



HOSPITAL CENTRAL
"DR. IGNACIO
MORONES PRIETO"

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL DR. IGNACIO MORONES PRIETO

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA
ESPECIALIDAD DE ANATOMÍA PATOLÓGICA
**ASOCIACIÓN DEL INFILTRADO LINFOCÍTICO TUMORAL (TILs) Y
EXPRESIÓN DEL LIGANDO DE MUERTE CELULAR PROGRAMADA (PD-1)
EN PACIENTES CON CARCINOMA DE MAMA DEL HOSPITAL CENTRAL DR.
IGNACIO MORONES PRIETO.**

DRA. KAREN SELENE ABONCE VILLAGÓMEZ

ASESOR
DRA. MARY CARMEN GUTIÉRREZ GIL

CO – ASESORES
DR. HÉCTOR GERARDO HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
 FACULTAD DE MEDICINA
 ESPECIALIDAD EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

TÍTULO DE TESIS
 ASOCIACIÓN DEL INFILTRADO LINFOCÍTICO TUMORAL (TILs) Y EXPRESIÓN
 DEL LIGANDO DE MOLÉCULAS DE MUERTE CELULAR PROGRAMADA (PD-
 L1) EN PACIENTES CON CARCINOMA DE MAMA DEL HOSPITAL CENTRAL
 IGNACIO MORONES PRIETO

PRESENTA
 DRA. KAREN SELENE ABONCE VILLAGÓMEZ

Firmas

Asesor Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil	
Asesor Metodológico Dr. Héctor Hernández Rodríguez	

Sinodales	
Dr. David Martínez Galla	
Dra. Nadia Judith Hernández Gómez	
Dr. Cuauhtémoc Oros Ovalle	
M. en C. Ma. del Pilar Fonseca Leal Jefe de Investigación y Posgrado Clínico de la Facultad de Medicina	Dr..... Coordinador de la Especialidad en



RESUMEN

Introducción: Una parte importante en la valoración histopatológica de los especímenes de carcinoma mamario es la caracterización molecular del perfil hormonal y de HER2 de cada tumor, que generalmente se realiza por métodos de inmunohistoquímica, lo que resulta en la identificación de subtipos y permite el diseño de tratamientos específicos para las pacientes. En los últimos años se ha identificado a la respuesta inmune como papel fundamental en la biología tumoral. También se han identificado moléculas reguladoras de la interacción de linfocitos con células tumorales, lo que ha permitido el desarrollo de la inmunoterapia con medicamentos blanco. Así también se ha puesto especial atención al microambiente tumoral y la valoración en porcentaje del infiltrado linfocítico tumoral (TILs) como un biomarcador pronóstico útil en carcinoma mamario y la respuesta a terapias neoadyuvantes. Incluso se ha publicado una guía para la estandarización de la valoración y el reporte del infiltrado linfocítico tumoral, considerada en el Consenso Mexicano sobre el diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario (2017). La presencia de moléculas reguladoras en carcinoma mamario se ha asociado con factores pronósticos como alto grado tumoral, carcinoma triple negativo y alcance de respuesta patológica completa post tratamiento. **Objetivo principal:** Evaluar el porcentaje de infiltrado linfocítico tumoral, así como la expresión del ligando de proteínas de muerte celular (PD-L1) en células neoplásicas y su asociación a este infiltrado, además de describir las características clínico-patológicas de las pacientes con carcinoma mamario. **Diseño de estudio:** Retrospectivo, transversal y descriptivo en un periodo de 5 años (2013-2017). **Cálculo del tamaño de la muestra y análisis estadístico:** Para la valoración de la asociación del infiltrado linfocítico y la expresión de PD-L1 se utilizó la prueba de extensión de la probabilidad exacta de Fisher y el cociente de asociación de Cramér. Para la muestra el cálculo se realizó mediante proporciones. **Factibilidad:** Se cuenta con el equipo y la infraestructura para su realización, así como la disponibilidad de los anticuerpos y los bloques de parafina a los cuales se les realizará el estudio de inmunohistoquímica.



DEDICATORIAS

A mis padres y hermana, por su fe en mi persona.

A mis maestros Patólogos, que han sido una guía, un ejemplo a seguir y por la importancia que le dan a nuestro trabajo.

Al Dr. Hernández, por mostrarnos el lado amable de la metodología y estadística.

A los compañeros residentes, que se vuelven familia.

A nuestros pacientes, la razón de lo que somos.



Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Medicina
Tesis para obtener el Diploma de la Especialidad en

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Oros, por ese tour del inicio que cambió mi vida profesional.

Dra. Mary, gracias por todo.

Al personal técnico y administrativo del laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto, gracias por su paciencia.

ÍNDICE

RESUMEN	I
DEDICATORIAS	II
AGRADECIMIENTOS	III
ANTECEDENTES.	1
JUSTIFICACIÓN.	11
HIPÓTESIS.	12
OBJETIVOS.	13
SUJETOS Y MÉTODOS.	14
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	17
ÉTICA.....	18
RESULTADOS.	19
DISCUSIÓN.	25
LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.	27
CONCLUSIONES.....	28
BIBLIOGRAFÍA.	29
ANEXOS	31

ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 1. Principales características de los subtipos de carcinoma mamario de acuerdo con receptores hormonales y HER2.....	3
Tabla 2. Recomendaciones para la valoración del infiltrado linfocítico intratumoral (TILs), de acuerdo con el International TILs Working Group 2014.....	8
Tabla 3. Cuadro de variables.....	15
Tabla 4. Características generales.....	19
Tabla 5. Análisis cuantitativo de TILs respecto a la expresión de PD-L1.....	21
Tabla 6. Análisis cualitativo entre TILs y PD-L1.....	21

ÍNDICE DE GRÁFICAS Y FIGURAS

Figura 1 Método estandarizado para la valoración de TILs en carcinoma mamario	¡Error! Marcador no definido.
Figura 2 Cálculo de muestra.....	17
Figura 3 Gráfica de metástasis en relación a PD-L1.....	23
Figura 4 Inmunorreacción para PD-L1 y valoración del infiltrado linfocítico tumoral.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

AJCC: American Joint Committee of Cancer.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

TSA: Antígenos tumorales específicos (siglas en inglés).

TAA: Antígenos asociados a tumores (siglas en inglés).

Treg: Células T reguladoras.

IL-6, IL-8: Interleucinas 6 y 8.

TILs: Infiltrado linfocítico tumoral.

NK: Natural Killer (linfocitos).

PD-L1: Ligando de moléculas de muerte celular programada.

RE: receptores de estrógeno.

G: Grado (G1, G2, G3).

SBR: clasificación de Scarff-Bloom-Richardson.

DE: Desviación estándar

ANTECEDENTES.

A nivel mundial, en el año 2018 se han registrado más de 18 millones de casos nuevos de cáncer, los cuales se distribuyen entre los 8 tipos más frecuentes: cáncer de pulmón, mama, colorrectal, próstata, estómago, hígado, esófago y cérvico uterino, en orden decreciente ⁽⁵⁾. En cuanto a cáncer de mama, el segundo más frecuente, se han registrado más de 2 millones de casos nuevos, siendo responsable de más de 600 mil muertes en el 2018 ⁽⁶⁾. En Norteamérica, el cáncer de mama tiene una incidencia de 12.6% (en ambos sexos). Para las mujeres mexicanas se reportaron 27, 283 nuevos casos de cáncer de mama en el 2018 ⁽⁷⁾. A pesar de los programas de detección oportuna, el cáncer de mama se detecta en estadios avanzados en más de la mitad de los casos (estadio II 34.4%, estadios II y IV 42.1%) ⁽²⁾. De acuerdo con el Consenso Mexicano sobre el Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer Mamario (Colima, 2013), desde el 2006 ocupa el primer lugar en mortalidad por tumor maligno en mujeres mayores de 25 años, con una tasa estandarizada de mortalidad en el 2010 de 18.7 por 100 mil mujeres de 25 años y más. Geográficamente la mortalidad se concentra en los estados: Distrito Federal (13.4%), México (12.4%), Jalisco (8.2%), Veracruz (6.4%), Nuevo León (6%) y Guanajuato (3.8%) ⁽²⁾. Por lo anterior y por el incremento tanto de la detección de esta neoplasia como de los factores de riesgo bien establecidos, el cáncer de mama continúa catalogado como problema de salud pública y se requieren modelos de diagnóstico auxiliares en éste y desarrollo de tratamientos más especializados para combatirlo.

La Guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer de Mama en el segundo y tercer nivel de atención, define al carcinoma de mama como el crecimiento anormal y desordenado de células del epitelio de los conductos o lobulillos mamarios y que tiene la capacidad de diseminarse.

La Organización Mundial de la Salud clasifica los tumores de la glándula mamaria en ocho grandes grupos ⁽¹²⁾: tumores epiteliales, fibroepiteliales, tumores del pezón, linfoma maligno, tumores metastásicos, tumores de la glándula mamaria masculina y patrones clínicos.

Características histológicas y perfil hormonal.

Además del conocimiento de la epidemiología, factores de riesgo y la evaluación clínica de las pacientes con carcinoma mamario, una parte importante es el manejo y valoración de los especímenes tanto de biopsia, cuadrantectomías, productos de mastectomía, etc., que tiene como consecuencia el diagnóstico histopatológico, la estadificación, perfil hormonal e identificación de los factores pronósticos de cada tumor, que serán la principal guía para el tratamiento y seguimiento de las pacientes. Dentro de este proceso, para la gradificación se utilizan tres parámetros principales que forman parte de la puntuación histológica de Nottingham, que son: la diferenciación glandular (acinar)/tubular, el pleomorfismo nuclear y el índice de mitosis. Estas puntuaciones se suman hasta la clasificación en grados 1, 2 y 3 ⁽¹²⁾. Para el estadio patológico se utiliza la clasificación pTNM, de acuerdo con la AJCC (8th edición), que considera el tamaño tumoral e invasión a otras estructuras (T), metástasis a ganglios linfáticos (N) y metástasis a distancia (M) ⁽¹²⁾.

