebida en parafina	Ficha de recolección de datos
ALK	Expresado No expresado	Cualitativo	Nominal	IHQ	Biopsia embebida en parafina	Ficha de recolección de datos
Sexo	Femenino Masculino	Cualitativo	Nominal	Anamnesis	Historia clínica	Ficha de recolección de datos
Edad	20-29	Cualitativo	Nominal	Anamnesis	Historia clínica	Ficha de recolección de datos
	30-39					
	40-49					
	50-59					
	60-69					
	70-79					
	80-89					
90-99						

T1					
T2					
T3	Cualitativo	Ordinal	Anamnesis	Historia Clínica	Ficha de recolección de datos
T4					
TX					

N1					
N2					
N3	Cualitativo	Ordinal	Anamnesis	Historia Clínica	Ficha de recolección de datos
NX					

Estadío I					
Estadío II					
Estadío III	Cualitativo	Ordinal	Anamnesis	Historia Clínica	Ficha de recolección de datos
Estadío IV					

3.5 Selección de la muestra:

3.5.1 Criterios de inclusión:

Se incluyeron pacientes con diagnóstico de carcinoma pulmonar confirmados con análisis microscópico y con muestra incluida en parafina disponible para estudios moleculares y de inmunohistoquímica. Se examinaron 150 historias clínicas, habiéndose seleccionado 80 que cumplieron los criterios de inclusión.

3.5.2 Criterios de exclusión:

Se excluyeron pacientes con diagnóstico de otros tipos de neoplasias malignas de pulmón diferente de carcinoma o con inmunodeficiencia primaria o secundaria y que no cumplieran con los criterios de inclusión.

3.6 Técnicas de recolección de datos:

3.6.1. Obtención de historias clínicas:

Se estudiaron las historias clínicas de pacientes con diagnóstico de carcinoma pulmonar en el INEN.

3.6.2. Revisión de historias clínicas:

La revisión de las historias clínicas permitió evaluar los datos de los pacientes que cumplieron con los criterios de selección. Diariamente se revisaron 20 historias y se registraron los datos en una ficha de recolección (anexo nro. 1). Esto permitió consignar los siguientes datos:

- A. Características sociodemográficas
 - a. Edad
 - b. Género
 - c. Lugar de nacimiento y procedencia
 - d. Ocupación
- B. Características clínicas de la enfermedad
 - a. Síntomas
 - b. Localización y tamaño del tumor

C. Respuesta al tratamiento y evolución clínica

3.6.3. Revisión de muestras histopatológicas:

Las muestras que se evaluaron correspondieron a biopsias broncoscópicas, especímenes operatorios y muestras citológicas en bloques celulares. En los casos en que el preparado histológico obtenido de los archivos fue deficiente o no estuvo disponible, se procedió a realizar cortes de aproximadamente 3 µm de los bloques de parafina de los casos correspondientes. Las secciones fueron desparafinadas, rehidratadas y coloreadas con hematoxilina y eosina (HE). Con las nuevas láminas se procedió a reevaluar y confirmar el diagnóstico de acuerdo con los criterios de la OMS y utilizando inmunohistoquímica. Se tomaron microfotografías. Los preparados histológicos que estuvieron en buenas condiciones también se reevaluaron y se realizó inmunohistoquímica confirmatoria de carcinoma pulmonar en casos que fue necesario. Los datos fueron llevados a la ficha de recolección de datos (anexo 1).

3.6.3.1 Inmunohistoquímica:

Se utilizó el método de polímeros (Dako, Envision) con recuperación antigénica inducida con calor en baño maría. Se sumergieron las secciones de los bloques de parafina en 10-mM de citrato de sodio a pH de 6.5 en una estufa por dos minutos. Se utilizaron tejido con reacción positiva y negativa como controles. Se consideró positividad cuando se observó una franca expresión celular de color marrón oscuro ya sea en el citoplasma (SINAPTOFISINA, CROMOGRANINA, ALK) o en el núcleo (TTF1). Se consideró negatividad cuando no se observó ninguna tinción. Cuando fue necesario confirmar el diagnóstico de carcinoma pulmonar se usaron 5 anticuerpos (anexo 2).

La determinación de la expresión de ALK se realizó con la plataforma de Ventana (Roche) con el anticuerpo ALK clona D5F3 en el laboratorio de referencia Vitro Molecular (Miami, EE. UU.).

Los datos fueron llevados a la ficha de recolección de datos (anexo 1).

3.6.3.2 Test genético de EGFR:

La prueba de detección de mutaciones en el Gen EGFR con el sistema Cobas se basa en dos procesos: 1) la preparación manual de las muestras para obtener ADN genómico a partir de FFPE y 2) la amplificación y detección del ADN blanco mediante PCR en

tiempo real con cebadores y sondas con marcadores fluorescentes. La prueba se ha diseñado para la detección de deleciones en el exón 19 y la mutación puntual L858R en el exón 21. Las detecciones se realizaron mediante el análisis de PCR con el Analizador Cobas Z 4800.

Estas pruebas se hicieron en el laboratorio de referencia Vitro Molecular (Miami, Estados Unidos).

Los datos fueron llevados a la ficha de recolección de datos (anexo 1).

3.7 Análisis e interpretación de la información

Los datos del estudio se trasladaron a una hoja del programa Excel 2010 de Microsoft Office.

El análisis descriptivo de la información se hizo a través de frecuencias, porcentajes y medidas resumen (promedio, mediana y rango).

Las posibles relaciones de las variables en estudio con el resultado negativo o positivo del EGFRm, del EGFRd, del EGFR global (EGFRm y EGFRd) y del ALK se analizaron con la prueba Chi-cuadrado y la prueba t para muestras independientes, según correspondía su aplicación.

El tiempo de seguimiento, para la estimación de curvas de OS, se calculó desde la fecha de diagnóstico o tratamiento hasta la fecha de la muerte (evento de interés) o la fecha de último control consignada en la historia clínica. Pacientes que no alcanzaron el evento de interés fueron considerados como censurados. Para estimar y evaluar diferencias entre las curvas de OS, se usaron el método de Kaplan-Meier y el logrank test respectivamente.

Un valor $p < 0.05$ se usó para una relación (entre variables en estudio y el resultado negativo o positivo del EGFR correspondiente y del ALK) o diferencia significativa (entre curvas de sobrevida).

En el análisis se usó el software estadístico SPSS 22.

CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Presentación de resultados

Tipos histológicos:

De acuerdo al diagnóstico patológico, hubo 25 (31.3%) pacientes con ADC acinar, 21 (26.3%) pacientes con ADC mixto, 17 (21.3%) pacientes con ADC lepidico, 4 (5.0%) pacientes con ADC papilar, 3 (3.8%) pacientes con ADC mucinoso, 2 (2.5%) pacientes con ADC sólido y carcinoma de células grandes neuroendocrino, respectivamente y 1 (1.2%) paciente con carcinoma de células pequeñas, carcinoma adenoescamoso, SCC queratinizante, carcinosarcoma y tumor carcinoide atípico, respectivamente (Tabla N° 1 y Figuras 1 - 7).

Tabla N° 1. Tipos histológicos de carcinoma de pulmón.

Diagnóstico patológico	N (%)
Adenocarcinoma acinar	25 (31.3)
Adenocarcinoma mixto	21 (26.3)
Adenocarcinoma lepidico	17 (21.3)
Adenocarcinoma papilar	4 (5.0)
Adenocarcinoma mucinoso	3 (3.8)
Adenocarcinoma sólido	2 (2.5)
Carcinoma de células grandes neuroendocrino	2 (2.5)
Carcinoma de células pequeñas	1 (1.2)
Carcinoma adenoescamoso	1 (1.2)
Carcinoma epidermoide queratinizante	1 (1.2)
Carcinosarcoma	1 (1.2)
Tumor carcinoide atípico	1 (1.2)

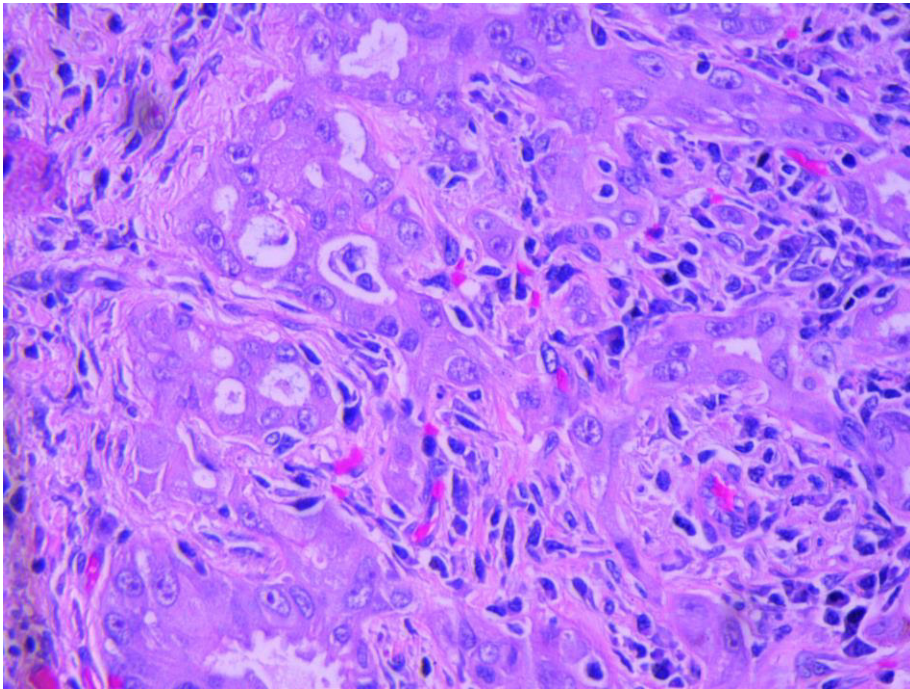


Figura 1. Caso de adenocarcinoma tipo acinar, grado 2 (tinción H & E, aumento 40X).