Otro aspecto importante es la valoración molecular para receptores hormonales y Her2, comúnmente realizada por métodos de inmunohistoquímica. De acuerdo con su expresión se pueden clasificar en otros subtipos, no necesariamente considerados tipos histológicos especiales ⁽⁸⁾. Las principales características histopatológicas y clínicas de estos subtipos se ilustran en la tabla 1 ⁽⁸⁾.

Carcinoma y respuesta inmune.

La importancia de la caracterización del perfil hormonal y de Her2, es por la implicación terapéutica que tiene. Las opciones de tratamiento en el carcinoma mamario van desde intervenciones quirúrgicas, terapias adyuvantes (radioterapia y quimioterapia), hormonoterapia e inmunoterapia. A pesar de las numerosas estrategias de tratamiento estos aún significan tratamientos agresivos, con numerosos efectos secundarios. En la búsqueda de más opciones, de tratamientos más personalizados, con menos efectos secundarios y que además tengan impacto en aspectos como la sobrevida, periodos libres de enfermedad y respuesta patológica completa; se ha puesto interés especial en el comportamiento biológico propio de los tumores respecto a uno de los principales y clásico sistema de

defensa: la respuesta inmune. Lo anterior ha permitido el desarrollo de estrategias tanto de tratamiento (inmunoterapia) como de la valoración de esa respuesta. Para comprender las estrategias terapéuticas basadas en inmunoterapia en carcinoma mamario, se deben conocer los mecanismos inmunorreguladores que favorecen el desarrollo de éste.

Tabla 1. Principales características de los subtipos de carcinoma mamario de acuerdo con receptores hormonales y HER2.

Características	RE(+)/HER2(-) (luminal A)	RE(+)/HER2(+/-) (luminal B)	RE(-)/HER2(+) (HER2)	RE(-)/HER2(-) (tipo basal/triple negativo).
Porcentaje de los carcinomas mamaros	55%	15%	15-20%	10-15%
Grado	Grado I o II	Grado II o III	Grado II o III	Usualmente grado III
Tipos histológicos especiales.	Tubular, cribiforme, papilar, mucinoso, lobulillar grado I y II	Lobulillar grado III, micropapilar, apócrino (~50%)	Apocrino (~50%)	Carcinomas con características medulares, adenoescamoso*, secretor*, adenoideo quístico*, células fusiformes y metaplásico.
Receptores de estrógeno	Positivo: intenso	Positivo: puede ser bajo	Negativo	Negativo
Receptores de progesterona	Usualmente positivo	Puede ser bajo o negativo	Negativo	Negativo
HER2	Negativo	50% positivo	Positivo	Negativo
Proliferación	Baja	Alta	Alta	Alta
Metástasis a ganglio linfático	~45%	~50%	~60%	~45%
Invasión linfovascular	~40%	~50-60%	~50%	~40%
Cambios genéticos comunes	Nivel bajo de inestabilidad, deleción de 16q y ganancia 1q (80%).	Cambios genéticos complejos, inestabilidad genética, deleción de 16q y ganancia	Amplificación de HER2 y genes próximos, pueden tener mutaciones en TP53.	Altamente inestable, pérdida de la función de los genes reparadores de ADN,

	Mutaciones PIK3CA (35%). Mutaciones en TP53 raro.	en 1q (50%), pueden tener mutaciones en TP53.		la mayoría tiene mutaciones en TP53.
Respuesta completa a quimioterapia	<10%	HER2 (-) ~10%, HER2 (+) ~15%	>30%	~30%
Edad	70	70	60	50
Tiempo para recurrencia	Posiblemente >10 años	Corto, <10 años	Corto, <10 años	Corto, <5 años
Sobrevida con metástasis	A menudo años	Variable	Variable	Usualmente muy corta
Pronóstico	Favorable	Menos favorable (mejora con la terapia blanco para HER2 en carcinomas positivos)	Desfavorable (mejora con la terapia blanco para HER2)	Desfavorable (una parte puede tener buena respuesta a quimioterapia)
Terapia sistémica	Mayor beneficio con tratamiento hormonal, beneficio menos claro con quimioterapia.	Puede tener beneficio con ambos (hormonal y quimioterapia)	Beneficio con quimioterapia y terapia blanco para HER2	Beneficio con quimioterapia en algunos subgrupos
Sitio de metástasis.	Hueso (70%), hígado o pulmón (25%), cerebro (<10%); sobrevida con metástasis es posible.	Hueso (79%), hígado o pulmón (30%), cerebro (10-15%)	Hueso (60%), hígado o pulmón (45%), cerebro (30%), no es común larga supervivencia con metástasis.	Hueso (40%), hígado o pulmón (35%), cerebro (25%); no es común larga supervivencia con metástasis.
Características comunes	Edad mayor. Diagnóstico por programas de detección, asociado con terapia de reemplazo hormonal.	Paciente joven, portadora de BRCA2, TP53 [si HER2 (+)]	Relativamente más común en mujeres jóvenes y asiáticas.	Relativamente más común en mujeres jóvenes americanas, hispanas y africanas, y portadoras de BRCA1

***Estos carcinomas tipo basales tienen pronóstico favorable, diferente a los otros miembros de este grupo.**

Adaptado de: Hicks DG, Lester SC, Eds. *Diagnostic Pathology: Breast. Second edition, Salt Lake City, UT: Elsevier, Inc., 2016*

Mecanismos inmunorreguladores.

Diversos tumores utilizan los mecanismos de tolerancia inmunitaria que protegen contra el desarrollo de enfermedades autoinmunes, evadiendo la respuesta inmune local y obstaculizan la inmunidad antitumoral efectiva ⁽⁴⁾. Dentro de los mecanismos inmunorreguladores existen los que dependen de las células tumorales y los que se desarrollan en el microambiente donde están estas células, es decir de las células estromales, linfocitos, células presentadoras de antígenos y macrófagos. Estas células conforman el concepto de microambiente tumoral, que es donde se llevan a cabo interacciones peculiares para el desarrollo del carcinoma ⁽⁴⁾. Las células tumorales expresan proteínas reconocidas como antígenos por las células del sistema inmune, como los llamados antígenos tumorales específicos (TSA, en inglés), otros son antígenos asociados a tumores (TAA) que no son específicos, pero son más comunes. Estos últimos derivan de proteínas propias, siendo inmunógenos débiles, reconocidos por linfocitos de baja afinidad por procesos de tolerancia tímica. Ejemplo de ellos es la oncoproteína transmembrana tipo 1 HER2, para la cual existen tratamientos diana ⁽⁴⁾. Los mecanismos mediados por las células inflamatorias han tomado relevancia en los últimos años, los que dependen incluso del tipo de células que se encuentran en el infiltrado linfocítico tumoral. El infiltrado de células TCD8+ citotóxicas en el carcinoma de mama se ha asociado fuertemente con factores pronóstico como mayor supervivencia y mejor respuesta a terapia ^(15, 17, 4). Otra población de linfocitos importante son los TCD4+. La subpoblación Th1 se ha asociado con resultados favorables, mientras que los tipos Th2 (productores de interleucinas 4 y 13) promueven el desarrollo tumoral al producir factores de crecimiento que aceleran la proliferación de las células tumorales. Las interleucinas 4 y 13 suprimen localmente la respuesta inmunitaria antitumoral local, promueven la metástasis y la resistencia a la apoptosis de las células tumorales ⁽⁴⁾. Las células T reguladoras (*Treg*), expresan un factor de transcripción, el FoxP3, su infiltración en carcinoma mamario se ha asociado a mal

pronóstico y en modelos animales se ha demostrado su capacidad para suprimir la actividad citotóxica de los linfocitos TCD8+ específicos hacia antígenos asociados a tumores (TAA) ⁽⁴⁾. Las células Treg también expresan otras moléculas con función reguladora como CTLA-4, que en algunas series se han reportado hasta en el 50% de los carcinomas mamarios y para la cual se han desarrollado medicamentos anti-CTLA-4 que han mostrado aumentar la eficacia de la quimioterapia y radioterapia en modelos preclínicos y ensayos clínicos fase I ⁽⁹⁾. En el microambiente tumoral del carcinoma mamario también se encuentran células dendríticas, que expresan OX40L, molécula implicada en la polarización de los linfocitos TCD4+ hacia el perfil Th2 y activar células Treg, también tienen una disminución en su actividad fagocítica, de presentación antigénica y de maduración ⁽⁴⁾. Se han reconocido células mesenquimales multipotenciales en el estroma tumoral que promueven el crecimiento de tumores por mecanismos aun estudiados. Se proponen mecanismos como que estas células tienen propiedades angiogénicas, inmunorreguladores y producción de IL-6 y 8 que promueven proliferación y migración de células tumorales ⁽⁴⁾. Estas características del microambiente tumoral donde el infiltrado inflamatorio predomina han sido de interés en los últimos años, proponiéndolo como un biomarcador pronóstico en cáncer de mama y a buscar formas objetivas de evaluarlo.

Infiltrado Linfocítico Tumoral (TILs) en carcinoma mamario.

La interacción entre el sistema inmune, el infiltrado linfocítico tumoral (TILs) y el carcinoma se integra en la teoría de inmunoedición o vigilancia inmunológica propuesta por Burnet y Thomas. Propone que el sistema inmune actúa como un centinela reconociendo antígenos tumorales y eliminando las células tumorales incipientes ⁽³⁾. Se reconocen 3 fases en esta teoría ^(3, 17):

- Eliminación: el sistema inmune del huésped reconoce los antígenos tumorales y destruye el tumor en desarrollo. Se caracteriza por la presencia de linfocitos TCD8+, TCD4+ Th1 y células Natural killer (NK).
- Equilibrio: selección Darwiniana de células tumorales con habilidades superiores de supervivencia.

- Escape: proliferación descontrolada del tumor y detección clínica del mismo. En el microambiente tumoral se detectan linfocitos Treg FOXP3+, TCD4+ tipo Th2 y células supresoras mieloides.