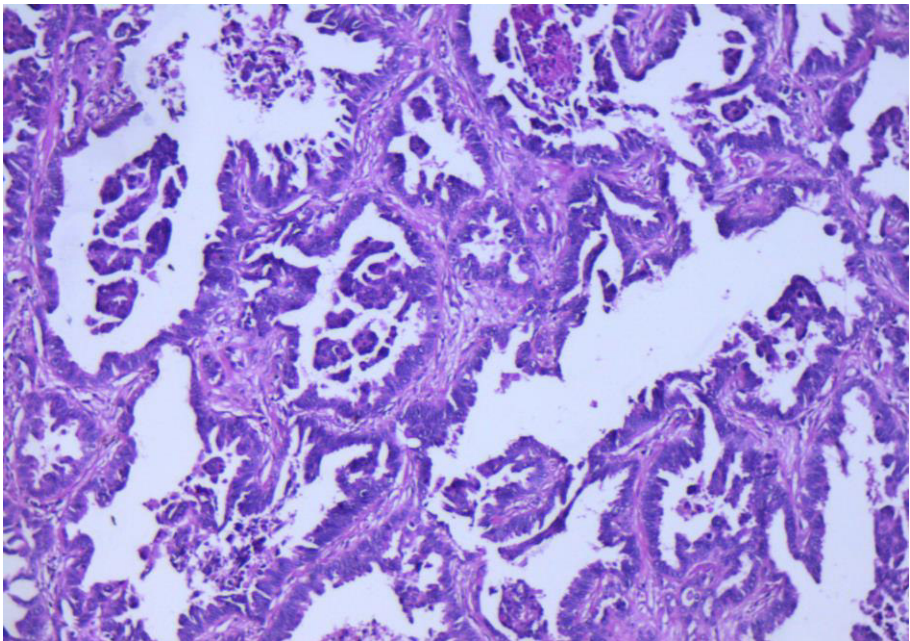


Figura 2. Caso de adenocarcinoma tipo papilar, grado 1 (tinción H & E, aumento 40X).

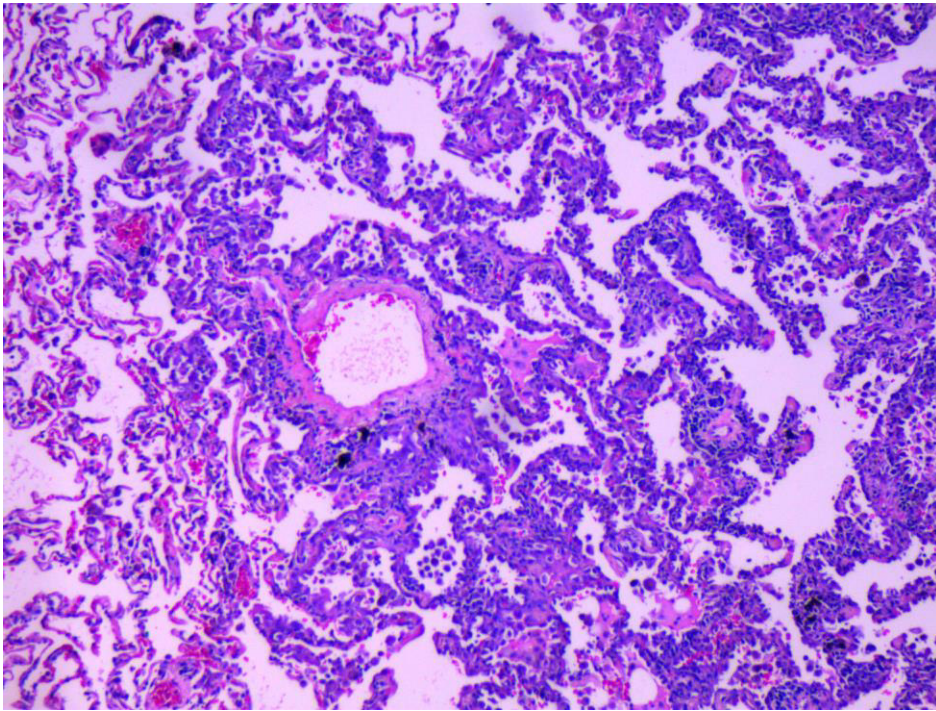


Figura 3. Caso de adenocarcinoma tipo lepidico, grado 1 (tinción H & E, aumento 40X).

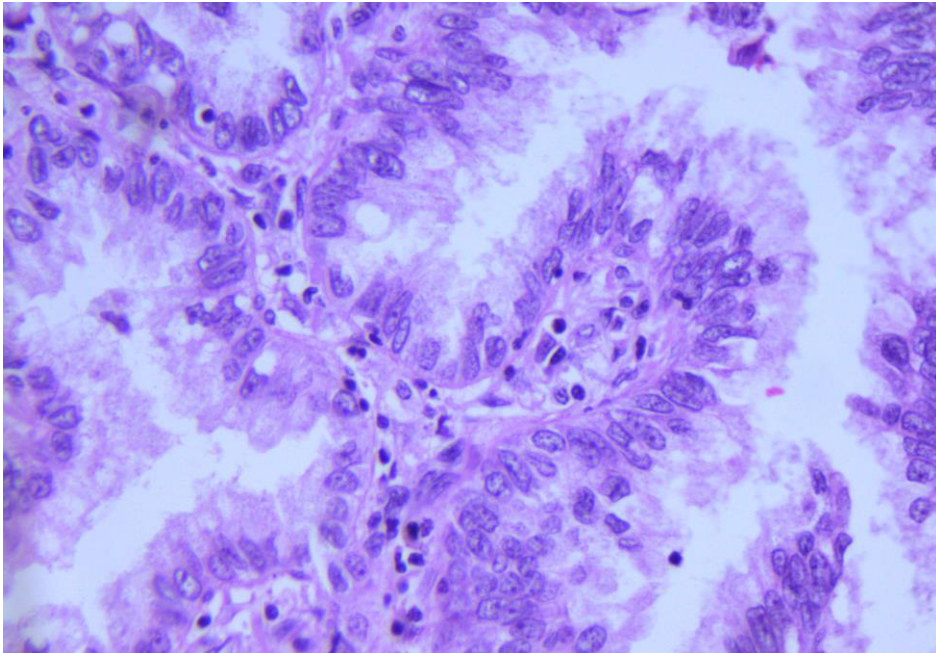


Figura 4. Caso de adenocarcinoma mucinoso, grado 1 (tinción H & E, aumento 40X).

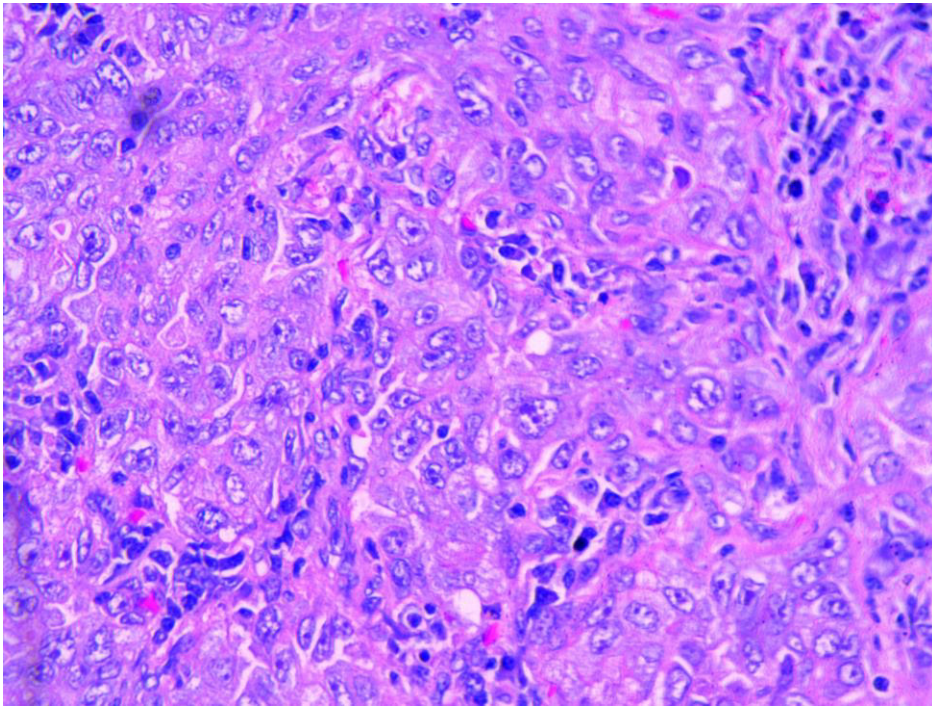


Figura 5. Caso de adenocarcinoma sólido, grado 3 (tinción H & E, aumento 40X).

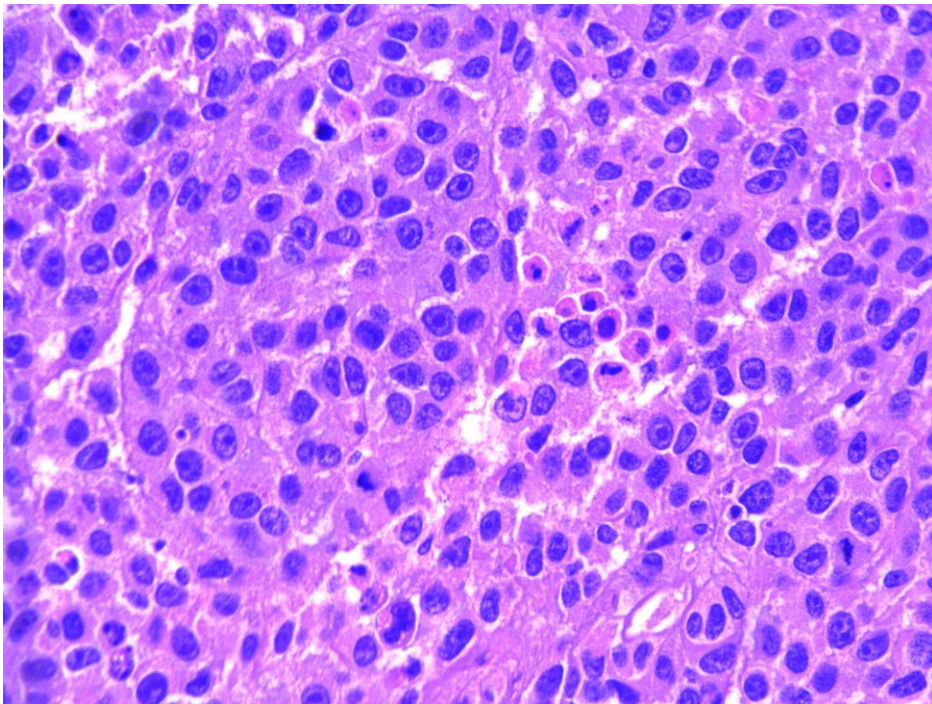


Figura 6. Caso de carcinoma de células grandes neuroendocrino, grado 3 (tinción H & E, aumento 40X).