Existe evidencia considerable que da validez analítica y clínica al infiltrado inflamatorio tumoral (TILs), así como evidencia que demuestra su utilidad clínica. Loi et al.⁽¹⁶⁾, han demostrado que la incorporación de TILs con un algoritmo que considere el estatus ganglionar, tamaño tumoral y la edad es posible hacer predicciones a 5 años acerca de la sobrevida libre de enfermedad a distancia. Estudios de lesiones primarias pareadas con sus metástasis han notado bajos niveles de TILs en las metástasis⁽¹⁷⁾. Se ha visto una fuerte relación lineal entre el incremento de TILs y mejor sobrevida libre de recurrencia en carcinoma mamario triple negativo y carcinoma HER2 positivo⁽¹⁷⁾. En el estudio BIG 02-98 mostró que en el carcinoma triple negativo por cada 10% de incremento de TILs intratumorales y estromales hay una reducción del riesgo de recaída del 17 y 15% respectivamente y un 27 y 17% de reducción del riesgo de muerte independientemente del tipo de quimioterapia^(15, 16). En cuanto a TILs y respuesta a quimioterapia neoadyuvante, el infiltrado linfocítico tumoral se ha asociado con tasas altas de respuesta patológica completa (pCR) a quimioterapia neoadyuvante, así como a un pronóstico más favorable con la presencia de TILs en enfermedad residual post neoadyuvancia⁽¹⁷⁾. Se ha encontrado utilidad clínica de los TILs en la predicción de la respuesta a monoterapia con bloqueadores de moléculas reguladoras, identificación de carcinomas primarios triple negativos y HER2+ con buen pronóstico para guiar la terapia adyuvante y el perfeccionamiento del concepto de respuesta patológica completa y neoadyuvancia⁽¹⁷⁾.

Evaluación del Infiltrado Linfocítico Tumoral (TILs).

El Consenso Mexicano Sobre el Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer Mamario (2017), en sus recomendaciones para el reporte histopatológico del carcinoma mamario infiltrante ya incluye la evaluación del infiltrado linfocítico tumoral (TILs), la cual debe realizarse siguiendo las recomendaciones del *International TILs Working Group 2014*^(2, 15). En sus recomendaciones distingue principalmente 2 tipos de infiltrados linfocíticos, los intratumorales y estromales. Los

TILs intratumorales se definen como los linfocitos en los nidos tumorales que tienen contacto directo con las células del tumor sin intervención del estroma. Los TILs estromales están localizados dispersos en el estroma entre las células tumorales y no en contacto directo con éstas. Para propósitos diagnósticos en cortes H&E, los TILs estromales han sido un parámetro superior y más reproducible. Las recomendaciones para la valoración de los TILs se resumen en la tabla 2 y se ejemplifican en la figura 1, adaptados del *International TILs Working Group 2014* ⁽¹⁵⁾.

Tabla 2. Recomendaciones para la valoración del infiltrado linfocítico intratumoral (TILs), de acuerdo con el International TILs Working Group 2014.

1. Los TILs deben reportarse del compartimento estromal (= % del TILs estromal). EL denominador utilizado para determinar el % de TILs estromales es el área del tejido estromal (área ocupada por las células inflamatorias mononucleares sobre el área estromal total intratumoral), no el número de células estromales.
2. Los TILs se deben evaluar dentro de los bordes del tumor invasor.
3. Excluir TILs fuera de los bordes tumorales, ej.: alrededor de CDIS y lóbulos normales.
4. Excluir TILs en zonas del tumor con artefactos de aplastamiento, necrosis, hialinización, así como de sitios de biopsia previa.
5. Todas las células mononucleares deben ser consideradas (incluyendo linfocitos y células plasmáticas), los polimorfonucleares son excluidos.
6. Un corte de 4-5µm, magnificación 200-400x por paciente es considerado suficiente.
7. Cortes completos son preferidos sobre biopsias siempre que sea posible. Las biopsias pueden ser usadas en el escenario pre terapéutico neoadyuvante. Actualmente no hay metodología validada para valorar TILs después de tratamiento neoadyuvante.
8. El patólogo debe utilizar una valoración completa promedio de TILs en el área tumoral. No enfocarse en “hotspots”.
9. EL grupo de trabajo del consenso considera que los TILs proveen información biológica relevante cuando se valoran como una variable continua, lo que permite análisis estadísticos más precisos y categorizarse alrededor de diferentes umbrales. Se recomienda que en la práctica diaria los decimales se redondeen a números enteros, por ejemplo. 13.5% a entre 5-10% o 15%.
10. Los TILs deben valorarse como un parámetro continuo. El porcentaje de TILs estromales es un parámetro semicuantitativo para esta valoración, por ejemplo, 80% de TILs estromales significa que el 80% del área estromal muestra un denso infiltrado mononuclear.
11. Por el momento no hay recomendaciones formales para umbrales clínicamente relevantes. EL consenso considera más importante una metodología válida más que umbrales para uso clínico, los cuales serán determinados una vez que exista una metodología sólida.

Tomado de: Salgado R, Denkert C, Demaria S, et al. Harmonization of the evaluation of tumor infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: Recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Annals of Oncology Advance Acces published September 11, 2014.*

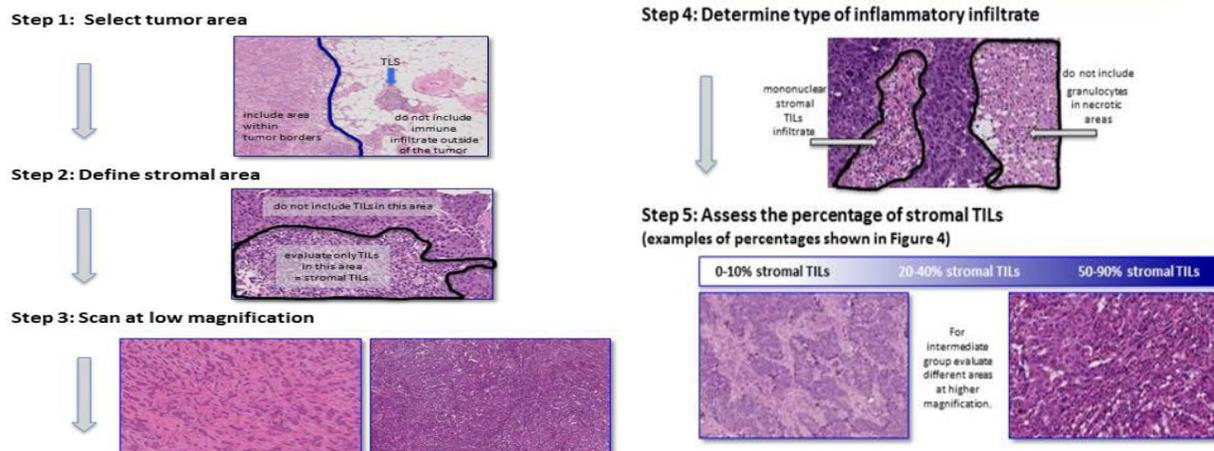


Figura 1 Método estandarizado para la valoración de TILs en carcinoma mamario. Recuperado de: Salgado R, Denkert C, Demaria S, et al. Harmonization of the evaluation of tumor infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: Recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Annals of Oncology Advance Acces published September 11, 2014*

Papel de las moléculas reguladoras en carcinoma mamario y su relación con TILs.

Además de una serie de citocinas, las células del infiltrado tumoral expresan moléculas capaces de suprimir la respuesta inmunitaria local, las llamadas moléculas reguladoras o “immune checkpoints” (4, 9), para las cuales se han desarrollado tratamientos blanco prometedores. Dos tipos principales de estas moléculas se han estudiado en el carcinoma mamario: el antígeno de linfocitos T citotóxicos, CTLA-4 y las proteínas de muerte celular programada con su ligando, PD-1/PD-L1.

En cuanto al mecanismo de la vía de las moléculas PD-1/PD-L1, la unión directa de ésta proteínas inhibe el ataque de los linfocitos T asesinos a las células tumorales, lo que resulta en la coexistencia de éstas mismas; siendo esta unión también la responsable de la disminución de la producción de citocinas por las

células T, de la promoción de las células Treg y de la señal inhibitoria de las células dendríticas a las células T. Los efectos antitumorales de los inhibidores actúan en este punto descrito, promoviendo la respuesta inmune de las células T asesinas contra el tumor ^(1, 11). La expresión de PD-L1 es heterogénea en el carcinoma mamario; generalmente se asocia positivamente con la presencia de TILs y características clínico-patológicas de pobre pronóstico como son: presentación en edades tempranas, preferentemente al tipo ductal, de alto grado, mayor tamaño tumoral, receptores hormonales negativos/HER2+, índice de proliferación elevado y subtipos moleculares agresivos (triple negativo, basal, HER2+) ⁽¹⁾. En el estudio de Kitano A. et al., se hizo una correlación entre TILs y la expresión de PD-1/PD-L1 en carcinoma mamario; en el cual se encontró correlación significativa entre la expresión de PD-L1 con el alto grado tumoral, subtipo triple negativo y alcance de respuesta patológica completa ($p < 0.0001$) ⁽¹⁰⁾. De igual manera; se ha reportado que la expresión positiva de PD-L1 en pacientes con metástasis a ganglios linfáticos es más elevada que en aquellos sin metástasis, sugiriendo que este hecho puede relacionarse con la progresión del tumor y pudiera ser un biomarcador pronóstico en carcinoma mamario ⁽¹³⁾. No obstante; se requieren más estudios tanto para su validez como biomarcador y como para tratamiento blanco terapéutico en este tipo de carcinoma.

Importancia del estudio.

En nuestro país existe poca literatura respecto a la valoración tanto del infiltrado linfocítico tumoral como la expresión de moléculas reguladoras en este caso de PD-L1 en el carcinoma mamario. Existen revisiones en cuanto a los mecanismos inmunorreguladores en cáncer como el trabajo de García Romo et al., que abordan el desarrollo de la biología tumoral y su entendimiento. No obstante, con la necesidad del mejor conocimiento del comportamiento de neoplasias, su incremento de incidencia y mortalidad, así como el desarrollo de nuevas terapias con mayor eficacia y menos efectos secundarios, la reproducción de lo descrito a nivel mundial debe aplicarse en nuestra población, ya sea para la valoración de técnicas diagnósticas nuevas o el conocimiento de factores pronósticos extras al personal clínico para el adecuado diseño terapéutico de las pacientes.



JUSTIFICACIÓN.

El conocimiento de la biología tumoral respecto al papel de la respuesta inmune ha sido ampliamente estudiado, logrando entender el comportamiento y el desarrollo de terapias blanco en cáncer de mama y otros tumores, impactando en el tratamiento y pronóstico de los pacientes. En México, como en San Luis Potosí existen pocos estudios respecto a la valoración de infiltrado linfocítico tumoral y ligandos de moléculas de muerte celular en carcinoma mamario, por lo que es importante ya que puede impactar en el manejo de uno de los carcinomas más frecuentes en las mujeres mexicanas.



HIPÓTESIS.

Existe una asociación positiva entre la expresión del ligando de moléculas de muerte celular programada (PD-L1) y el porcentaje de infiltrado tumoral linfocítico en el carcinoma mamario.



OBJETIVOS.

Objetivo General

- Evaluar la expresión del ligando de moléculas de muerte celular (PD-L1) en células tumorales y el infiltrado linfocítico tumoral en pacientes con carcinoma mamario, sin tratamiento neoadyuvante previo.

Objetivo específico:

- Determinar la asociación de la expresión del ligando de proteínas de muerte celular (PD-L1) y el infiltrado linfocítico tumoral (TILs) en carcinoma mamario.

Objetivo secundario:

- Evaluar las características clínico-patológicas de la población estudiada.

SUJETOS Y MÉTODOS.

Para este estudio retrospectivo, transversal y descriptivo se analizaron los bloques de parafina con tejido mamario que pertenecen a mujeres mayores de 18 años con el diagnóstico de carcinoma mamario durante el periodo del 1 de enero del 2013 al 31 de diciembre del 2017 en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”; aplicando los siguientes criterios de selección:

- **Inclusión.**

- Todas las muestras en bloques de parafina que pertenecen a mujeres mayores de 18 años que tengan el diagnóstico histopatológico de carcinoma mamario entre los años 2013 al 2017 en especímenes como, lumpectomías, cuadrantectomías, escisión local o mastectomía, en el departamento de Anatomía Patológica.
- Todas las muestras en bloques de parafina que pertenecen a mujeres mayores de 18 años que tengan el diagnóstico histopatológico de carcinoma mamario sin haber recibido tratamiento neoadyuvante.

- **Exclusión.**

- Todas las muestras en bloques de parafina con especímenes mamaros que pertenecen a mujeres mayores de 18 años que tengan el diagnóstico histopatológico diferente a carcinoma mamario.
- Todas las muestras en bloques de parafina de mujeres mayores de 18 años que tengan el diagnóstico de carcinoma mamario en especímenes diferentes a glándula mamaria.
- Todas las muestras en bloques de parafina de mujeres mayores de 18 años con diagnóstico de carcinoma mamario que no se encuentren en el Departamento de Patología del hospital.

- **Eliminación.**

- Todas las muestras en bloque de parafina que pertenecen a mujeres mayores de 18 años con diagnóstico de carcinoma mamario; que no se encuentren en buen estado para su uso.

- Todas las muestras en bloque de parafina que pertenecen a mujeres mayores de 18 años con diagnóstico de carcinoma mamario; que tengan daño irreversible para su proceso.
- Todos aquellos bloques de parafina que pertenecen a mujeres mayores de 18 años con diagnóstico de carcinoma mamario; que al momento de proceso ya no se cuente con tejido para su análisis.

La valoración de PD-L1 (clona RBT-PDL1, Bio SB) se realizó por medio del estudio de inmunohistoquímica en el tejido de los bloques de parafina. La inmunoreacción se tomó como positiva al reunirse >1% de células tumorales con tinción membranar.

Variables en el estudio.

Variable Dependiente:

- Inmunoexpresión del ligando de moléculas de muerte celular programada (PD-L1)

Variable Independiente:

- Infiltrado linfocítico tumoral.

Variables de Control (confusoras):

- Edad.
- Tipo histológico.
- Grado histológico
- Clasificación molecular.
- Metástasis ganglionares.

Tabla 3: CUADRO DE VARIABLES.

Variable dependiente				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Ligando de moléculas de muerte celular programada (PD-L1)	Inmunoexpresión en membrana de células tumorales.	0 - 1	0=negativo 1=positivo	Categórica
Variable independiente				

Infiltrado linfocítico tumoral (TILs)	Infiltrado linfocítico localizado en el estroma entre las células tumorales sin estar en contacto directo con las mismas.	0-100	%	Continua
Variables de control (confusoras)				
Edad	Años cumplidos	>18	Años	Continua
Tipo histológico	Tomado de acuerdo con el College of American Pathologists	No aplica	No aplica	
Grado	Clasificación de Scarff-Bloom-Richardson (SBR)	Grados: 1 2 3	1 2 3	Ordinal
Clasificación molecular	Obtenido de acuerdo con la interpretación de los receptores hormonales y Her 2 Neu.	RE-/Her2+ RE+/Her2- RE+/Her2in RE+/Her2+ Triple negativo	No aplica	Categórica
Metástasis ganglionares	Presencia células tumorales en ganglios linfáticos. (incluye micrometástasis)	0 - 1	0=ausente 1=presente	Categórica



ÉTICA.

Investigación sin riesgo. Este estudio no representa riesgo para las pacientes ya que no son involucradas de manera directa, pues sólo se dispone del uso del material histopatológico, sin generar una intervención adicional inmediata. Los datos de los casos se manejan por medio del número institucional asignado al material, además del carácter confidencial con el que se maneja la información disponible y generada.

Después de la revisión de la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SSA3-2012 del Expediente Clínico y la Declaración de Helsinki se concluyó que no existe riesgo para las pacientes involucradas. Se anexa la carta de aprobación del Comité de Ética e Investigación (anexo 3).

RESULTADOS.

Características clínico patológicas generales.

Los casos evaluados correspondieron a 109 pacientes con el diagnóstico de carcinoma mamario, resultados que se resumen en la tabla 2. La edad promedio de las pacientes es de 53 años, con una variación desde 23 hasta 80 años. Solo uno de los casos perteneció a un hombre de 80 años con el diagnóstico de carcinoma de glándula mamaria mixto. El tipo histológico predominante de acuerdo a la clasificación de la OMS fue el carcinoma ductal de tipo no específico, reportado en 46/109 (42%), siguiendo en orden decreciente el tipo lobulillar en 22/109 (20%), otros (tipo específico) en 20/109 (18%), mixto en 19/109 (17.4%) y carcinoma ductal in situ en 2/109 (2%). En cuanto al grado, la mayoría de los casos fueron grado 2 con 55/109 (50%), le siguen los de grado 3 con 38/109 (35%) y por último los de grado 1 con 16/109 (15%) casos. Para su clasificación molecular se tomó en cuenta el perfil de expresión de los receptores hormonales y de la sobre expresión de la proteína Her 2 por estudio de inmunohistoquímica de cada uno de los casos. Se excluyeron 11 casos por no contar con reporte de inmunohistoquímica. Se reunieron así en 5 grupos: RE+/Her2- con 44/98 (45%) casos, triple negativo con 18/98 (19%) RE-/Her2+ con 15/98 (15%), RE+/Her2+ con 12/98 (12%) y RE+/Her2 indeterminado con 9/98 (9%). Por último, para la valoración de las metástasis, solo se dividieron en 2 grupos, con metástasis y sin metástasis, con 45/109 (42%) y 62/109 (58%), respectivamente.

Tabla 4. Características generales.

	TODOS (%)	PD-L1 positivos (%)	PD-L1 negativos (%)
Total	109	52 (48)	57 (52)
Edad promedio	53.6	52.8	54.4
Tipo histológico⁺⁺			
Ductal in situ	2 (2)	2 (4)	0
Ductal NOS	46 (42)	23 (44)	23 (40)
Lobulillar	22 (20)	10 (19)	12 (21)

Mixto	19 (18)	10 (19)	9 (16)
Otros (tipo específico)	20 (18)	7 (14)	13 (23)
Grado			
G1	16 (15)	7 (13)	9 (16)
G2	55 (50)	27 (52)	28 (49)
G3	38 (35)	18 (35)	20 (35)
Perfil molecular*			
RE-/Her2+	15 (15)	10 (66)	5 (34)
RE+/Her2-	44 (45)	19 (43)	25 (57)
RE+/Her2in	9 (9)	3 (33)	6 (67)
RE+/Her2+	12 (12)	6 (50)	6 (50)
Triple negativo	18 (19)	9 (50)	9 (50)
Metástasis**			
Ausentes	62 (58)	35 (56)	27 (44)
Presentes	45 (42)	17 (38)	28 (62)

*Se excluyeron 11 casos, se desconoce estatus hormonal y Her2.

**Se excluyeron 2 casos, se desconoce N.

++P=

Asociación dePD-L1 y el infiltrado linfocítico tumoral (TILs)

La expresión de PD-L1 fue evaluada en los 109 casos, de los cuales 52 mostraron expresión positiva. En un análisis cuantitativo de estos casos, el porcentaje promedio de infiltrado linfocítico tumoral en los casos PD-L1 positivos fue de 17.06%, con rangos variables desde 1% hasta 70% (DE de 17.83, $p=0.047$); mientras que en los casos PD-L1 negativos que fueron 57, el porcentaje de infiltrado linfocítico tumoral promedio fue menor, de 10.88% (DE 14.35, $p=0.047$).

	% TILs y PD-L1 positivos	%TILs y PD-L1 negativos
Promedio	17.06	10.88
Desv. Estándar	17.83	14.35
Mínimo	1	1
Máximo	70	60
Total (N)	52	57
Z =	1.982	
P =	0.047	

Tabla 5. Análisis cuantitativo de TILs respecto a la expresión de PD-L1.