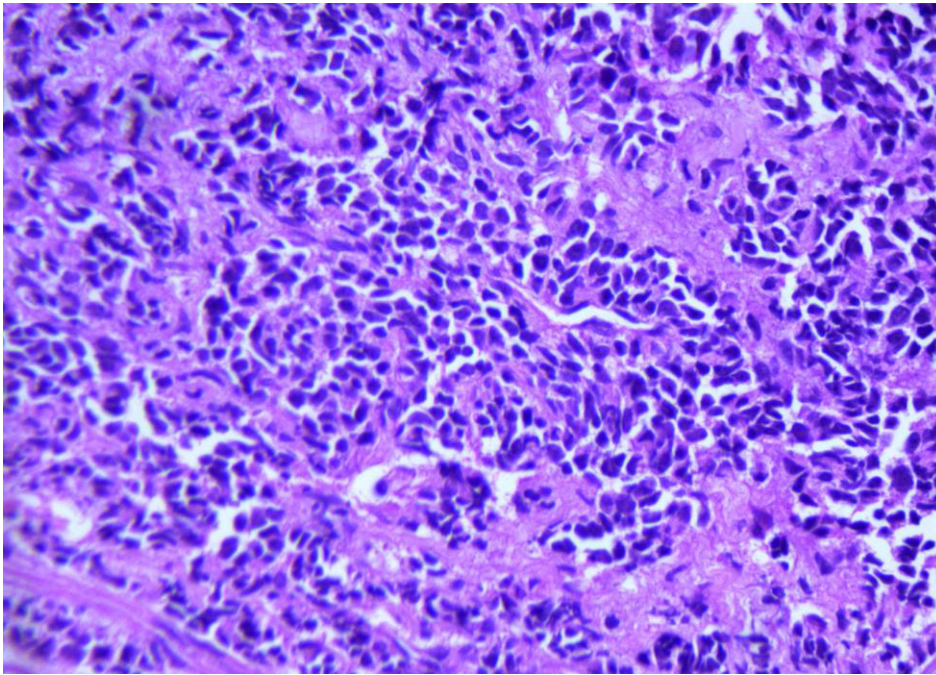


Figura 7. Caso de carcinoma de células pequeña, grado 3 (tinción H & E, aumento 40X).

Características patológicas, inmunofenotípicas y moleculares:

Se realizó inmunohistoquímica diagnóstica en 20 casos. En 15 (75.0%) pacientes se encontró TTF1+/SNF-/CG-, en 4 (20.0%) pacientes se encontró TTF1-/SNF+/CG+ y en 1 paciente TTF-/SNF-/CG- (5.0%). Según el grado histológico, hubo 8 (10.0%) pacientes G1, 51 (63.7%) pacientes G2 y 14 (17.5%) pacientes G3. 7 (8.8%) pacientes no presentaron registros. En 72 pacientes se registro el tamaño tumoral, siendo el tamaño tumoral promedio de 3.6 cm (rango, 1 a 7 cm). El 50% tuvo tamaño tumoral por debajo de 3.45 cm (mediana de los tamaños tumorales). El promedio de los porcentajes de necrosis fue 7.6% (rango de 0% a 40%), el 50% de casos tuvieron porcentajes de necrosis por debajo del 5%.

De los 80 casos evaluados, se pudo obtener material disponible para estudios moleculares en 76 casos para EGFRm, 78 casos para EGFRd y 77 casos para ALK. Hubo 4 (5.3%) pacientes con mutación del exón 21 (L85R) del EGFR (EGFRm) y 72 (94.7%) sin mutación, 9 (11.6%) pacientes con delección del exón 19 (E746-E750) del EGFR (EGFRd) y 69 (88.4%) sin dicha delección. En conjunto (EGFRm y EGFRd), 13 casos presentaron alteraciones del EGFR (17.3%) y 62 casos (87.7%) no las presentaron.

Todos los casos con alteraciones de EGFR expresaron TTF1 (Figura 8).

Según ALK, 5 (6.5%) casos fueron positivos y 72 (93.5%) fueron negativos (Tabla N°2 y Figura 9).

Tabla N° 2. Características patológicas, inmunofenotípicas y moleculares de carcinoma de pulmón.

	N (%)
Inmunohistoquímica	
TTF1+ /SNF-/CG-	15 (75.0)
TTF1-//SNF+/ CG+	4 (20.0)
TTF1-/SNF-/CG-	1 (5.0)
Total	20 (100.0)
Grado	
G1	8 (10.0)
G2	51 (63.7)
G3	14 (17.5)
Sin registro	7 (8.8)
Tamaño tumoral, cm (N=72)	
Promedio / Mediana / Rango	3.6 / 3.45 / [1-7]
Necrosis, % (N=79)	
Promedio / Mediana / Rango	7.6 / 5 / [0-40]
Mutación EGFR	
Negativo	72 (94.7)
Positivo	4 (5.3)
Delección EGFR	
Negativo	69 (88.4)
Positivo	9 (11.6)
Mutación y delección de EGFR	
Negativo	62 (82.7)
Positivo	13 (17.3)
ALK	
Negativo	72 (93.5)
Positivo	5 (6.5)
SNF: Sinaptofisina, CG: Cromogranina	

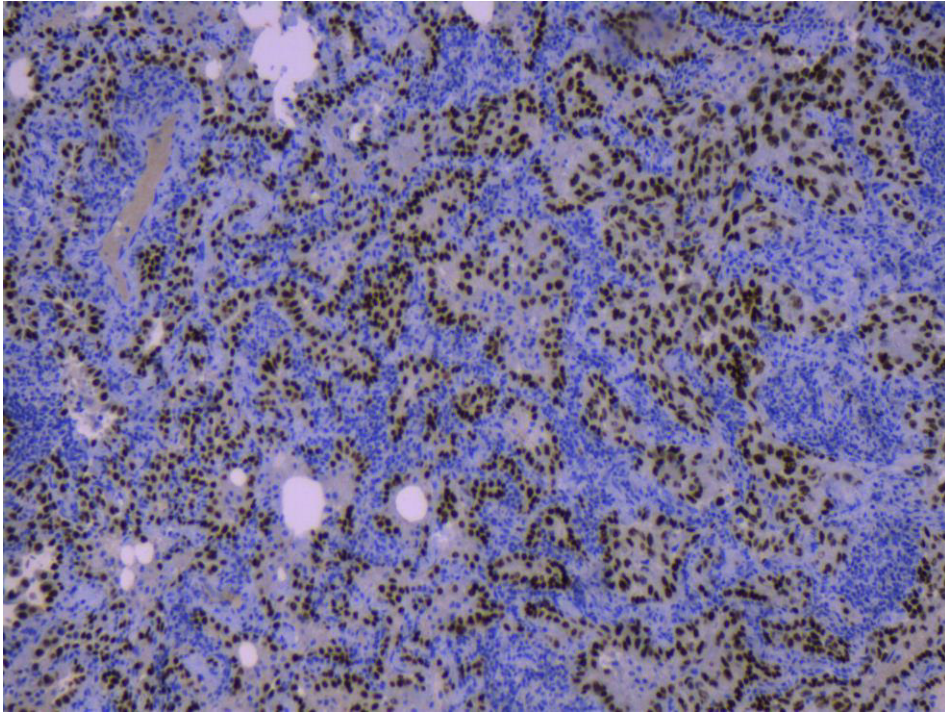


Figura 8. Caso de adenocarcinoma tipo acinar, TTF1 positivo nuclear (aumento 40X).

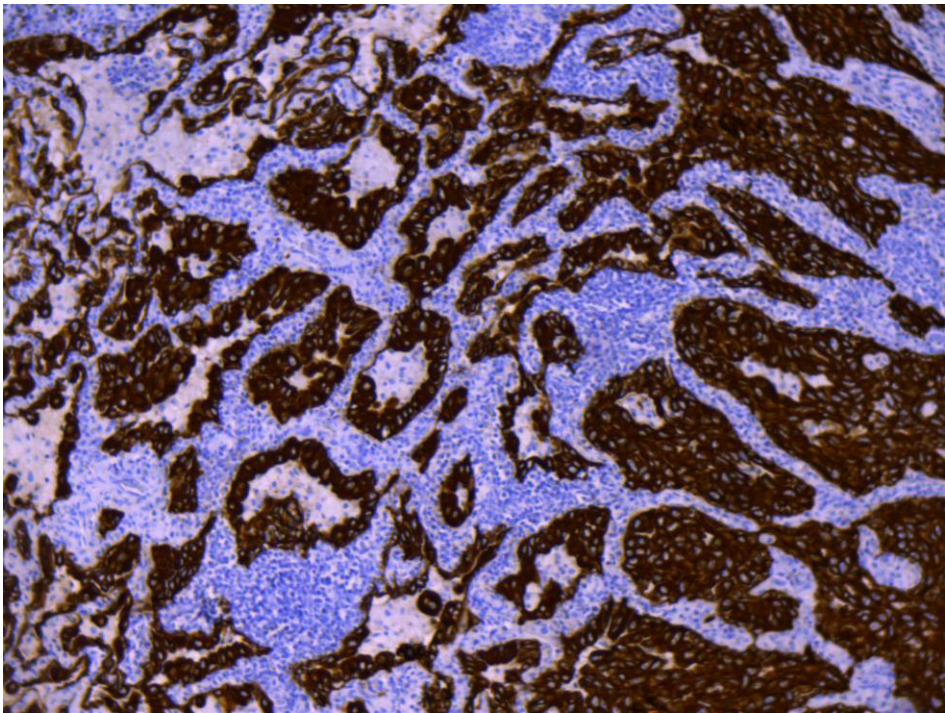


Figura 9. Caso de adenocarcinoma tipo acinar, ALK positivo citoplasmático (aumento 40X).

Relación de características clínicas y tipos histológicos con los EGFR y ALK (Tabla N° 3):

No se encontró asociación significativa del sexo, los tipos histológicos de ADC acinar y mixto con EGFRm. No fue posible evaluar la asociación de TNM, estadio clínico y el tipo histológico de adenocarcinoma lepidico con dicha mutación debido al poco número de pacientes. Los casos con y sin dicha mutación fueron comparables respecto al sexo, la edad y los tipos histológicos de ADC acinar y mixto.