En las recomendaciones para la estandarización de la evaluación del infiltrado linfocítico tumoral también se propone una valoración cualitativa del mismo, agrupando rangos de porcentaje en leve, moderado y severo ⁽¹⁵⁾. Haciendo un análisis desde este punto vista cualitativo propuesto (con una $p=0.005$), 78 casos muestran infiltrado linfocítico leve (0-19%) de los cuales 32 casos

fueron PD-L1 positivos (41.03%). Aquellos con infiltrado linfocítico moderado (20-40%) fueron 24, de los cuales 15 (62.5%) casos fueron PD-L1 positivos. Por último, al grupo de infiltrado linfocítico intenso (41-100%) pertenecen los 7 casos restantes, de los cuales 5 (71.4%) casos fueron PD-L1 positivos. En una división cualitativa simplificada del infiltrado linfocítico solamente como bajo (0-19%) y alto (>20%), se obtuvo que el 41% de los casos con TILs bajo es PD-L1 positivo y hasta en un 64.5% de los casos PD-L1 positivo tienen infiltrado linfocítico alto.

Tabla 6. Análisis cualitativo entre TILs y PD-L1.

1) Análisis cualitativo de TILs y PD-L1 en 3 grupos (p=0.005)				
% infiltrado	PD-L1		Total	% de positivos
	Positivo	Negativo		
0-19 (leve)	32	46	78	41.03
20-40 (moderado)	15	9	24	62.5
41-100 (intenso)	5	2	7	71.43
Total	52	57	109	47.71
2) Análisis cualitativo de TILs y PD-L1 en 2 grupos (p=0.03)				
0-19 (Bajo)	32	46	78	41.03
>20 (alto)	20	11	31	64.52
Total	52	57	109	47.71

PD-L1 y características clínico-patológicas.

Tipo histológico.

De los 52 casos PD-L1 positivos el tipo histológico más frecuente es el carcinoma ductal infiltrante de tipo no específico con 23/52 (44%), el carcinoma lobulillar y mixto tuvieron la misma frecuencia 10/52 (19%). Siete de 52 casos (14%) se clasificaron como otros (tipo específico), de los cuales dos fueron carcinomas medulares, dos micropapilares, un adenoideo quístico, un mucinoso y uno con fenotipo epidermoide.

Grado.

Los casos con carcinomas mamarios grado 1 fueron 7/52 (13%), aquellos con grado 2 fueron 27/52 (52%) y grado 3 los restantes 18/52 (35%).

Clasificación molecular.

De acuerdo a los 5 tipos de perfiles moleculares considerados, se observó lo siguiente entre los casos PD-L1 positivos y negativos (con un valor de $p=0.007$): de los 15 casos del grupo RE-/Her2+, 10 (66.67%) son PD-L1 positivos; de 44 casos RE+/Her2-, 19 (43.18%) son PD-L1 positivos; de 9 casos RE+/Her2 indeterminado, 3 (33.33%) son PD-L1 positivos; de 12 casos RE+/Her2+, 6 (50%) son PD-L1 positivos y de 18 casos triple negativo, 8 (50%) presentan PD-L1 positivo.

Tabla 7. Clasificación molecular y expresión de PD-L1

Clasificación molecular	PD-L1 positivos	PD-L1 negativos	Total	% de PD-L1 positivos
RE-/Her2+	10	5	15	66.67
RE+/Her2-	19	25	44	43.18
RE+/Her2 in	3	6	9	33.33
RE+/Her2+	6	6	12	50
Triple negativo	9	9	18	50
Total	47	51	98	47.96
P = 0.0007				

Metástasis.

En cuanto a la presentación de metástasis, en los casos con PD-L1 positivos éstas estuvieron presentes en solo 17/52 casos, el 32.7% solamente. Los 35 casos restantes no las presentaron y del total de los 109 casos se excluyeron 2 por desconocimiento de las mismas.

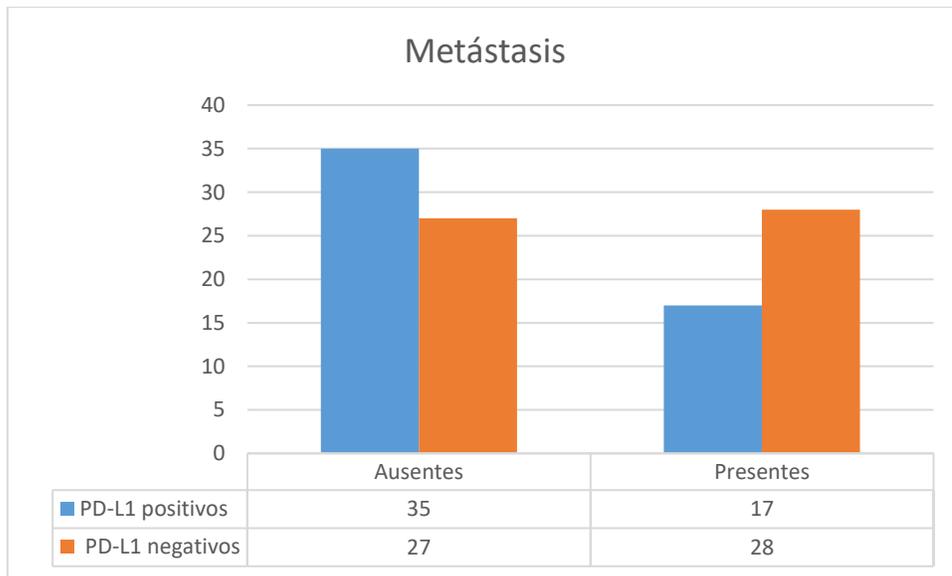


Figura 3 Gráfica de metástasis en relación a PD-L1

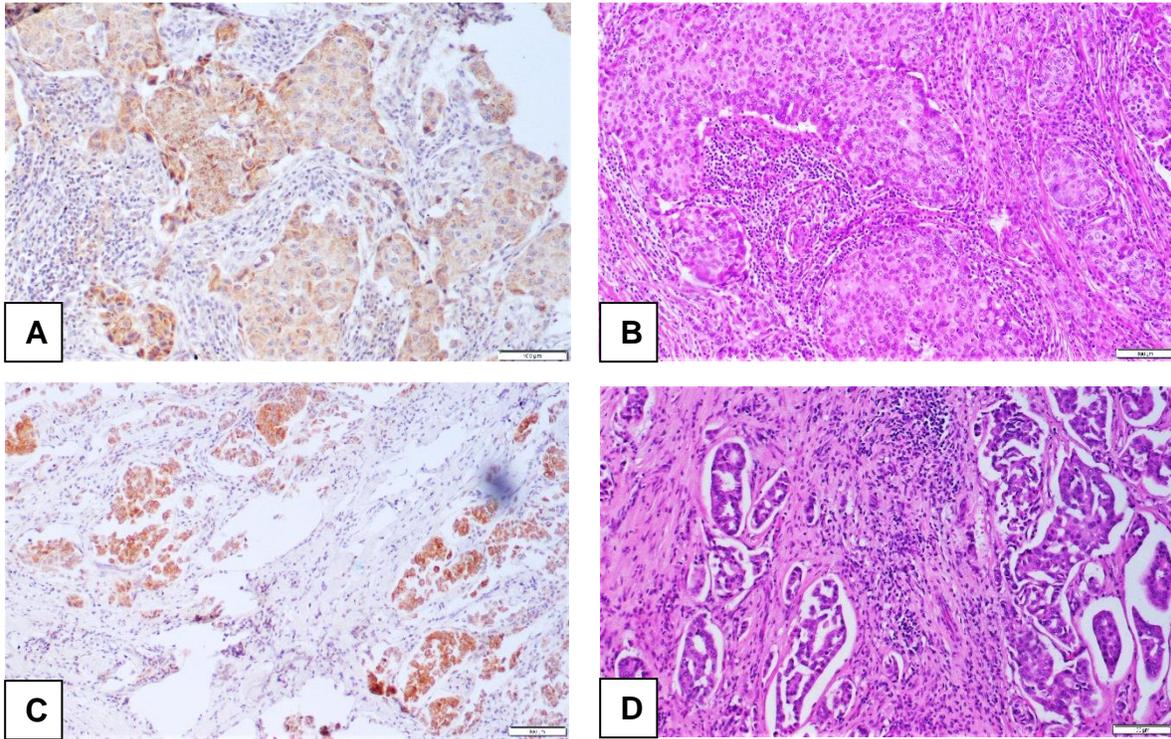


Figura 4. A y B Carcinoma ductal infiltrante, grado 3. Inmunorreacción positiva para PD-L1(A) y tinción de H&E (B) donde se puede observar el infiltrado linfocítico tumoral que se valoró como intenso (60%). La clasificación molecular es RE-/Her2+. C y D. Carcinoma ductal infiltrante, grado 1. Inmunorreacción positiva para PD-L1 (C) y tinción de H&E (D), con infiltrado linfocítico tumoral moderado (30%). Su clasificación molecular fue RE+/Her2-.

DISCUSIÓN.

EL papel del sistema inmune, el concepto de microambiente tumoral y la inmunoterapia han tomado relevancia en diferentes tipos de carcinoma, lo que ha permitido el desarrollo de tratamientos incluso más personalizados. En cuanto al carcinoma mamario se han investigado estos mismos factores, los mecanismos inmunorreguladores y el microambiente tumoral con énfasis en el infiltrado linfocítico, que es un parámetro incluso evaluado en la respuesta a quimioterapia habitual, así como el análisis de nuevas moléculas para lograr terapéuticas alternativas (1, 4, 9, 10, 15).