No se encontró asociación significativa del sexo, metástasis a distancia (M), estadio clínico y los tipos histológicos de adenocarcinoma lepidico, mixto y acinar con EGFRd. No fue posible evaluar la asociación de tumor (T), metástasis ganglionar (N) con EGFRd por el poco número de pacientes. Los casos con y sin dicha delección fueron comparables respecto al sexo, la edad, M y los tipos histológicos lepidico, mixto y acinar.

En conjunto (EGFRm y EGFRd), no hubo asociación significativa del sexo, edad, M y los tipos histológicos de ADC lepidico, acinar y mixto con las alteraciones del EGFR. No fue posible evaluar la asociación de T, N y el estadio clínico con las alteraciones del EGFR. Los grupos de pacientes con y sin alteraciones del EGFR fueron comparables respecto al sexo, la edad, M y los tipos histológicos de adenocarcinoma lepidico, acinar y mixto.

No se encontró asociación significativa del sexo y M con expresión de ALK. No fue posible evaluar la asociación de T, N y los tipos histológicos de ADC lepidico y mixto con la expresión de ALK por el poco número de casos. Se encontró una asociación significativa del tipo histológico de ADC acinar con dicha expresión. Se observó una mayor proporción de casos con adenocarcinoma acinar en el grupo de pacientes con expresión de ALK (ALK+) que en el grupo sin dicha expresión (ALK-) (80% vs 29.2%, respectivamente). Se encontró diferencias significativas entre los casos ALK- y ALK+ respecto a la edad, siendo las edades de los pacientes del primer grupo significativamente mayores que las edades de los pacientes del segundo grupo. Los grupos de pacientes ALK- y ALK+ fueron comparables respecto al sexo, el tumor y M, pero no respecto a la edad y el tipo histológico de ADC acinar.

Tabla N° 3. Relación de características clínicas y tipos histológicos con EGFR y ALK en carcinoma de pulmón.

Características	Mutación exón 21 EGFR			Deleción exón 19 EGFR			ALK		
	Negativo N=72	Positivo N=4	p	Negativo N=69	Positivo N=9	p	Negativo N=72	Positivo N=5	p
Sexo									
Hombre	32 (44.4)	3 (75.0)		34 (49.3)	2 (22.2)		31 (43.1)	4 (80.0)	
Mujer	40 (55.6)	1 (25.0)	0.329	35 (50.7)	7 (77.8)	0.166	41 (56.9)	1 (20.0)	0.171
Edad, años									
Promedio	63.7	74.8		65.3	60.3		65.7	51.6	
Mediana	67.0	73.0	0.177	67.0	62.0	0.579	68.5	53.0	0.031
Rango	[25-92]	[64-89]		[25-92]	[37-86]		[25-92]	[35-67]	
T									
T1	22 (32.8)	2 (66.7)		21 (33.3)	4 (50.0)		23 (34.8)	2 (50.0)	
T2	42 (62.7)	1 (33.3)		39 (61.9)	4 (50.0)		40 (60.6)	2 (50.0)	
T3	2 (3.0)	0 (0.0)		2 (3.2)	0 (0.0)		2 (3.0)	0 (0.0)	
T4	1 (1.5)	0 (0.0)	NE	1 (1.6)	0 (0.0)	NE	1 (1.5)	0 (0.0)	NE
TX	5	1		6	1		6	1	
N									
N0	22 (48.9)	1 (50.0)		20 (44.4)	2 (66.7)		22 (50.0)	0 (0.0)	
N1	14 (31.1)	0 (0.0)		14 (31.1)	1 (33.3)		12 (27.3)	2 (66.7)	
N2	8 (17.8)	1 (50.0)		10 (22.2)	0 (0.0)		9 (20.5)	1 (33.3)	
N3	1 (2.2)	0 (0.0)	NE	1 (2.2)	0 (0.0)	NE	1 (2.3)	0 (0.0)	NE
NX	27	2		24	6		28	2	

Tabla N° 3 (continuación). Relación de características clínicas y tipos histológicos con los EGFR y ALK en carcinoma de pulmón.

Características	Mutación EGFR (exón 21)			Deleción EGFR (exón 19)			ALK		
	Negativo N=72	Positivo N=4	p	Negativo N=69	Positivo N=9	p	Negativo N=72	Positivo N=5	p
M									
M0	12 (32.4)	0 (0.0)		9 (26.5)	2 (33.3)		10 (27.0)	2 (50.0)	
M1	25 (67.6)	2 (100.0)	NE	25 (73.5)	4 (66.7)	1.000	27 (73.0)	2 (50.0)	0.567
MX	35	2		35	3		35	1	
Estadio									
I	9 (15.8)	1 (25.0)		8 (14.5)	1 (12.5)		10 (16.9)	0 (0.0)	
II	8 (14.0)	0 (0.0)		9 (16.4)	0 (0.0)		9 (15.3)	0 (0.0)	
III	12 (21.1)	1 (25.0)		12 (21.8)	1 (12.5)		9 (15.3)	3 (75.0)	
IV	28 (49.1)	2 (50.0)	NE	26 (47.3)	6 (75.0)	NE	31 (52.5)	1 (25.0)	NE
Sin registro	15	0		14	1		13	1	
Adenocarcinoma lepídico									
Si	17 (23.6)	0 (0.0)		14 (20.3)	2 (22.2)		17 (23.6)	0 (0.0)	
No	55 (76.4)	4 (100.0)	NE	55 (79.7)	7 (77.8)	1.000	55 (76.4)	5 (100.0)	NE
Adenocarcinoma mixto (acinar- lepídico)									
Si	17 (23.6)	2 (50.0)		17 (24.6)	3 (33.3)		19 (26.4)	0 (0.0)	
No	55 (76.4)	2 (50.0)	0.259	52 (75.4)	6 (66.7)	0.687	53 (73.6)	5 (100.0)	NE
Adenocarcinoma acinar									
Si	21 (29.2)	2 (50.0)		21 (30.4)	4 (44.4)		21 (29.2)	4 (80.0)	
No	51 (70.8)	2 (50.0)	0.580	48 (69.6)	5 (55.6)	0.457	51 (70.8)	1 (20.0)	0.036

Sobrevida global (OS):

En el grupo sin EGFRm se documentaron 19 decesos y en el grupo con EGFRm 1 deceso. La OS en el grupo sin EGFRm se estimó a los 12, 36 y 60 meses en 86.2%, 63.9% y 56.7%, respectivamente y en el grupo con EGFRm en 50% en cada periodo. No se encontró diferencias significativas en la OS según el EGFRm (Figura N° 10).

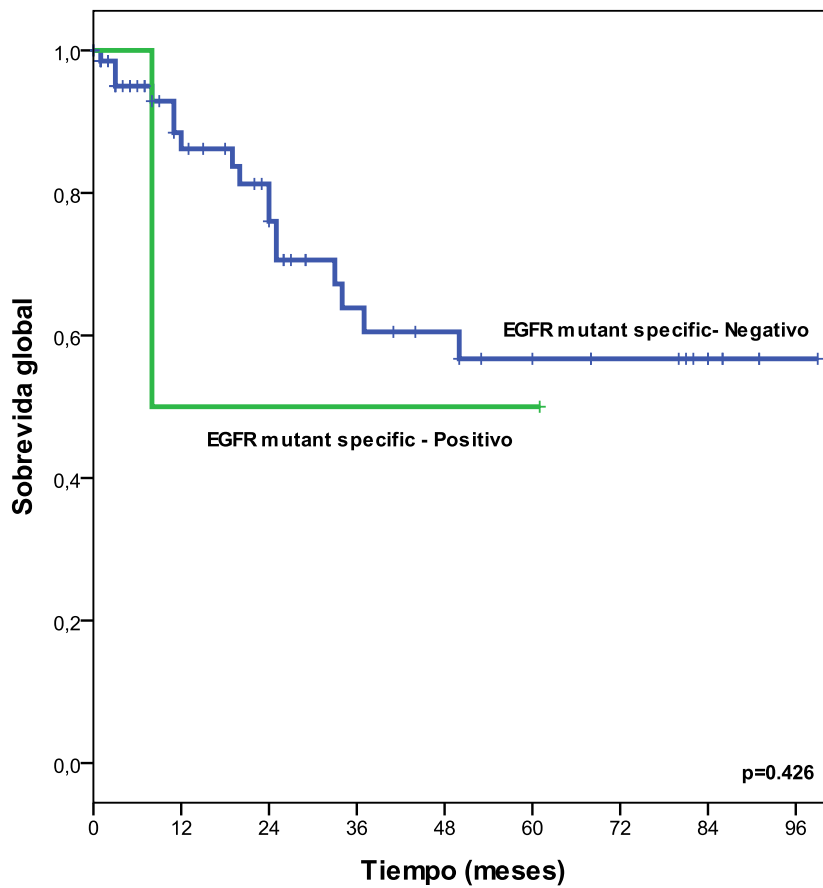


Figura N° 10. Curvas estimadas de la OS según mutación de EGFR en carcinoma de pulmón.

En el grupo sin EGFRd se documentaron 17 decesos y en el grupo con EGFRd, 3 decesos. La OS en el grupo sin EGFRd se estimó a los 12, 36 y 60 meses en 85.4%, 65.1% y 61.3%, respectivamente y en el grupo con EGFRd en 83.3%, 62.5% y 41.7%. No se encontró diferencias en la OS según el EGFRd (Figura N° 11).

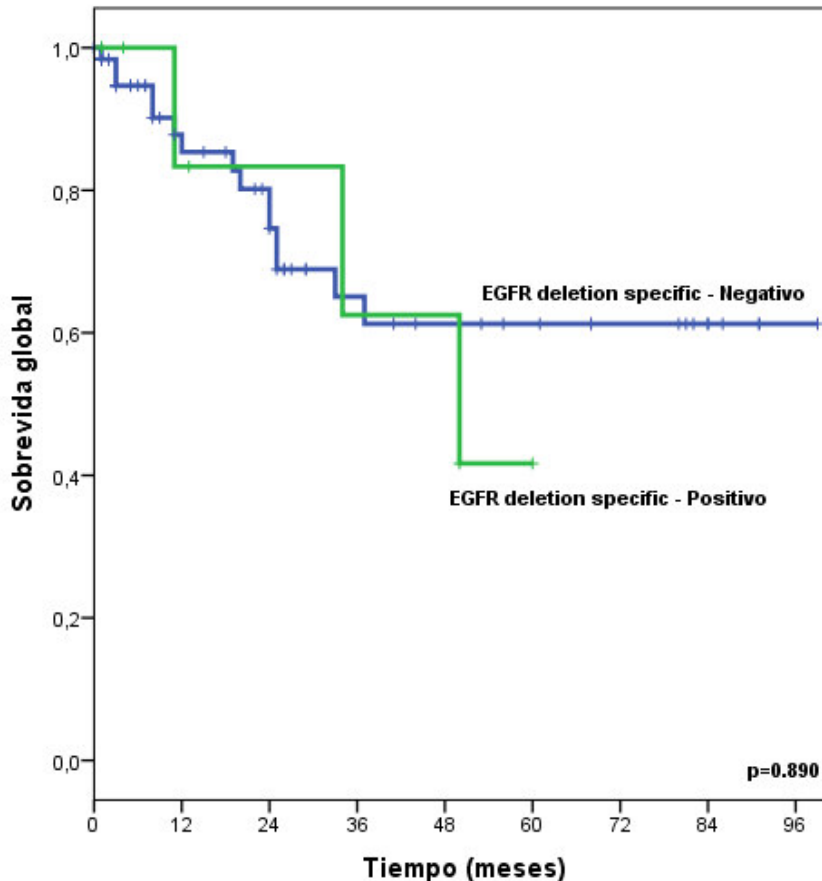


Figura N° 11. Curvas estimadas de la OS según deleción de EGFR en carcinoma de pulmón.