La literatura disponible respalda ampliamente el papel del infiltrado linfocítico tumoral como un biomarcador con validez y utilidad clínica, así como con validez analítica (17). La asociación entre el infiltrado linfocítico tumoral y PD-L1 está dado por la expresión de este último en las células tumorales y la interacción con su ligando (PD-1) en linfocitos, la cual permite a la célula tumoral evadir la respuesta inmune (11). Kitano et al., así como Dill et al., en sus trabajos con PD-L1 reportan que los tumores positivos a éste tienen características histopatológicas como alto grado, TILs alto, subtipos triples negativo o Her2 positivo, respuesta patológica completa a tratamiento y p53 positivo (10, 18). En nuestro trabajo encontramos que, aunque los casos de infiltrado linfocítico moderado a intenso sean menos frecuentes, la mayoría presentan expresión de PD-L1 y por lo tanto existe una asociación entre ambas variables ($p=0.005$, $C_{\text{Cramér}}=0.3$). Aún en una división cualitativa más simple como dividir los casos en aquellos con infiltrado linfocítico tumoral bajo (0-19%) o alto (20-100%), se observa que el 41% de los casos con poco infiltrado inflamatorio presentan positividad para PD-L1, a diferencia de los casos con infiltrado inflamatorio alto que muestran que hasta un 64.52% son positivos para PD-L1.

Respecto al perfil molecular, en la literatura la expresión reportada de PD-L1 en células tumorales está relacionada con perfiles como los triple negativo o solo Her2 positivo (10, 11, 18, 19). En nuestro análisis reportamos hallazgos similares, con expresión mayor de PD-L1 en carcinomas RE-/Her2+ (Her2 puros) y en segundo lugar los triples negativos, concordando así con los demás autores. Sin embargo,



reportamos presencia de PD-L1 con frecuencia considerable en carcinomas tipo luminal A, que no es tan común comparado con lo reportado en la literatura, incluso se encontraron dos casos de carcinoma in situ con PD-L1 positivo, que es más raro aún.

Cabe mencionar que uno de los problemas fue la heterogeneidad de PD-L1, también reportada por autores como Dill et al ⁽¹⁸⁾. Lo anterior nos lleva a observar también que entre las causas de esta variabilidad están el que no existen parámetros bien establecidos de la valoración de PD-L1 en carcinoma mamario a diferencia de otros carcinomas como lo es pulmón y que lo conocido en este último se ha extrapolado al de tipo mamario y otros. Por lo que el campo de investigación aún es amplio para estas moléculas que tienen la ventaja de tener dianas terapéuticas.



LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.

En cuanto a líneas de investigación nuestro trabajo aporta información sobre el uso de nuevos marcadores, en este caso PD-L1, para la valoración tanto de la selección de pacientes para nuevos tratamientos de segunda línea como del seguimiento de los mismos. Sin embargo, una de las posibles limitantes detectada durante nuestro trabajo fue que aún falta por establecer los parámetros para la valoración de PD-L1 en carcinoma mamario concretamente. Aún así el campo para el estudio de la utilidad del marcador es amplio y puede aplicarse más selectivamente a sólo ciertos subtipos de carcinoma mamario en estudios futuros.

CONCLUSIONES.

El carcinoma mamario continúa siendo uno de los principales padecimientos oncológicos que afecta a miles de mujeres en nuestro país. A pesar de estrategias de prevención, detección y de diagnóstico un porcentaje importante se diagnostica en estadios avanzados. Otro grupo de pacientes a pesar de un tratamiento incluso con terapias blanco anti-Her2, tendrá recaídas por el hecho de portar una forma agresiva de este carcinoma (tipo basaloide, triple negativo o Her2 puro). Nuestra investigación se suma a las ya existentes enfocándonos en encontrar precisamente alternativas de tratamiento de segunda línea para estos tipos agresivos de carcinoma, así como herramientas para valorar si son pacientes candidatas a las mismas y su efectividad, como lo demuestra la valoración del estatus de infiltrado linfocítico y la respuesta a quimioterapia o a los agentes anti-PD-L1.

Nuestro trabajo demostró que sí existe la asociación del infiltrado y la expresión de PD-L1 en células tumorales, así como la asociación con ciertas características del perfil molecular en esta parte de la población de mujeres mexicanas. El estatus del infiltrado linfocítico tumoral previo podría ayudar a la selección de pacientes para el tratamiento a terapias anti-PD-L1 como segunda línea y a su posterior seguimiento. Sin embargo, se deben realizar más estudios prospectivos en pacientes con tipos específicos de carcinoma.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Bertucci F, Goncalves A. Immunotherapy in Breast Cancer: the Emerging Role of PD-1 and PD-L1. *Curr Oncol Rep* (2017) 119:64. DOI: 10.1007/s11912-017-0627-0.
2. Cárdenas J, Bargalló LE, Bautista PV, et al. Consenso Mexicano Sobre Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer Mamario. Séptima revisión, Colima 2017. Ed. Masson Doyma México. S. A.
3. Deepak M. et al. New insights into cancer immunoediting and its three component phases – elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol*. Author manuscript; available in PMC 2015, April 07.
4. García GS, García KG, Días A, Reyes D, Pedroza A. Principales mecanismos inmunorreguladores que favorecen el desarrollo del cáncer de mama. *Gac Med Mex*. 2017; 153:129-37.
5. GLOBOCAN 2018. All Cancer Facts Sheet. The Global Cancer Observatory. WHO International Agency for Research on Cancer, 2018.
6. GLOBOCAN 2018. Breast facts sheet. The Global Cancer Observatory. WHO International Agency for Research on Cancer, 2018.
7. GLOBOCAN 2018. México facts sheet. The Global Cancer Observatory. WHO International Agency for Research on Cancer, 2018.
8. Hicks DG, Lester SC, Eds. *Diagnostic Pathology: Breast*. Second edition, Salt Lake City, UT: Elsevier, inc, 2016
9. Kassardjian A, Shintaku PI, Moatamed NA. Expression of immune checkpoint regulators, cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) and programmed death-ligand 1 (PD-L1), in female breast carcinomas. *PLoS ONE* 13 (4):e0195958, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195958>.
10. Kitano A, Ono M, Yoshida M, et al. Tumors-infiltrating lymphocytes are correlated with higher expression levels of PD-1 and PD-L1 in early breast cancer. *ESMO open* 2017; 2e000150. doi: 10.1136/esmoopen-2016-000150.
11. (Sasagu) Kurozumi S, Fujii T, Matsumoto H, et al. Significance of evaluating tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) and programmed cell death-ligand 1

- (PD-L1) expression in breast cancer. *Med Mol Morphol* doi:10.1007/s00795-017-0170-y.
12. Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tap PH, Van de Vijver MJ, Eds. WHO Classification of Tumors of the Breast. IARC Lyon 2012.
 13. Li F, Ren Y, Wang Z. Programmed death 1 Ligand 1 expression in breast cancer and its association with patient's clinical parameters. *J Can Res Ther* 2018; 14:150-4.
 14. Pruneri G, Vingiani A, Denkert C. Tumor infiltrating lymphocytes in early breast cancer. *The Breast*, Elsevier, 37 (2018)207-214, <http://dx.doi.org/10.1016/j.breast.2017.03.010>.
 15. Salgado R, Denkert C, Demaria S, et al. Harmonization of the evaluation of tumor infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: Recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Annals of Oncology Advance Acces* published September 11, 2014.
 16. Sherene Loi Tumor-infiltrating lymphocytes, breast cancer subtypes and therapeutic efficacy. *Oncoimmunology* 2:7, e24720; July 2013; *Lands Bioscience*.
 17. Wein L, Savas P, Luen SJ, Virassamy B, Salgado R, Loi S Clinical Validity and Utility of Tumor-infiltrating Lymphocytes in Routine Clinical Practice for Breast Cancer Patients: Current and Future Directions. *Front Oncol* 7:156, 2017. Doi: 10.3389/fonc.2017.00156.
 18. Dill EA. Et al. PD-L1 expresión and intratumoral heterogeneity across breast cancer subtype and stages. *Am J Surg Pathol* 2017;41: 334-342
 19. Gatalica et al. Programmed Cell Death 1(PD-1 and Its Ligand (PD-L1) in Common Cancers and Their Correlation with Molecular Cancer Type. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 23(12) December 2014.

ANEXOS

Anexo 1. Base de datos.

Caso	numero de quirurgico	Edad	Especimen	Tipo histológico	Grado	T(cm)	N	Clasificación molecular	TILS (%)	PD-L1
1	13-729	58	RBL	Carcinoma ductal infiltrante, con diferenciación apocrina	2	0	1	RH+/Her2+	40	0
2	12-13870	71	MRM	Carcinoma ductal infiltrante	2	2	1	RH+/Her2+	10	0
4	13-485	83	EL	Carcinoma adenoideo quístico	1	2.5	0		5	0
3	13-7979	50	RBL	Carcinoma lobulillar clásico y tubulolobular	2	0	1	RH+/Her2-	30	0
6	15-749	48	MRM	Carcinoma ductal infiltrante	2	1.5	0	RH-/Her2+	40	1
7	15-1104	46	EL	Carcinoma ductal infiltrante poco diferenciado	3	2	1	Triple negativo	2	0
8	15-1340	58	EL	Carcinoma ductal infiltrante	1	2	1	RH+/Her2-	2	0
9	15-835	34	EL	Carcinoma lobulillar infiltrante clásico y pleomórfico	3	2.5	1	RH+/Her2-	5	0
10	15-5280	30	EL	Carcinoma ductal moderadamente diferenciado, invasor	2	0	0	Triple negativo	10	1
11	15-2529	68	EL	Carcinoma cribiforme invasor	1	1.2	1	RH+/Her2-	15	0
14	15-828	67	EL	Carcinoma ductal mixto: ductal infiltrante pleomórfico, lobulillar infiltrante pleomórfico	3	3	0	RH+/Her2-	5	0
15	15-2206	65	EL	Carcinoma ductal infiltrante tubular/cribiforme	2	1	0	RH+/Her2-	5	0
16	15-2317	57	EL	Carcinoma ductal infiltrante	2	2.5	0	RH+/Her2	2	0
17	15-554	53	EL	Carcinoma mixto lobulillar infiltrante histiocitoide y ductal infiltrante	2	1	0	RH-/Her2+	20	1
18	15-2517	49	EL	Carcinoma ductal infiltrante	2	4	0	RH-/Her2+	40	0
20	14-342	54	MRS	Carcinoma lobulillar clásico, sólido e histiocitoide	3	1.9	0	RH+/Her2-	30	0
21	13-8237	44	MRM	Carcinoma ductal infiltrante	1	1.5	0	RH+/Her2-	5	1
22	14-5660	51	EL	Carcinoma lobulillar infiltrante clásico	1	1.6	0	RH+/Her2-	1	1

23	14-1422	63	MRM	Carcinoma mixto, ductal infiltrante y lobulillar infiltrante	2	3	0	RH+/Her2-	10	1
24	14-5841	36	MRM	Carcinoma mixto, ductal infiltrante y lobulillar infiltrante	2	1.5	1	RE+,RP- /Her2 in	5	1
25	14-3093	38	EL	Carcinoma ductal cribiforme	1	0.2	1	RH+/Her2-	50	1
27	14-1994	45	MRM	Carcinoma lobulillar infiltrante clásico	2	1.8	1	RH+/Her2-	5	0
32	14-655	55	MR	Carcinoma ductal infiltrante	2	3	0	RH-/Her2+	60	0
34	14-290	69	EL	Carcinoma medular	3	5	0	RH-/Her2+	20	1
36	13-4591	52	MRM	Carcinoma ductal infiltrante	2	2.5	1	RE+,RP- /Her2-	30	0
37	13-6247	59	MRM	Carcinoma lobulillar pleomórfico	3	3	1	RH+/Her2in	15	0
39	14-5035	72	MRM	Carcinoma mixto, ductal moderadamente diferenciado y lobulillar clásico	2	4	1	RH+/Her2-	2	1
41	13-3949	32	MR	Carcinoma mucinoso	1	9	0	RH+/Her2-	1	0
43	13-4404	35	MRM	Carcinoma lobulillar infiltrante, alveolar y tubuloalveolar	2	5	0	RH+/Her2+	10	1
46	13-5329	61	EL	Carcinoma ductal de alto grado	3	1.5	1	RH+/Her2in	2	0
47	13-4668	47	EL	Carcinoma ductal infiltrante	2	1.5	0	RH+/Her2-	5	0
48	13-5096	78	EL	Carcinoma ductal infiltrante	2	0.9	0	RH+/Her2-	5	0
49	13-5196	36	EL	Carcinoma ductal infiltrante	3	3	0		2	0
52	15-481	65	RBL	Carcinoma ductal infiltrante poco diferenciado	3	0	0	RE+,RP- /Her2in	10	1
54	15-0130	36	EL	Carcinoma mixto, lobulillar pleomórfico y ductal	2	1.2	1	RH+/Her2-	10	0
57	13-2035	43	MR	Carcinoma lobulillar infiltrante clásico	2	1.5	1	RE+,RP- /Her2-	1	1
58	13-7459	41	MRM	Carcinoma micropapilar invasor	3	1.5	0	RE+,RP- /Her2-	1	0
60	14-6287	37	MRM	Carcinoma ductal infiltrante	2	1	1	RE+,RP- /Her2in	10	0
63	14-5005	80	EL	Carcinoma lobulillar infiltrante clásico y tubulolobular, carcinoma ductal infiltrante	1	1.4	1	RE+,RP- /Her2+	1	0

64	14-3332	65 MRM	Carcinoma cribiforme invasor y áreas de ductal infiltrante bien diferenciado	2	3	1	RH+/Her2-	5	0
66	14-5696	41 MRM	Carcinoma ductal infiltrante multicéntrico	3	6	1	RE+,RP- /HER2-	1	0
67	14-103	64 MRM	Carcinoma ductal infiltrante	3	3.71			1	0
68	14-31	39 MRM	Carcinoma ductal infiltrante	3	3.50		Triple negativo	20	1
69	14-2763	63 MRM	Carcinoma mixto, carcinoma ductal infiltrante G1 y lobulillar infiltrante e in situ	1	3	0	RH+/Her2in	2	0
70	14-5169	42 MRM	Carcinoma ductal infiltrante y micropapilar focal, multicentrico,	3	6	1	RH+/Her2-	4	0
71	14-2569	47 EL	Carcinoma tubular	1	1.50			5	0
72	13-8102	39 MRM	carcinoma lobulillar infiltrante solido, alverolar y pleomorfico	3	4	1		2	0
73	13-6308	71 MRM	Carcinoma papilar invasor, asociado a papilomatosis	2	1.50		Triple negativo	1	0
74	13-7257	65 MRM	Carcinoma papilar invasor, asociado a papilomatosis	2	1.50		Triple negativo	1	0
75	13-6505	84 MRM	Carcinoma lobulillar infiltrante histiocitoide e in situ	2	4	0		2	1
77	14-3771	74 MS	Carcinoma lobulillar infiltrante clásico	2	4	1	RH+/Her2-	15	1
78	13-2593	45 EL	Carcinoma lobulillar infiltrante, tubulo lobular	2	1.7-		RH+/Her2in	5	0
79	13-5392	45 MRM	Carcinoma mixto, ductal infiltrante G2, lobulillar infiltrante	2	3	0	RH+/Her2-	2	0
80	13-5637	60 MRM	Carcinoma ductal infiltrante, G2, CDIS comedo	2	3.50		RH-/Her2+	3	0
81	13-6087	56 MRM	Carcinoma mixto, ductal infiltrante G3, lobulillar infiltrante	3	2	1	RH+/Her2in	1	1
82	13-6755	66 MRM	Carcinoma ductal infiltrante G2	2	3	1	RH+/Her2+	1	0
83	13-3934	69 MS	Carcinoma lobulillar convencional y tubulo lobular	2	1.50		RH+/Her2-	5	1
85	17-4551	44 MRM	Carcinoma ductal infiltrante	3	4.81		Triple negativo	10	0
86	17-4534	60 EL	Carcinoma ductal infiltrante	3	2.50		RH-/Her2+	40	0
87	17-4466	65 BxEsc	Carcinoma ductal in situ de alto grado	3	0	0	RH+/Her2+	10	1
88	17-7118	53 MS	Carcinoma ductal infiltrante	3	4	0	RH-/Her2+	30	1
89	15-1164	48 RBL/MRM	Carcinoma ductal infiltrante	2	0	0	RE+,RP- /her2-	5	1

90	14-7376	49 EL	Carcinoma lobulillar infiltrante clásico y pleomorfo	3	2	1		1	0
92	15-2064	56 EL	Carcinoma ductal infiltrante	2	3	1	Triple negativo	10	0
95	17-1165	58 MRM	Carcinoma ductal	3	3.5	1		2	1
97	17-0889	43 MRM	Carcinoma ductal infiltrante multifocal	2	0	1	RE-,RP+/Her2-	1	1
98	17-0766	66 EL	Carcinoma ductal infiltrante	2	1.5	0	Triple negativo	40	1
99	17-0720	49 RBL	Carcinoma ductal infiltrante	2	0	0	Rh+/Her2-	1	1
100	17-0683	44 EL	Carcinoma mucinoso con foco de carcinoma ductal micropapilar	2	2	0	RH+/Her2-	2	1
101	17-0652	66 MRM	Carcinoma ductal infiltrante	3	7.5	1		10	1
102	17-0551	50 EL	Carcinoma lobulillar infiltrante clásico	2	4	0	RE+,PR-/Her2in	30	0
103	17-0089	38 RBL/MRM	Carcinoma ductal infiltrante micropapilar	2	0	1	RE-RP+/her2+	20	1
105	17-0511	78 RBL	Carcinoma mixto, carcinoma ductal infiltrante y lobulillar pleomórfico	2	0	0	RH+/Her2+	40	1
106	17-0503	60 EL	Carcinoma ductal infiltrante con componente micropapilar	1	3.2	0	RH+/Her2+	4	1
107	17-0396	35 MRM	Carcinoma mixto, carcinoma ductal infiltrante y lobulillar infiltrante	2	2.5	0	RH+/Her2+	2	1
108	17-0387	59 EL	Carcinoma mixto, carcinoma ductal infiltrante tipo comedo y lobulillar infiltrante tubulolobular	2	3.5	1	RH+/Her2-	10	0
109	17-0295	66 EL	Carcinoma ductal infiltrante	1	5	1	RH+/Her2-	5	0
110	17-0230	69 EL	Carcinoma papilar infiltrante	2	1	0	RH+/Her2-	2	0
111	17-0196	48 RBL	Carcinoma ductal infiltrante con componente apocrino	2	0	0	RH-/Her2+	5	0
113	17-1504	55 MRM	Carcinoma lobulillar pleomórfico	3	5	0	Triple negativo	4	0
114	17-1403	30 EL	Carcinoma mixto, carcinoma ductal de alto grado y lobulillar pleomórfico	3	4	0	Triple negativo	30	0
115	17-1386	46 MRM	Carcinoma mixto, carcinoma ductal G2 y lobulillar pleomórfico	2	3	1	RH+/her2-	20	0
116	17-1266	41 EL	Carcinoma ductal infiltrante	2	4	0		2	1
117	17-2000	42 MS	Carcinoma ductal infiltrante papilar y cribiforme	2	5.6	0	RH-/Her2+	10	1
120	17-1966	50 MRM	Carcinoma ductal infiltrante alto grado	3	2.5	0	RH-/Her2+	60	1