Hubo 16 decesos en los casos sin alteraciones de EGFR (EGFRm y EGFRd en conjunto) y 4 decesos en el grupo con alteraciones del EGFR. La OS en el grupo sin alteraciones del EGFR se estimó a los 12, 36 y 60 meses en 86.4%, 63.7% y 59.4%, respectivamente y en el grupo con alteraciones del EGFR en 75%, 60% y 45%. No se encontró diferencia significativa en la OS según alteraciones del EGFR (Figura N°12).

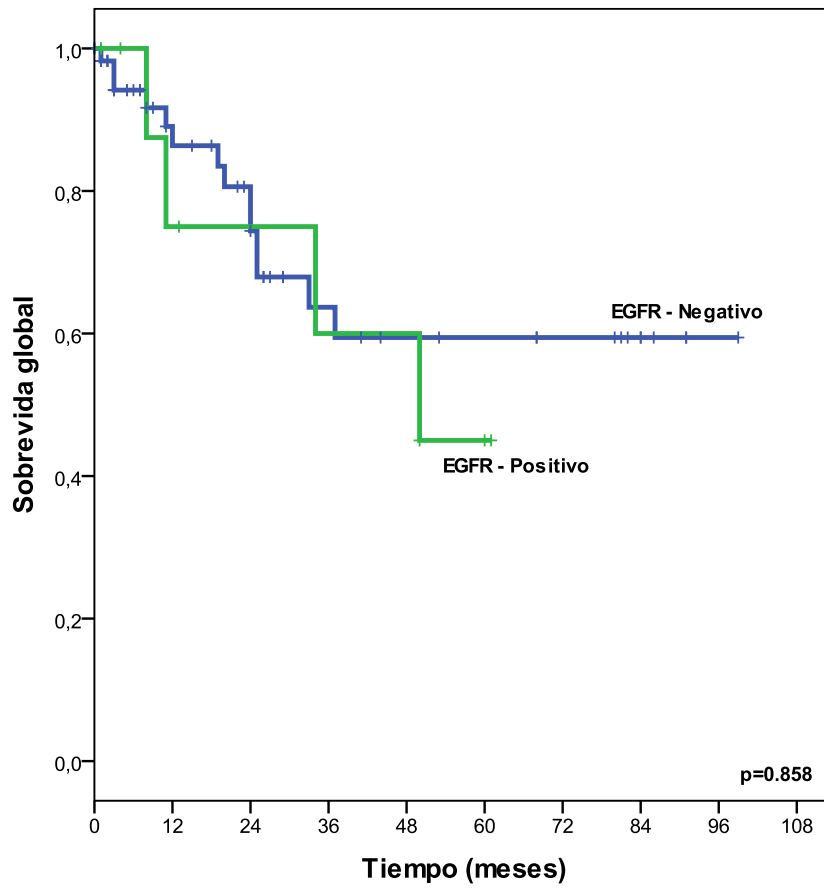


Figura N° 12. Curvas estimadas de la sobrevida global según alteraciones del EGFR en carcinoma de pulmón.

En el grupo con ALK+ se documentaron 15 decesos y en el grupo ALK- 3 decesos. La OS en el grupo con ALK- se estimó a los 12, 36 y 60 meses en 85.4%, 71.3% y 63.7% respectivamente y en el grupo ALK+ en 80%, 26.7% y 26.7%. No se encontró diferencias en la OS según ALK (Figura N°13).

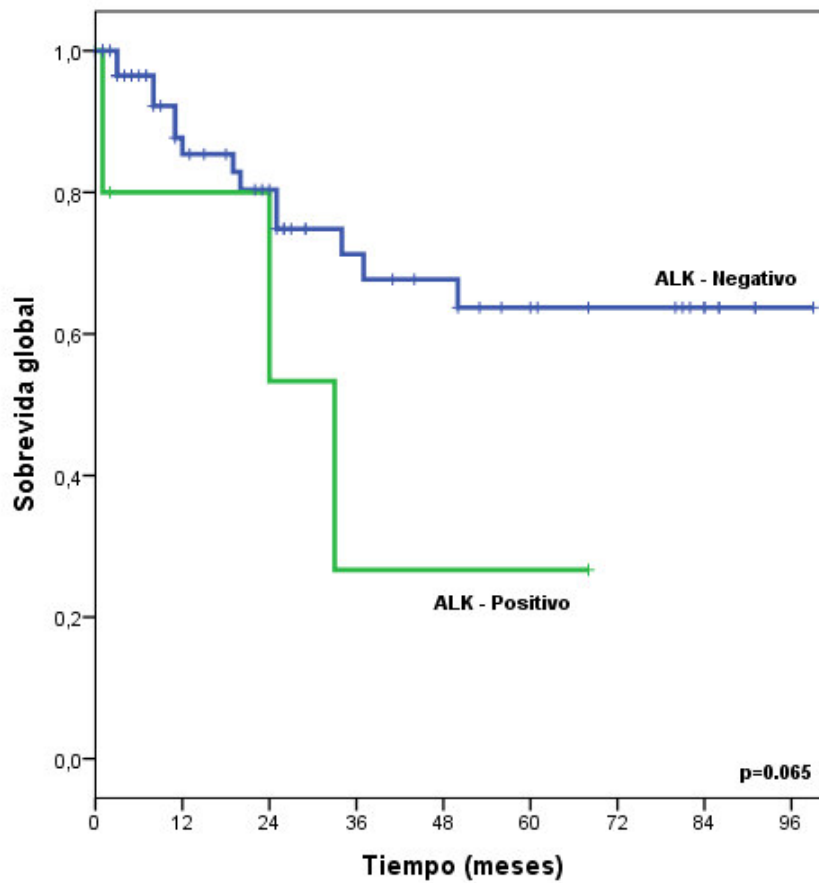


Figura N° 13. Curvas estimadas de OS según ALK en carcinoma de pulmón.

Características sociodemográficas, clínicas y estadio clínico (Tabla N° 4):

Según el sexo, hubo 36 (45.0%) pacientes hombres y 44 (55.0%) pacientes mujeres. La edad promedio de los pacientes fue de 64.7 años (rango, 25 a 92 años). El 50% de casos tuvieron edades por debajo de los 67 años. Según grupos de edad, hubo 3 (3.8%) pacientes con edades entre los 20 y 29 años, 5 (6.3%) entre los 30 y 39 años, 5 (6.3%) entre los 40 y 49 años, 11 (13.8%) entre los 50 y 59 años, 22 (27.5%) entre los 60 y 69 años, 23 (28.8%) entre los 70 y 79 años, 8 (10.0%) entre los 80 y 89 años y 3 (3.8%) entre los 90 y 99 años. Según el estadio T, hubo 25 (31.3%) pacientes T1, 45 (56.3%) T2, 2 (2.5%) T3, 1 (1.3%) T4 y 7 (8.8%) TX. Según el estadio N, hubo 24 (30.0%) pacientes N0, 15 (18.8%) N1, 10 (12.5%) N2, 1 (1.3%) N3, y 30 (37.5%) NX. Según el estadio M, 12 (15.0%) pacientes fueron M0, 29 (36.3%) M1 y 39 (48.8%) MX. Según el estadio clínico, hubo 10 (12.5%) pacientes EC I, 9 (11.3%) EC II, 13 (16.3%) EC III, 32 (40.0%) EC IV, y 16 (20.0%) pacientes no presentaron registros.

Tabla N° 4. Características sociodemográficas, clínicas y estadio clínico de carcinoma de pulmón.

	N (%)
Sexo	
Hombres	36 (45.0)
Mujeres	44 (55.0)
Edad, años	
Promedio / Mediana / Rango	64.7 / 67 / [25-92]
Grupos de edad	
20-29	3 (3.8)
30-39	5 (6.3)
40-49	5 (6.3)
50-59	11 (13.8)
60-69	22 (27.5)
70-79	23 (28.8)
80-89	8 (10.0)
90-99	3 (3.8)
T	
T1	25 (31.3)
T2	45 (56.3)
T3	2 (2.5)
T4	1 (1.3)
TX	7 (8.8)
N	
N0	24 (30.0)
N1	15 (18.8)
N2	10 (12.5)
N3	1 (1.3)
NX	30 (37.5)

Tabla N° 4 (continuación). Características sociodemográficas, clínicas y estadio clínico de carcinoma de pulmón.

	N (%)
M	
M0	12 (15.0)
M1	29 (36.3)
MX	39 (48.8)
Estadio	
I	10 (12.5)
II	9 (11.3)
III	13 (16.3)
IV	32 (40.0)
Sin registro	16 (20.0)

4.1 Análisis, interpretación y discusión de resultados

Durante los últimos años, el mejor conocimiento de los aspectos genéticos y moleculares en las neoplasias ha permitido un enfoque distinto en el diagnóstico y tratamiento de las diversas enfermedades oncológicas. Específicamente, en relación con el carcinoma del pulmón, destaca una evolución significativa desde las primeras clasificaciones morfológicas hasta la última (2015), en la que se consideran los datos histológicos, genético-moleculares, clínicos, radiológicos e inmunofenotípicos, lo que ha permitido mejorar el diagnóstico y tratamiento (Barrionuevo C y Dueñas D, 2019). La importancia de la determinación de mutaciones de ciertos genes en carcinoma de pulmón ha sido intensamente investigada en los últimos años y ha demostrado tener un alto impacto en la respuesta terapéutica de esta neoplasia, sobre todo en el tipo histológico ADC, habiéndose reportado resultados exitosos en su tratamiento con inhibidores de la tirosina quinasa (ITK) y anticuerpos monoclonales en casos con mutaciones específicas de EGFR (Nan X, Xie Ch, Yu X, and Liu J, 2017). Lo mismo ha ocurrido cuando se detectan rearrreglos genéticos de ALK y ROS, lo que ha permitido el

tratamiento con inhibidores de ALK; asimismo cuando se identifica la mutación del BRAF, que permite el uso terapéutico de sus inhibidores (Pakkala S, and Ramalingam SS, 2018). Más aun, recientemente se ha demostrado que estimulando la respuesta inmunológica por parte de linfocitos T citotóxicos en el carcinoma de pulmón, se produce una importante respuesta antitumoral; para esto, una estrategia efectiva ha sido el bloqueo de la molécula PD-1, lo que produce una importante respuesta antitumoral, sobre todo cuando la proteína PD-L1 (su ligando) se encuentra sobre-expresada en el tejido neoplásico. De tal manera que, en la actualidad, la determinación de alteraciones genéticas como son, mutación de EGFR y BRAF o rearrreglos genéticos de ALK y ROS-1, además de otras promisoras mutaciones diana como la del MET, RET o la fusión del NTRK y la expresión de PD-L1, son de creciente importancia en el tratamiento del carcinoma de pulmón (Pakkala S, and Ramalingam SS, 2018).

Las alteraciones genéticas más frecuentemente encontradas en ADC de pulmón son, la mutación del EGFR y la fusión de ALK. En países caucásicos la frecuencia de esta mutación en ADC varía entre el 10 y 20%, mientras que, en países asiáticos, esta mutación fluctúa entre 35 y 45%. En general, el rearrreglo de ALK se presenta en 5% de los ADC, no habiéndose reportado diferencias entre regiones como con la mutación del EGFR (Powell CA, Brambilla E, Bubendorf L, et al., 2015). En reportes latinoamericanos la frecuencia de alteraciones del EGFR en nuestro país ha tenido diversos resultados, habiéndose reportado hasta en 67% (Arrieta O, Cardona AF, Bramuglia GF, et al., 2011) y (Arrieta O, Cardona AF, Martín C, et al., 2015). En nuestros casos, nosotros encontramos 17% de alteraciones del EGFR. Si bien es cierto esta baja frecuencia respecto a otros estudios puede explicarse debido a que la delección en el exón 19 y la mutación en el exón 21 no son las únicas alteraciones que se han descrito en el gen EGFR, éstas a su vez representan el 90% de las alteraciones en este gen (Zhang T, Wan B, Zhao Y, et al., 2019). Es interesante el hecho que la población indígena americana presenta mayor frecuencia de mutaciones de EGFR que otras poblaciones. En un estudio donde se comparó la frecuencia de mutaciones de EGFR de poblaciones indígena americana (31% peruana), europea y africana, se encontró que 47% de los primeros presentaron dichas mutaciones frente al 23% y al 20% de la población europea y africana respectivamente. Esto puede deberse a la relación étnica de los indígenas americanos con la población asiática, la que presenta alta frecuencia de mutaciones de EGFR (Gimbrone NT, Sarcar B, Gordian ER, et al., 2017). Nosotros especulamos que, debido a que en nuestra casuística no ha habido población indígena,

siendo todos nuestros pacientes mestizos, procedentes de la ciudad de Lima, se explicaría en parte la frecuencia de alteraciones de EGFR encontrada en nuestros casos. Otra razón podría ser que, en la búsqueda de casos, muchos fueron descartados por no tener materiales disponibles para estudios moleculares e inmunohistoquímicos, habiéndose podido seleccionar solo 80 casos de 150.

Diversos estudios han reportado que las mutaciones del EGFR se han considerado como factores de pronóstico adversos en ADC de pulmón (Travis WD, Noguchi M, Yatabe Y, et al., 2015), lo que coincide con la menor OS encontrada en nuestros casos con alteraciones de EGFR, sin embargo, la mayor importancia de este hallazgo radica en que es un factor predictivo de respuesta a ITKs. Otro dato importante en relación con EGFR es el tipo histológico, habiéndose descrito que los tipos no mucinosos son los que con mayor frecuencia presentan alteraciones de este (Motoi N, Szoke J, Riely GJ, et al., 2008). 50 De los 80 casos que estudiamos, 72 fueron ADC, de los cuales 3 fueron de tipo mucinoso, ninguno de los cuales presentó mutaciones, corroborando esta información. De los tipos histológicos de ADC invasivo, los tipos lepidico, acinar y mixto presentaron delección del EGFR y los tipos acinar y mixto mutación del EGFR. No tuvimos ningún caso papilar o micropapilar, tipos histológicos fuertemente asociados a alteraciones de EGFR, lo que también explicaría en parte la frecuencia de alteración del EGFR encontrada en nuestros casos (De Oliveira Duarte Achcar R, Nikiforova MN, and Yousem SA, 2009).

Como en otros reportes, en nuestros casos de ADC, hubo más mujeres que hombres con alteraciones del EGFR (Subramanian J, and Govindan R, 2007), aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa, quizá por el poco número de casos con mutaciones. Es importante destacar que solo un paciente manifestó ser fumador moderado y solo cinco fueron fumadores leves, lo que está de acuerdo con la literatura respecto a que los ADC asociados a mutaciones del EGFR son frecuentes en no fumadores, especialmente mujeres (Sun S, Schiller JH, and Gazdar AF, 2007). Otro dato que también ha sido reportado previamente es que los casos con expresión de TTF1 son los que más frecuentemente presentan alteraciones de EGFR frente a los que no expresan esta proteína (Travis WD, Noguchi M, Yatabe Y, et al., 2015), lo que también pudimos observar en nuestros casos, pues todos los que tuvieron alteración del EGFR expresaron TTF1. Esta proteína es producto del gen TTF-1/Nkx2.1/TTF1 el cual es un factor de transcripción esencial para la diferenciación y morfogénesis del pulmón

y la tiroides, habiéndose encontrado que su amplificación se asocia con progresión en ADC de pulmón (Boggaram V, 2009) y (Weir BA, and Woo MS, 2007).

La otra alteración frecuente en ADC de pulmón es la translocación de ALK. Es la segunda más frecuente y se detecta en 4 - 7% de pacientes con este tipo de carcinoma de pulmón. Nosotros encontramos 7% de casos ALK positivos, lo que está de acuerdo con otros estudios (Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al., 2007). Interesantemente, la correlación con un tipo específico de ADC fue estadísticamente significativa, siendo el tipo acinar el más frecuentemente encontrado en los casos ALK positivos (Leer-Florin A, Moro-Sibilot D, Melis A, et al., 2012). Otro tipo histológico que se relaciona con la fusión del ALK en ADC pulmonar es el de células en anillo de sello (Yoshida A, Tsuta K, Watanabe S, et al., 2011). En nuestros casos, ninguno presentó un componente de ese tipo. Otro dato que se corrobora en este estudio es que la fusión del ALK no se relaciona con el pronóstico en ADC pulmonar, de tal manera que su importancia radica fundamentalmente en ser un factor predictivo para la respuesta con inhibidores de ALK. En efecto, en el 2007, el investigador Hiroyuki Mano y su grupo de colaboradores, describieron la translocación de ALK con EML4 en cáncer de pulmón. Posteriormente, en el 2011, en una aprobación acelerada, la FDA aprobó el primer inhibidor de ALK (IALK), Crizotinib, después de haberse demostrado que la respuesta clínica a estos inhibidores era dramáticamente superior a los tratamientos convencionales en casos avanzados de ADC pulmonar. Su utilidad fue reportada como mejor tratamiento en segunda línea y en sobrevida libre de progresión (Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, et al., 2013) y (Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al., 2014). Debido a que posteriormente, por diversos mecanismos, aparecieron resistencias a este IALK, se diseñaron otros, de segunda generación, más potentes como son alectinib, brigatinib y ceritinib (Camidge DR, Peters S, Mok T, et al., 2018). En todos los casos, se subraya la determinación de la fusión del ALK como predictor de respuesta a IALKs. Para la detección de esta translocación, los métodos que han demostrado eficacia son FISH e IHQ (clona D5F3). Esta última es una herramienta sensible y específica de bajo costo y de interpretación relativamente sencilla (Le Quesne J, Maurya M, Yancheva SG, et al., 2014) y (Waynes MW, Shol LM, Dietel M, et al., 2014). Nuestros casos fueron analizados mediante IHQ para ALK (D5F3). Como lo que ocurre con las alteraciones del EGFR, los casos de ADC de pulmón con fusión de ALK son usuales en pacientes no fumadores, aunque a diferencia de los primeros, son menos frecuentes en mujeres (Travis WD, Noguchi M, Yatabe Y, et al., 2015). Ninguno de nuestros pacientes fue fumador y no hubo

diferencia estadística significativa por sexo. Los pacientes que presentaron con mayor frecuencia expresión de ALK fueron significativamente más jóvenes, lo que está de acuerdo con la literatura (Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, et al., 2009).

Un hecho importante en las alteraciones genéticas en cáncer de pulmón, independientemente del método usado, es que éstas generalmente son mutuamente excluyentes, de tal manera que su determinación puede ser secuencial. Esto facilita la adopción de protocolos para optimizar el manejo de las muestras y la metodología usada.

Otro dato para destacar es la alta frecuencia de ADC encontrada en nuestros casos (90%). Actualmente, este tipo histológico es el más frecuente en el mundo tanto en hombre como en mujeres (Barta JA, Powell ChA, and Wisnivesky JP., 2019). Aunque todos los tipos de carcinoma de pulmón se han asociado al consumo de tabaco, diversas investigaciones han demostrado que los tipos SCC y SCLC son los que muestran mayor asociación con este agente nocivo (Travis W, Brambilla E, Burke AP, Marx A, and Nicholson AG, 2015). En las últimas décadas las campañas antitabaco lograron una disminución global de la incidencia de los carcinomas tipo SCC y SCLC, lo que implicó un incremento relativo de los ADC (Brawley OW, Glynn TJ, Khuri FR, et al., 2014). Aun así, el fumar cigarrillo o la exposición al humo del tabaco sigue siendo el más importante factor de riesgo asociado al carcinoma de pulmón (Boffetta P, Pershagen G, Jöckel K-H, et al., 1999). En nuestros casos, solo un paciente fue fumador moderado y tuvo carcinoma pulmonar tipo SCC. En nuestro país, el cáncer de pulmón ocupa el quinto lugar en frecuencia de neoplasias malignas pero el segundo en mortalidad (Payet E, Perez P, Poquioma E y Díaz E., 2016). A diferencia de países europeos o de USA, el consumo de tabaco no ha sido tan frecuente en nuestro país, lo que explica, en parte, la frecuencia encontrada. Sin embargo, la alta mortalidad de esta enfermedad es un reto para la determinación de estrategias de detección temprana y tratamientos innovadores. En relación con esto último, se recalca la importancia de conocer las alteraciones moleculares en carcinoma de pulmón, sobre todo las más frecuentes. Las referidas a K-RAS, EGFR y ALK representan el 35%, 15% y 5% respectivamente. 12.5% corresponden a alteraciones de MET, BRAF, Her2, KIF5-RET y ROS, de tal manera que en 32.5% de los casos aun no se han detectado alteraciones moleculares (Kerr KM., 2013). Como ya se mencionó, la importancia de la determinación de la mutación de K-RAS radica en el hecho de que ésta es mutuamente excluyente con las otras alteraciones

descritas, no habiéndose diseñado aun una terapia basada en esta alteración (Powell CA, Brambilla E, Bubendorf L, et al. , 2015).

La alta frecuencia de ADC encontrada en nuestra casuística, acorde con lo observado en otros países, puede estar relacionado a los factores de riesgo y a los tipos de alteraciones moleculares relacionados a este tipo de neoplasia. La diferencia entre ADC y SCC no solo es histológica o de presentación anatómica, si no también de origen carcinogénico. En efecto, en los últimos años, se ha desarrollado la teoría de los dos compartimentos en la génesis del carcinoma pulmonar (Desai TJ, Brownfield DG, and Krasnow MA, 2014). La ubicación anatómica diferente de los ADC y SCC en el pulmón, se debe a aspectos funcionales específicos. El compartimento aéreo central sirve para mantener el sistema de conducción de aire, mientras que el intercambio gaseoso ocurre en la unidad terminal respiratoria del compartimento periférico. Los elementos carcinógenos del tabaco se dirigen a las vías aéreas central y periférica, aunque el mayor efecto ocurre en el compartimento central. En contraste, los carcinomas de pulmón no asociados a los efectos del tabaco, son causados por factores desconocidos que afectan la unidad respiratoria terminal. La activación del EGFR y otras alteraciones drivers están asociadas a no fumadores y la del KRAS a fumadores (Desai et al., 2014).

CONCLUSIONES

1. En nuestra casuística, el carcinoma de pulmón más frecuente fue el ADC, siendo el subtipo más frecuente el acinar.
2. Las alteraciones moleculares más frecuentes fueron la delección del exón 19 y la mutación del exón 21 del EGFR (en conjunto 17%), seguida de la fusión del ALK (7%).
3. La frecuencia de alteraciones de EGFR en nuestros casos fue más baja que las encontradas en otros estudios con pacientes peruanos. Esto puede deberse a varias razones, como no haberse estudiados otros tipos de mutaciones del EGFR, el origen étnico de nuestros pacientes (no indígena) y la exclusión del estudio de varios casos (47%) por no tener material disponible para estudios moleculares e inmunohistoquímicos.
4. Las alteraciones del EGFR no se asocia estadísticamente a edad, sexo, estadio clínico, tipo histológico y OS en nuestros casos, aunque los que eran portadores de estas alteraciones tuvieron menos OS que los que no la tuvieron.
5. La fusión del ALK no se asocia al sexo, estadio clínico y OS en nuestros casos. Hubo asociación significativa con la edad (pacientes más jóvenes) y tipos histológico (acinar).
6. Los hallazgos encontrados no difieren significativamente de los encontrados en la literatura.

RECOMENDACIONES

1. En casos de carcinoma pulmonar debe determinarse el tipo histológico en la medida de lo posible, especificando los tipos histológicos ADC y SCC, dada la relación entre estos tipos y los tratamientos personalizados.
2. En los casos en que sea posible, debe determinarse el subtipo histológico de ADC dada la mayor frecuencia de alguno de estos con alteraciones moleculares (acinar, papilar, lepidico no mucinoso).
3. En casos de carcinoma pulmonar, luego de establecido el tipo histológico, se deben realizar estudios para determinar las alteraciones moleculares más frecuentes: KRAS, EGFR y ALK, dada su relación con terapia personalizada.
4. Debe establecerse un protocolo de estudio molecular, iniciando con las más frecuentes y continuar secuencialmente con las subsiguientes en frecuencia, teniendo en cuenta que éstas son mutuamente excluyentes, optimizando de esta manera los recursos del laboratorio.
5. Siendo la técnica de IHQ para la fusión de ALK óptima para esta determinación, se recomienda su uso en el trabajo de rutina.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Agguarwal Ch, Somaiah N, and Simon G. (2010). Biomarkers with predictive and prognostic function in Non-Small Cell Lung Cancer: Ready for prime time? *J Natl Compr Canc Net*, 8(7), 822-32.
- Ao MH, Zhang H, Sakowski L, et al. (2014). The utility of a novel triple marker (combination of TTF1, napsin A, and p40) in the subclassification of non-small cell lung cancer. *Hum Pathol*, 45(5), 926-934.
- Arrieta O, Cardona AF, Bramuglia GF, et al. (2011). Brief Report: Somatic Mutations and Ancestry Markers in Hispanic Lung Cancer Patients. *J Thorac Oncol*, 6, 1955–959.
- Arrieta O, Cardona AF, Martín C, et al. (2015). Updated Frequency of EGFR and KRAS Mutations in NonSmall-Cell Lung Cancer in Latin America. *J Thorac Oncol.*, 10, 838–843.
- Barrionuevo C y Dueñas D. (2019). Clasificación actual del carcinoma de pulmón. Consideraciones histológicas, inmunofenotípicas, moleculares y clínicas. *Horiz Med (Lima)*, 19 (4), 74-83.
- Barta JA, Powell ChA, and Wisnivesky JP. (2019). Global Epidemiology of Lung Cancer. *Annals of Global Health*, 85(1) (8), 1–16.
- Bjaanaes MM, Halvorsen AR, Solberg S, et al. (2014). Unique microRNA-profiles in EGFR-mutated lung adenocarcinomas. *Int J Cancer*, 135(8), 1812-821.
- Boffetta P, Pershagen G, Jöckel K-H, et al. . (1999). Cigarand pipe smoking and lung cancer risk: A multi-center study from Europe. *Journal of the National Cancer Institute*, 91(8), 697–701.
- Boggaram V. (2009). Thyroid transcription factor-1 (TTF-1/Nkx2.1/TITF1) gene regulation in the lung. *Clin Sci (Lond)*, 116(1), 27-35.
- Brawley OW, Glynn TJ, Khuri FR, et al. (2014). The first Surgeon General’s report on smoking and health: The 50th anniversary. *CA Cancer J Clin*, 64 (1), 5–8.
- Brevet M, Arcilla M, and Ladanyi M. (2010). Assesment of EGFR mutation status in lung adenocarcinoma by immunohistochemistry using antibodies specific to the two major forms of mutant EGFR. *J Mol Diagn*, 12(2), 169-76.
- Camidge DR, Peters S, Mok T, et al. . (2018). Updated efficacy and safety data from the global phase III ALEX study of alectinib (ALC) vs crizotinib (CZ) in untreated advanced ALK+ NSCLC. *Abstract presented at ASCO Annual Meeting*. Chicago (USA).
- Crapanzano JP, Heymann JJ, Monaco S, et al. (2014). The states of cell blocks variation and satisfaction in the era of molecular diagnostics and personalized medicine. *Cytojournal*, 11(7).
- Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Bardelli A. (2013). Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. *Nat Rev Clin Oncol*, 10, 472-484.
- Dacic S and Yousem SA. (2010). Molecular testing in Lung Cancer. Quo Vadis? *Am J Clin Pathol*, 134, 7-9.
- de Groot PM, Wu CC, Carter BW, and Munden RF. (2018). The epidemiology of lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*, 7(3), 220-233.

- De Oliveira Duarte Achcar R, Nikiforova MN, and Yousem SA. (2009). Micropapillary lung adenocarcinoma: EGFR, K-ras, and BRAF mutational profile. *Am J Clin Pathol*, 131, 694-700.
- Desai TJ, Brownfield DG, and Krasnow MA. (2014). Alveolar progenitor and stem cells in lung development, renewal and cancer. *Nature*, 507, 190-194.
- Fisher R, Puzstai L, Swanton C. (2013). Cancer heterogeneity: implications for targeted therapeutics. *Br J Cancer*, 108, 479–85.
- Gazdar, AF, Bunn, PA & Minna JD. (2017). Small-cell lung cancer: what we know, what we need to know and the path forward. *Nat Rev Cancer*, 17 , 725–737.
- Gimbrone NT, Sarcar B, Gordian ER, et al. (2017). Brief Report: Somatic Mutations and Ancestry Markers in Hispanic Lung Cancer Patients. *J Thorac Oncol*, 12(12), 1851–856.
- Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, et al. (2005). Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *Ann Oncol*, 16(10), 1569-83.
- Golstraw P et al. (2016). 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. *J Thorac Oncol*, 11, 39-51.
- Hoadley KA, Yau C, Wolf DM, et al. (2014). Multi-platform analysis of 12 cancer types reveals molecular classification within and across tissues-of-origin. *Cell*, 158(4), 929-944.
- Imran A, Qamar HY, Ali Q, et al. (2017). Rol of molecular biology in cancer treatment: a review article. *Iran J Public Health*, 46(11), 1475-1485.
- Jordan, E. J. et al. (2017). Prospective comprehensive molecular characterization of lung adenocarcinomas for efficient patient matching to approved and emerging therapies. *Cancer Discov*, 7, 596–609.
- Kashima J, Kitadai R, Okuma Y . (2019). Molecular and Morphological Profiling of Lung Cancer: A Foundation for “Next-Generation” Pathologists and Oncologists. *Cancers (Basel)*, 29(11(5)).
- Kawahara A, Yamamoto Ch, Nakashima K, et al. (2010). Molecular diagnosis of activating EGFR mutations in Non-Small Cell Lung Cancer using mutation-specific antibodies for immunohistochemical analysis. *Clin Cancer Res*, 16(12), 3163-70.
- Kerr KM. (2013). Clinical relevance of the new IASLC/ERS/ATS adenocarcinoma classification. *J Clin Pathol*, 66 (10), 832-838.
- Kreyberg L, Liebow AA, Uchinger EA. (1967). *World Health Organization. Histological typing of lung tumours*. Geneva: WHO.
- Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, et al. (2013). Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature*, 499, 214–218.
- Le Quesne J, Maurya M, Yancheva SG, et al. (2014). A comparison of immunohistochemical assays and FISH in detecting ALK translocation in diagnostic histological and cytological lung tumor material. *J Thoracic Oncol*, 9, 769-774.
- Leer-Florin A, Moro-Sibilot D, Melis A, et al. (2012). Dual IHC an FISH testing for ALK gene rearrangement in lung adenocarcinomas I a routine practice: a French study. *J Thoracic Oncol*, 7, 348-354.
- Mino-Kenudson M, Chirieac LR, Law K, Homick JL, et al. (2010). A novel, highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinoma by standard immunohistochemistry. *Clin Cancer Res*, 16(15), 1561-71.

- Motoi N, Szoke J, Riely GJ, et al. (2008). Lung adenocarcinoma: modification of the 2004 WHO mixed subtype to include the major histologic subtype suggests correlations between papillary and micropapillary adenocarcinoma subtypes, EGFR mutations and gene expression analysis. *Am J Surg Pat*, 32, 810-827.
- Nan X, Xie Ch, Yu X, and Liu J. (2017). EGFR TKI as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer. *Oncotarget*, 8 (43), 75712-726.
- O'Brien CP, Taylor SE, O'Leary JJ, Finn SP. (2014). Molecular testing in oncology: problems, pitfalls and progress. *Lung Cancer*, 83, 309–315.
- Ott, PA et al. (2017). Pembrolizumab in patients with extensive-stage small-cell lung cancer: results from the phase Ib KEYNOTE-028 Study. *J Clin Oncol*, 35, 3823–3829.
- Pakkala S, and Ramalingam SS. (2018). Personalized therapy for lung cancer: striking a moving target. *JCI Insight*, 3(15), 1-14.
- Payet E, Perez P, Poquioma E y Díaz E. (2016). Cáncer en Lima Metropolitana. (INEN, Ed.) *Ministerio de Salud. INEN. Registro de Cáncer de Lima Metropolitana. Incidencia y Mortalidad 2010 – 2012*, 5, 25-34.
- Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al. . (2005). Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*, 353(16), 1659-72.
- Pøhl M, Olsen KE, Holst R, Ditzel HJ, Hansen O. (2014). Tissue microarrays in non-small-cell lung cancer: reliability of immunohistochemically determined biomarkers. *Clin Lung Cancer*, 15(3), 222-230.
- Powell CA, Brambilla E, Bubendorf L, et al. . (2015). Molecular testing for treatment selection in lung cancer. En B. E. Travis WD, *Who Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart* (4th edition ed., págs. 22-25). Lyon, France: IARC.
- Ramos WC, Venegas DR, Medina JL, y col. (2013). Análisis de la situación del cáncer en el Perú. *Dirección General de Epidemiología del Ministerio de Salud (Perú)*, 35-78.
- Roth JA, Billings P, Ramsey SD, et al. (2014). Cost-effectiveness of a 14-gene risk score assay to target adjuvant chemotherapy in early stage non-squamous non-small cell lung cancer. *Oncologist*, 19(5), 466-476.
- Rudin CM, Poirier JT, Byers LA, et al. (2019). Molecular subtypes of small cell lung cancer: a synthesis of human and mouse model data. *Nat Rev Cancer*, 19(5), 289-297.
- Sakashita S, Sakashita M, Sound Tsao M. (2014). Genes and pathology of non-small cell lung carcinoma. *Semin Oncol*, 41(1), 28-39.
- Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, et al. (2013). Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*, 368, 2385-394.
- Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, et al. (2009). Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. *J Clin Oncol*, 27(4247).
- Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. (2007). Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*, 448, 561-566.
- Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. (2014). First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*, 371, 2167-177.
- Somoza AD, and Aly FZ. (2014). Utility of molecular tests in cytopathology. *Cytojournal*, 11(5).

- Stahel R, Bogaerts J, Ciardiello F, et al. (2015). Optimising translational oncology in clinical practice: Strategies to accelerate progress in drug development. *Cancer Treat Rev*, 41(2), 129-35.
- Stieber P and Holdenreider S . (2010). Lung cancer biomarkers. Where we are and what we need. *Cancer Biomark*, 6(3-4), 221-24.
- Su Y, Pan L. (2014). Identification of logic relationships between genes and subtypes of Non-Small Cell Lung Cancer. *PLoS One*, 9(4), e9644.
- Subramanian J, and Govindan R. (2007). Lung cancer in never smokers: a review. *J Clin Oncol*, 25(5), 561-570.
- Sun S, Schiller JH, and Gazdar AF. (2007). Lung cancer in never smokers: a different disease. *Nat Rev Cancer*, 7(10), 778-790.
- Travis W, Brambilla E, Burke AP, Marx A, and Nicholson AG. (2015). *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. Lyon: IARC Press.
- Travis WD. (2011). Pathology of lung cancer. *Clin Chest Med*, 32 , 669–692.
- Travis WD, Noguchi M, Yatabe Y, et al. (2015). Adenocarcinoma. En B. E. Travis WT, *Who Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart* (4th edition ed., págs. 26-37). Lyon, France: IARC.
- V., B. (2009). Thyroid transcription factor-1 (TTF-1/Nkx2.1/TTF1) gene regulation in the lung. *Clin Sci (Lond)*, 116(1,), 27-35.
- V., B. (2009). Thyroid transcription factor-1 (TTF-1/Nkx2.1/TTF1) gene regulation in the lung. *Clin Sci (Lond)*, 116(1), 27-35.
- Wang CX, Liu B, Wang YF, et al. (2014). Pulmonary enteric adenocarcinoma: a study of the clinicopathologic and molecular status of nine cases. *Int J Clin Exp Pathol*, 7(3), 1266-274.
- Watson WL, Berg JW. (1962). Oat cell lung cancer. *Cancer*, 15, 759-768.
- Waynes MW, Shol LM, Dietel M, et al. (2014). An international interpretation study using the ALK IHC antibody D5F3 and a sensitive detection kit demonstrates high concordance between ALK IHC and ALK FISH and between evaluators. *J Thoracic Oncol*, 9, 631-638.
- Weir BA, and Woo MS. (2007). Characterizing the cancer genome in lung adenocarcinoma. *Nature*, 450 (7171), 893–898.
- West L, Vidman SJ, Campbell NP, et al. (2012). Novel Classification of Lung Cancer into Molecular Subtypes. *PLoS ONE*, 7(2), e31906.
doi:10.1371/journal.pone.0031906
- Wright GM, Do H, Weiss J, et al. (2014). Mapping of actionable mutations to histological subtype domains in lung adenocarcinoma: implications for precision medicine. *Oncotarget*, 5(8), 2107-115.
- Yoshida A, Tsuta K, Watanabe S, et al. (2011). Frequent ALK rearrangement and TTF1-1/p63 co-expression in lung adenocarcinoma with signet-ring cell component. *Lung Cancer*, 72, 309-315.
- Yu H, Han Z, Wang Y, Xin H. (2014). The Clonal evolution and therapeutic approaches of lung cancer. *Cell Biochem Biophys*, 70(1), 63-71.
- Zhang T, Wan B, Zhao Y, et al. (2019). Treatment of uncommon EGFR mutations in non-small cell lung cancer: new evidence and treatment. *Transl Lung Cancer Res*, 8(3), 302-316.
- Ziogas DE, Katsios C, Roukos DH. (2011). From molecular traditional molecular biology to network oncology. *Future Oncol*, 7(2), 155-159.

CAPITULO 7. ANEXOS

Anexo 1. Ficha de recolección de datos

DATOS DE FILIACIÓN

- Iniciales:
- Número de historia clínica:
- Nombre del investigador: Carlos Barrionuevo Cornejo
- Teléfono de contacto: (511) 2016500 anexo 1451
- Fecha de nacimiento:
- Lugar de nacimiento:
- Procedencia:
- Ocupación:

DATOS DIAGNÓSTICOS

- Fecha diagnóstica del episodio (AP inicial):
- Número de biopsia diagnóstica:

DATOS CLÍNICOS

Síntomas al inicio de la enfermedad	Masa
	Sangrado
	Dolor
	Otros:
Ubicación del tumor	
Territorios ganglionares con metástasis (especificar)	
Metástasis a distancia (especificar)	
Estadio TNM	I / II / III / IV

EVOLUCIÓN

- Exitus: Sí / No. Fecha del exitus: __/__/__
- Causa del exitus:
 - Neoplasia: Sí / No
 - Toxicidad por el tratamiento: Sí / No. Detallar: _____

- Segunda neoplasia. Sí / No. Detallar: _____
- Otras: Sí / No. Detallar: _____
- Última visita: Fecha: Estado de última visita: Vivo en RC Vivo con enfermedad Muerto

DATOS ANATOMOPATOLOGICOS:

Diagnóstico histológico confirmado:

Inmunohistoquímica:

DATOS MOLECULARES Y DE ALK:

Mutación de EGFR (presente / ausente):

Deleción de EGFR (presente /ausente):

Sobreexpresión de ALK (presente / ausente):

Anexo 2. Anticuerpos para inmunohistoquímica

<i>Anticuerpo</i>	<i>Marca</i>	<i>Dilución</i>	<i>Metodo (Automatizado)</i>	<i>Recuperación antigénica</i>
<i>CK7</i>	DAKO	READY TO USE	AUTOSTAINER (Dako Cytomation)	TRIS EDTA, 20 MIN
<i>CK20</i>	DAKO	READY TO USE	AUTOSTAINER (Dako Cytomation)	TRIS EDTA, 20 MIN
<i>TTF1</i>	DAKO	READY TO USE	AUTOSTAINER (Dako Cytomation)	TRIS EDTA, 20 MIN
<i>Napsin/A</i>	DAKO	READY TO USE	AUTOSTAINER(Dako Cytomation)	TRIS EDTA, 20 MIN
<i>Sinaptofisina</i>	DAKO	READY TO USE	AUTOSTAINER(Dako Cytomation)	TRIS EDTA, 20 MIN
<i>Cromogranina</i>	DAKO	READY TO USE	AUTOSTAINER(Dako Cytomation)	TRIS EDTA, 20 MIN