122 17-1604	64	MRM	Carcinoma ductal infiltrante alto grado	3	3	1	Triple negativo	60	0
123 17-1576	45	MRM	Carcinoma lobulillar infiltrante pleomórfico	3	4.8	1	RH+/Her2-	5	0
124 17-1561	58	EL	Carcinoma ductal infiltrante	1	0.5	0	RE+,RP- /Her2-	4	0
125 17-4385	38	MRM	Carcinoma invasor poco diferenciado con fenotipo epidermoide	3	3	0	RH-/Her2+	20	1
126 17-3784	34	EL	Carcinoma ductal infiltrante alto grado clásico y adenoideo quístico	3	2.9	1	RH+/Her2-	3	1
127 17-3773	52	MRM	Carcinoma mixto lobulillar infiltrante y ductal infiltrante	3	4		RH+/Her2+	2	0
128 17-2971	64	EL	Carcinoma ductal infiltrante	1	1.7	1	RE+,RP- /Her2-	30	1
129 17-2747	56	MRM	Carcinoma ductal infiltrante	2	4	0	Triple negativo	10	0
131 17-2205	46	MRM	Carcinoma ductal infiltrante	2	3.2	1		25	1
134 16-5576	56	EL	Carcinoma ductal infiltrante alto grado	3	2.7	0	Triple negativo	70	1
135 16-5051	76	EL	Carcinoma lobulillar infiltrante, clásico	2	1.1	0	RE+,RP- /Her2-	20	1
138 16-6141	61	EL	Carcinoma lobulillar infiltrante clásico	2	3	0	RE+,RP- /Her2+	1	0
139 17-2961	71	MRM	Carcinoma lobulillar alveolar	2	5.5	0	RE+,RP- /Her2-	1	1
140 16-6113	61	EL	Carcinoma ductal infiltrante	1	1	0	Triple negativo	1	1
141 16-6058	66	RBL	Carcinoma lobulillar histiocitoide	3	0	0	RE+/RP- /Her2-	30	1
142 16-6030	23	RBL	Carcinoma lobulillar infiltrante clásico con infiltración cutánea	2	0	0	RH-/Her2+	10	1
143 16-5789	52	MRM	Carcinoma ductal infiltrante	2	3	1	RE- ,EP+/Her2-	40	1
144 16-5708	55	MRM	Carcinoma ductal infiltrante	2	2.5	0	RH-/Her2+	50	1
145 16-6839	46	EL	Carcinoma in situ de bajo grado	1	4	0	RH+/Her2-	1	1
148 16-6336	63	MRM	Carcinoma mixto, ductal infiltrante G3, lobulillar infiltrante	3	3.5	1	RH+/Her2-	60	1
149 16-6285	58	RBL	Carcinoma mixto, ductal infiltrante G3 y lobulillar pleomórfico	3	0	0	RH+/Her2+	5	1
150 16-6283	57	EL	Carcinoma ductal de alto grado	3	1.7	1	Triple negativo	15	1
151 16-6249	48	MRM	Carcinoma ductal infiltrante, medular atípico G3, post quimio	3	14.5	1	Triple negativo	10	1
155 14-0040	28	RBL	Carcinoma mixto, ductal infiltrante grado 3, lobulillar infiltrante histiocitoide	3	3	0	RH+/Her2-	30	1



ANEXO 2. Aprobación y registro COFEPRIS.



HOSPITAL CENTRAL
"DR. IGNACIO
MORONES PRIETO"

San Luis Potosí, S.L.P., a 19 de diciembre de 2018

Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil, Investigador principal
Dra. Karen Selene Abonce Villagómez, Tesista
PRESENTE.-

Por este medio se le comunica que su protocolo de investigación titulado "Asociación del infiltrado linfocítico tumoral (TILs) y expresión del ligando de moléculas de muerte celular programada (PD-L1) en pacientes con carcinoma de mama del Hospital Central Ignacio Morones Prieto", fue evaluado por el Comité de Investigación, con Registro en COFEPRIS 17 CI 24 028 093, así como por el Comité de Ética en Investigación de esta Institución con Registro CONBIOETICA-24-CEI-001-20160427, y fue dictaminado como:

APROBADO

El número de registro es **101-18**, el cual deberá agregar a la documentación subsecuente, que presente a ambos comités.

La vigencia de ejecución de este protocolo es por 1 año a partir de la fecha de emisión de este oficio, de igual forma pido sea tan amable de comunicar a los Comités de Investigación y de Ética en Investigación: la fecha de inicio de su proyecto, la evolución y el informe técnico final.

*Se le recuerda que todos los pacientes que participen en el estudio deben firmar la versión sellada del formato de consentimiento informado.

Atentamente


Dra. Ma. Del Pilar Fonseca Leal
Sub-Directora de Educación e Investigación en Salud
Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"



C.C.P. Archivo



ANEXO 3. Aprobación por Comité de Ética en Investigación.



HOSPITAL CENTRAL
"DR. IGNACIO
MORONES PRIETO"

San Luis Potosí, S.L.P., a 19 de diciembre del 2018

Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil, Investigador principal.
Dra. Karen Selene Abonce Villagómez, RAP. Tesista.
Departamento de Anatomía Patológica.
Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"
PRESENTE.

Estimado Investigador:

Por este conducto se le comunica que el protocolo de investigación titulado: "**Asociación del infiltrado linfocítico tumoral (TILs) y expresión del ligando de moléculas de muerte celular programada (PD-L1) en pacientes con carcinoma de mama del Hospital Central Ignacio Morones Prieto**", fue evaluado por el Comité de Ética en Investigación de esta Institución, con registro CONBIOETICA-24-CEI-001-20160427. El dictamen para este protocolo fue el siguiente:

APROBADO

El Comité de Ética en Investigación autoriza la vigencia de ejecución de este protocolo por 365 días naturales a partir de la fecha de emisión de este oficio de dictamen.

El investigador principal deberá comunicar a este Comité la fecha de inicio y término del proyecto, y presentar el informe final correspondiente. Asimismo, el Comité de Ética e Investigación podrá solicitar información al investigador principal referente al avance del protocolo en el momento que considere pertinente.

Atentamente,

Emmanuel Rivera L.
Dr. Emmanuel Rivera López
Presidente del Comité de Ética en Investigación
Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"



c.c.p. Archivo, Subdirección de Educación e Investigación, Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"

ANEXO 4. Carta compromiso de confidencialidad de datos.



HOSPITAL CENTRAL
DR. IGNACIO MORONES PRIETO

CARTA COMPROMISO DE CONFIDENCIALIDAD DE DATOS.

Dr. Francisco Alcocer Gouyonnet.

Director General

Presente.

Dr. Cuauhtémoc Oros Ovalle.

Jefe del departamento de Anatomía Patológica, Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto".

Hace constar:

- Que se realizará el protocolo de investigación titulado "Asociación del infiltrado linfocítico tumoral (TIL's) y expresión del ligando de moléculas de muerte celular (PD-L1) en pacientes con carcinoma de mama del Hospital Central Ignacio Morones Prieto" utilizando muestras biológicas procedentes del material archivado en banco de tejidos siguiendo lo establecido en el Proyecto de investigación autorizado por la Comisión de Investigación y Ética del Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto.
- Que se compromete a mantener una estricta confidencialidad de los datos personales procedentes de dichas muestras.
- Los resultados obtenidos de dicho Proyecto de Investigación podrán ser divulgados en congresos, reuniones y publicaciones científicas salvaguardando siempre la confidencialidad de los datos personales.
- Que dicho estudio se llevará a cabo contando con la colaboración de los doctores Mary Carmen Gutiérrez Gil y Héctor Hernández, como investigadores colaboradores.

San Luis Potosí, S. L. P., 6 de diciembre del 2018.



Dra. Karen Selene Abonce Villagómez.

Tesista.

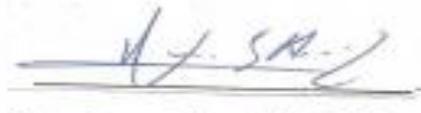


Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil.

Dir. De tesis/Investigador Principal.



Dr. Cuauhtémoc Oros Ovalle.
Jefe del Dpto. de Anatomía Patológica



Héctor Gerardo Hernández Rodríguez

Co-Investigador/Asesor metodológico



ANEXO 5. Carta de Exención de Consentimiento Informado.



Carta de Exención de Consentimiento Informado para la Realización de Protocolo de Investigación:

Conforme a lo referido por las pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud con seres humanos; elaboradas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) en colaboración con la Organización Mundial de la Salud (OMS); (2017:41). Así como en la Norma Oficial Mexicana; NOM-012-SSA3-2012 en el punto 11.3; se hace de su conocimiento que no se requerirá de carta de consentimiento informado, ya que:

- No se trabajará en ningún momento con seres humanos en forma directa.
- El diseño del estudio no implica riesgos para los participantes ya que se trabajará solo con bloques de parafina y laminillas.
- La investigación tiene un alto valor social.
- Se trata de un estudio retrospectivo y abarca un periodo de cinco años (01 de enero de 2002 a 31 de diciembre de 2016) por lo cual resulta prácticamente imposible recoger los consentimientos informados de todos los sujetos del estudio; y la obtención del requisito de consentimiento individual haría impracticable la realización del estudio.

Se seguirá en forma estricta la metodología y buenas prácticas que marca el manual de bioseguridad del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto".



FACULTAD DE
MEDICINA

Av. Venustiano Carranza 2405
CP 78210 - San Luis Potosí, S.L.P.
tel. (444) 826 2344 al 49
tel. Dirección (444) 826 2350
fax (444) 826 2352
www.uaslp.mx


Dra. Karen Selene Abonce Villagómez
Tesisista.


Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil.
Responsable del proyecto de tesis.



ANEXO 6. Carta de No Plagio.

06 diciembre 2019

**M. C. MA. DEL PILAR FONSECA LEAL
JEFA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO CLÍNICO
P R E S E N T E.-**

La residente y responsable de la tesis **“Asociación del infiltrado linfocítico tumoral (TILs) y la expresión de moléculas de muerte celular programada (PD-L1) en pacientes con carcinoma de mama del Hospital Central Ignacio Morones Prieto”** Dra. Karen Selene Abonce Villagómez; la directora de Tesis Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil y el asesor metodológico Dr. Héctor Gerardo Hernández Rodríguez

Manifestamos que:

El trabajo de investigación para culminación y obtención del título en Anatomía Patológica es original, no ha sido utilizado previamente como tesis ni ha sido publicado en ningún medio de forma digital ni impresa. No se emplearon ideas, citas integrales e ilustraciones de obras, tesis, artículo, memoria, etc., (en versión digital o impresa).

Si se hizo uso de información, ya sea contenida en medios impresos y/o digitales se referencia autor y origen de la información.



En este sentido, soy (somos) consciente(s) de que el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, son objeto de sanciones universitarias y/o legales.

Asumimos la responsabilidad de la consecuencia en el incumplimiento de lo arriba manifestado:

ATENTAMENTE.

Directora de tesis: Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil.

Firma

Asesor metodológico: Dr. Héctor Gerardo Hernández Rodríguez

Firma:

Tesista: Dra. Karen Selene Abonce Villagómez:

Firma: