



MÁSTER  
UNIVERSITARIO EN  
INVESTIGACIÓN  
EN MEDICINA  
CLÍNICA



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

## TRABAJO FIN DE MÁSTER

EXPRESION DE PDL-1 EN MUESTRAS NEOPLASICAS OBTENIDAS

POR ULTRASONOGRAFÍA EBUS-TBNA

**Alumno: Laura Torralba García**

**Tutor: Luis Manuel Hernández Blasco**

Curso: Master Investigación en Medicina Clínica

# ÍNDICE

1. <a href="#">Resumen / Palabras Clave</a> .....	página 3
2. <a href="#">Abstract /Keywords</a> .....	página 4
3. <a href="#">Introducción</a> .....	página 5
4. <a href="#">Hipótesis</a> .....	página 6
5. <a href="#">Objetivos</a> .....	página 7
6. <a href="#">Metodología</a> .....	páginas 8
7. <a href="#">Plan de trabajo</a> .....	página 10
8. <a href="#">Resultados</a> .....	página 11
9. <a href="#">Discusión</a> .....	página 15
10. <a href="#">Consideraciones finales y conclusión</a> .....	página 19
11. <a href="#">Aspectos éticos</a> .....	página 21
12. <a href="#">Bibliografía</a> .....	página 22

## 1. RESUMEN / PALABRAS CLAVE

Introducción: una de las inmunoterapias utilizadas contra cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) son los anticuerpos monoclonales contra PD-L1. La expresión tumoral de PD-L1 es heterogénea. Los estudios que aprueban terapias anti PD-L1 requieren biopsias, en ocasiones difíciles de obtener. La ultrasonografía endobronquial con punción-aspiración (EBUS-TBNA) ha demostrado fiabilidad en diagnóstico y estadificación de cáncer pulmonar. Sin embargo, existe escasa evidencia sobre utilidad en determinar PD-L1. El objetivo fue analizar la capacidad de muestras obtenidas por EBUS-TBNA para identificar expresión de PD-L1.

Material y métodos: se evalúa la expresión de PD-L1 en bloque celular obtenido por ultrasonografía endobronquial (EBUS-TBNA) en 76 pacientes en el Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza, a los que se les realizó la prueba entre Abril de 2017 y Agosto de 2018. La expresión de PD-L1 fue determinada usando el anticuerpo 22C3 sobre muestras con 100 células tumorales.

Resultados: Hubo 64 (84%) de hombres. 71 pacientes tenían 50 años o más, siendo 61 (86%) hombres. Los pacientes fueron clasificados según histología neoplásica y nivel de PD-L1: positivo fuerte ( $\geq 50\%$ ), positivo débil (1%-49%), negativo ( $<1\%$ ). El 47% fue PD-L1 positivo, el 67% positivo débil y el 33% fuerte. Histológicamente, el 53% fue adenocarcinoma siendo 45% positivo y 55% negativo; 31% fue carcinoma escamoso con 50% PD-L1 positivo; 13% neoplasia de célula grande con 50% PD-L1 positivo.

Conclusiones: el bloque celular obtenido mediante EBUS-TBNA es útil para el análisis de PD-L1. La expresión de PD-L1 debería determinarse rutinariamente en muestras de CPNM obtenidas por EBUS-TBNA para seleccionar pacientes susceptibles de inmunoterapia dirigida cuando no se disponga de biopsia.

Palabras clave: Cáncer de pulmón célula no pequeña; Broncoscopia; Biomarcador tumoral.

## 2. ABSTRACT / KEYWORDS

Introduction: one of the immunotherapies used against non-small cell lung cancer (NSCLC) are monoclonal antibodies against PD-L1. PD-L1 tumor expression is heterogeneous. Studies approving anti-PD-L1 therapies require biopsies, sometimes difficult to obtain. Endobronchial puncture-aspiration ultrasound (EBUS-TBNA) has demonstrated reliability in the diagnosis and staging of lung cancer. However, there is little evidence of utility in determining PD-L1. The objective was to analyze the capacity of samples obtained by EBUS-TBNA to identify PD-L1 expression.

Material and methods: PD-L1 expression in cell block obtained by EBUS-TBNA is evaluated in 76 patients at the Miguel Servet University Hospital in Zaragoza, who underwent the test between April 2017 and August 2018. PD-L1 expression was determined using the 22C3 antibody on samples with 100 tumor cells.

Results: There were 64 (84%) of men. 71 patients were 50 years old or older, being 61 (86%) men. The patients were classified according to neoplastic histology and PD-L1 level: strong positive ( $\geq 50\%$ ), weak positive (1% -49%), negative ( $<1\%$ ). 47% was PD-L1 positive. 67% weak positive and 33% strong positive. Histologically, 53% was adenocarcinoma, 45% positive and 55% negative; 31% was squamous carcinoma with 50% PD-L1 positive; 13% large cell neoplasm with 50% positive PD-L1.

Conclusions: the cell block obtained by EBUS-TBNA is useful for the analysis of PD-L1. PD-L1 expression should be routinely determined in NSCLC samples obtained by EBUS-TBNA to select patients for targeted immunotherapy when biopsy is not available.

Keywords: Carcinoma Non-Small-Cell Lung; Bronchoscopy; Biomarker tumor.

### 3. INTRODUCCIÓN

A día de hoy, la mayoría de neoplasias pulmonares se diagnostican en estadios avanzados, por lo que la ultrasonografía endobronquial (EBUS) con punción aspiración es una técnica que ha adquirido gran importancia, ya que nos permite realizar diagnóstico y estadificación ganglionar de manera mínimamente invasiva (1, 2). La obtención de muestras de buena calidad, es importante, dado el gran número de estudios anatomopatológicos e inmunohistoquímicos que son llevados a cabo, necesarios tanto para el diagnóstico concreto de la patología como para posteriormente los diferentes enfoques y estrategias terapéuticas.

Una de las inmunoterapias más utilizadas contra el cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) son los anticuerpos monoclonales contra PD-1 o PD-L1. PD-1 es una proteína que se encuentra en las células T, que ayuda a mantener bajo control las respuestas inmunitarias. Cuando PD-1 se une a PD-L1, ayuda a evitar que las células T destruyan las células cancerosas. Hay terapias inmunitarias para impedir la acción de PD-1. Cuando se bloquea esta proteína, se sueltan los "frenos" del sistema inmunitario y aumenta la capacidad de las células T de destruir células cancerosas (3, 4). Los estudios que han aprobado las terapias anti-PD-L1 requieren de biopsias que en ocasiones son difíciles de obtener. En el estudio del CPNM, la expresión intratumoral de PD-L1 es heterogénea, lo lleva a considerar la biopsia como muestra poco representativa, pudiendo ser infraestimada o sobreestimada expresión de PD-L1 (5).

El EBUS ha demostrado fiabilidad en el diagnóstico y estadificación (2, 6). Sin embargo, existe escasa evidencia sobre su utilidad en la determinación de PD-L1. Tras la búsqueda de bibliografía relevante, hemos podido valorar que existe contenido sobre la relación de los diferentes marcadores y el CPNM, pero no hay gran contenido sobre el tema específico de determinar este marcador PD-L1 en muestras obtenidas mediante EBUS (7). El objetivo principal es analizar la capacidad de las muestras obtenidas por EBUS-TBNA para identificar la expresión de PD-L1 en carcinoma pulmonar no microcítico. Lo objetivos específicos son: Valorar la prevalencia de la expresión de PD-L1 según su nivel (negativo, positivo débil y positivo fuerte) en todas las muestras obtenidas de cáncer pulmonar no microcítico en pacientes sometidos a EBUS. Medir prevalencia del nivel de expresión de PD-L1 según la estirpe histológica de tumor dentro de los tumores pulmonares no microcíticos en pacientes sometidos a EBUS.

## 4. HIPÓTESIS

- a) El bloque celular obtenido con al menos 100 células tumorales mediante ultrasonografía endobronquial con punción-aspiración (EBUS-TBNA) y aguja de 22G es útil para el análisis de PD-L1.
- b) La expresión de PD-L1 debería ser determinada de manera rutinaria en muestras de carcinoma pulmonar no microcítico obtenidas por EBUS-TBNA para seleccionar pacientes susceptibles de inmunoterapia dirigida cuando no se disponga de una biopsia.



## 5. OBJETIVOS

1. Analizar la capacidad de las muestras obtenidas por EBUS-TBNA para identificar la expresión de PD-L1 en carcinoma pulmonar no microcítico.
2. Valorar la prevalencia de la expresión de PD-L1 según su nivel (negativo, positivo débil y positivo fuerte) en todas las muestras obtenidas de cáncer pulmonar no microcítico en pacientes sometidos a EBUS.
3. Medir prevalencia del nivel de expresión de PD-L1 según la estirpe histológica de tumor dentro de los tumores pulmonares no microcíticos en pacientes sometidos a EBUS.



## 6. METODOLOGÍA

Se trata de un estudio descriptivo transversal en el que se evalúa la expresión de PD-L1 en el bloque celular obtenido por EBUS-TBNA en pacientes estudiados en el Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza entre Abril de 2017 y Agosto de 2018 con carcinoma pulmonar no microcítico ya diagnosticado o diagnosticado con esta prueba.

Respecto a los pacientes del estudio, la población accesible o fuente de sujetos fue la siguiente:

**Población diana:** personas con cáncer de pulmón no microcítico con adenopatías positivas a nivel mediastínico accesible con EBUS.

**Población accesible:** sujetos procedentes del Servicio de Oncología y Neumología del Hospital Universitario Miguel Servet con diagnóstico de carcinoma pulmonar no microcítico o diagnosticado durante EBUS.

**Población elegible:** son las personas sometidas a EBUS en el Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza entre Abril de 2017 y Agosto de 2018 con diagnóstico anatomopatológico de carcinoma pulmonar no microcítico.

El muestreo de este estudio es un muestro no probabilístico, consecutivo.

Criterios de inclusión: Mujeres y hombres con cáncer de pulmón no microcítico. Edad mayor o igual a 18 años. EBUS realizado en el Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza. EBUS realizado entre Abril de 2017 y Agosto de 2018.

Criterios de exclusión: Embarazadas. Menores de 18 años. Personas con coagulopatías no corregibles. Personas en situación inestable.

### 6.1. Procedimiento:

Se recogieron los datos de pacientes que habían sido sometidos a la prueba diagnóstica conocida como ultrasonografía endobronquial en la que se obtienen de manera rutinaria un mínimo de 3 punciones ganglionares o de masa pulmonar utilizando una aguja de tamaño 22G. Se trataba de pacientes diagnosticados mediante esta prueba de carcinoma pulmonar de célula no pequeña. Se revisó la expresión de los diferentes marcadores tumorales en esas muestras, concretamente la expresión de PD-L1 es

determinada usando el anticuerpo 22C3 sobre las muestras con al menos 100 células tumorales. Se realizó una base de datos en una Hoja de cálculo Excel en la que se recogieron los datos clínicos y analíticos. Los pacientes se clasificaron de acuerdo al tipo histológico de la neoplasia y de los niveles de PD-L1 según la siguiente clasificación: positivo fuerte ( $\geq 50\%$ ), positivo débil (1%-49%) o negativo ( $<1\%$ ), llevando a cabo el estudio de prevalencia de cada uno de esas subclasificaciones. A nivel ético se llevó a cabo la realización de consentimiento informado escrito que se entregó a cada uno de los pacientes. Se contó con la aprobación del Comité Ético de Investigación de Aragón tras presentarlo.

-Respecto a las variables utilizadas fueron:

Edad, sexo (hombre, mujer), procedencia (servicio del hospital), motivo realización EBUS (adenopatías, sospecha de cáncer, estadificación), diagnóstico anatomopatológico pre-EBUS (sí, no), diagnóstico anatomopatológico con EBUS (sí, no), número de muestras con EBUS (1,2,3), fecha de EBUS, tipo histológico (escamoso, adenocarcinoma, célula grande, microcítico, otros), inmunohistoquímica (sí, no), PD-L1 (sí, no, nivel).

Se llevó a cabo un análisis estadístico descriptivo retrospectivo de la muestra, analizando la edad, sexo por edad, relación entre edad sexo y diagnóstico anatomopatológico, y relación entre edad sexo y nivel de expresión del marcador PD-L1.

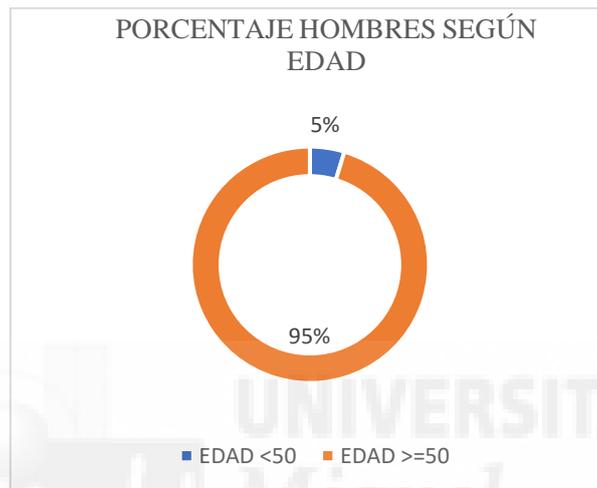
## 7. PLAN DE TRABAJO

	Marzo-Abril 2020	Mayo 2020	Junio 2020	Julio 2020
Inclusión de pacientes	*****			
Manejo base de datos	*****	*****		
Integración de datos de laboratorio y evaluación de resultados		*****		
Cálculos		*****		
Escritura del manuscrito			*****	
Presentación Trabajo Fin de Máster				*****

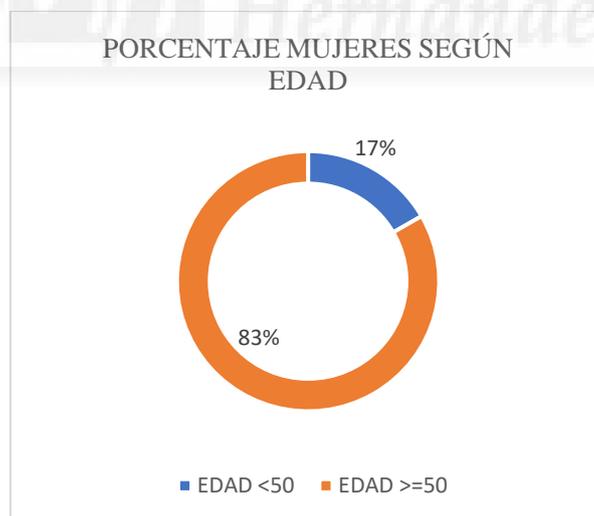
## 8. RESULTADOS

De todos los pacientes estudiados, respecto a edad y sexo, de las 76 muestras:

- Hubo predominancia de hombres con 64 (84%), y 12 (16%) mujeres;
- 5 (7%) tenían menos de 50 años, siendo 3 hombres (60%) y 2 mujeres (40%); y 71 (93%) tenían 50 años o más, siendo 61 (86%) hombres 10 (14%) mujeres. (Figura 2). Figuras 1 y 2.



**Figura 1. Relación edad-género en hombres**

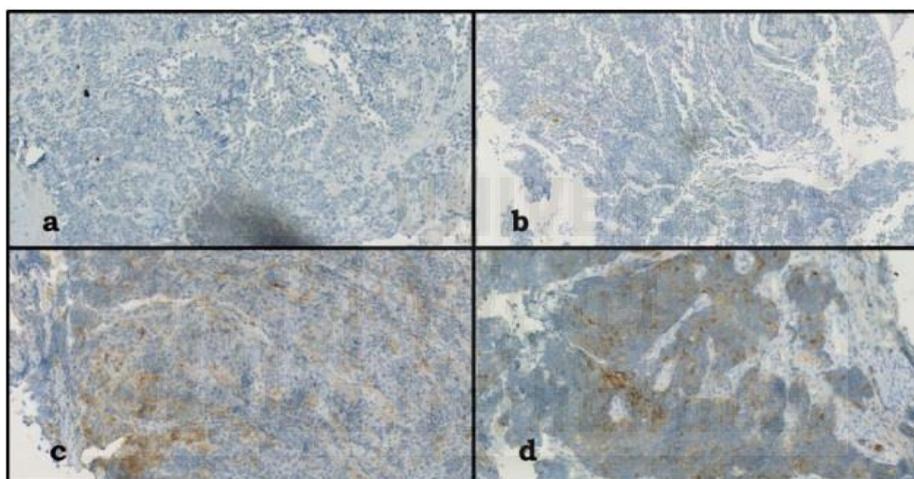


**Figura 2. Relación edad-género en mujeres.**

De las 76 muestras en las que se estudió PD-L1, 36 (47%) resultaron ser PD-L1 positivas, y 40 (53%) negativas. Dentro de las 36 positivas, 24 (67%) fueron positivas débil y 12 (33%) positivas fuerte. (Figura 3). Se muestra la visión a nivel microscópico de la expresión de PD-L1 utilizando la inmunohistoquímica. (Imagen 1).



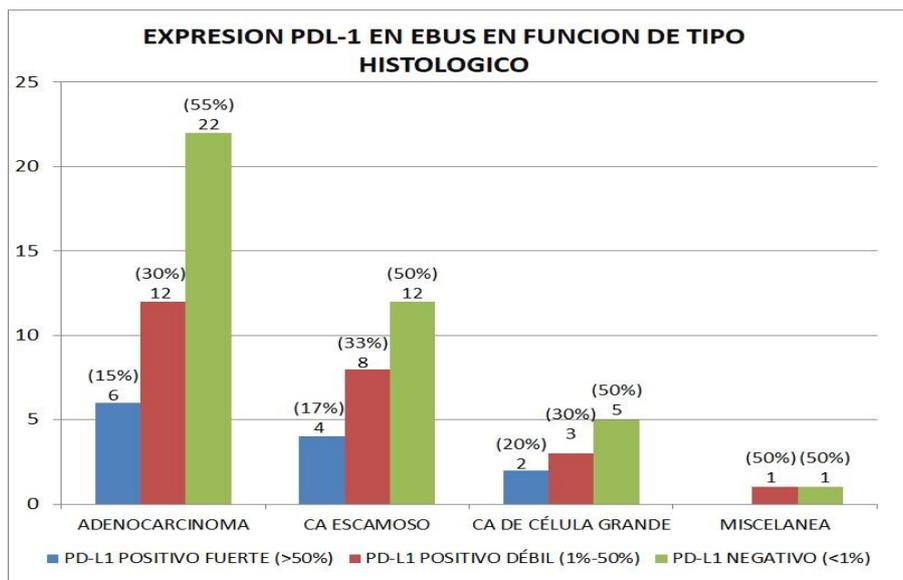
**Figura 3. Resultados en función de la expresión de PD-L1 en la muestra tumoral.**



**Imagen 1. Expresión de PD-L1 en células tumorales.**  
*a) PD-L1 negativo; b y c) PD-L1 positivo débil; c) PD-L1 positivo fuerte.*

Desde el punto de vista anatomopatológico, de las 76 muestras:

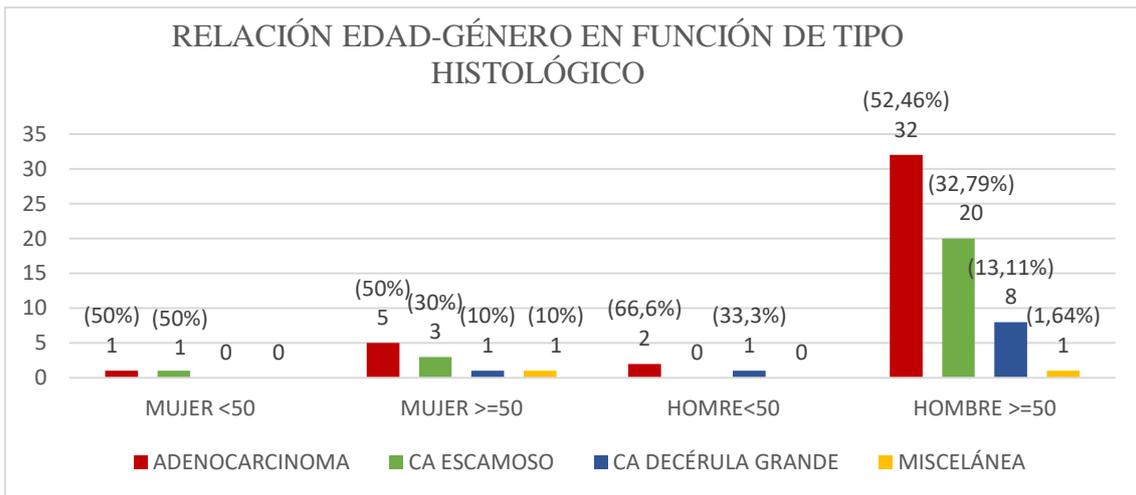
- 40 (53%) fueron adenocarcinoma pulmonar, siendo 18 (45%) PD-L1 positivo (12 positivo débil y 6 positivo fuerte) y 22 (55%) PD-L1 negativo;
- 24 (31%) fueron carcinoma escamoso de pulmón, resultando 12 (50%) PD-L1 positivo (8 positivo débil y 4 positivo fuerte) y 12 (50%) PD-L1 negativo;
- 10 (13%) fueron neoplasias de células grandes de pulmón, siendo 5 (50%) PD-L1 positivo (3 positivo débil y 2 positivo fuerte) y 5 (50%) PD-L1 negativo.
- Se obtuvieron 2 muestras (3%) con otros diagnósticos: un tumor neuroendocrino que fue PD-L1 negativo, y una metástasis urotelial que resultó PD-L1 positivo débil. (Figura 4).



**Figura 4. Relación entre resultados histológicos y expresión de PD-L1.**

Al analizar sexo y edad respecto al análisis anatomopatológico, estos fueron los hallazgos:

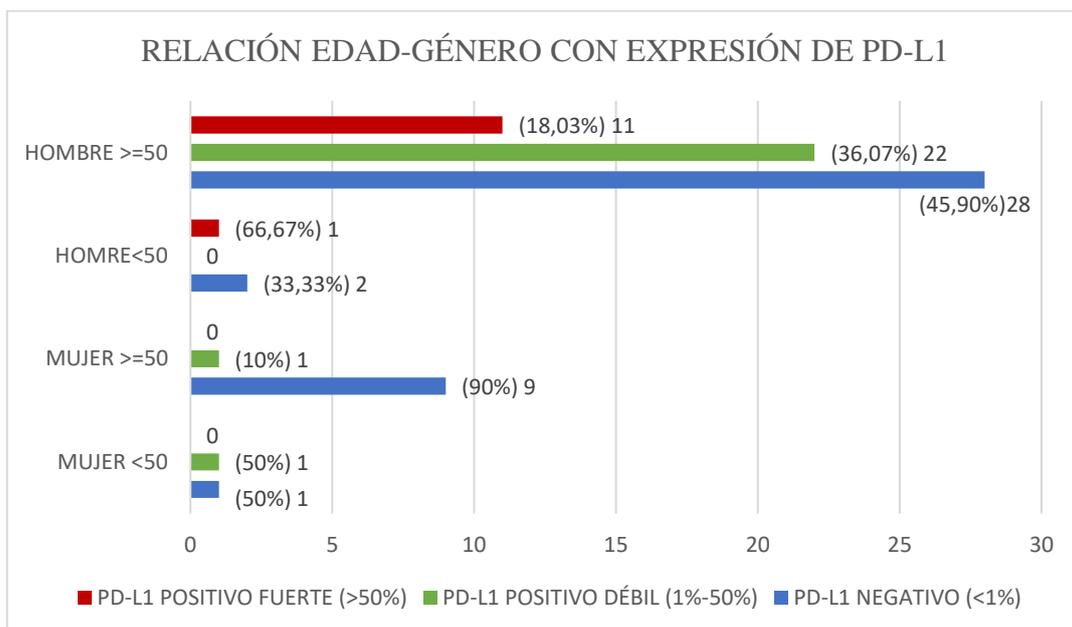
- En sujetos de <50 años:
  - o 1 mujer (50%) presentó adenocarcinoma y 1 mujer (50%) presentó carcinoma escamoso.
  - o 2 hombres (66%) presentaron adenocarcinoma y 1 hombre (33%) carcinoma de células grandes.
- En sujetos de 50 años o más:
  - o 5 mujeres (50%) presentaron adenocarcinoma, 3 (30%) carcinoma escamoso, 1 (10%) carcinoma de células grandes y 1 (10%) tumor neuroendocrino (miscelánea).
  - o 32 hombres (52%) presentaron adenocarcinoma, 20 (33%) carcinoma escamoso, 8 (14%) carcinoma de células grandes y 1 (1%) metástasis tumor urotelial (miscelánea). (Figura 5).



**Figura 5. Relación edad-género en función del tipo histológico.**

Al analizar sexo y edad respecto a la expresión de PD-L1 en sus muestras se obtuvieron los siguientes resultados:

- En sujetos de <50 años:
  - o 1 mujer (50%) expresó PD-L1 negativo, y 1 (50%) PD-L1 positivo débil.
  - o 2 hombres (66%) presentaron PD-L1 negativo, y 1 (33%) expresó PD-L1 positivo fuerte.
- En sujetos de 50 años o más:
  - o 9 mujeres (90%) fue PD-L1 negativo, y 1 (10%) expresó PD-L1 positivo débil.
  - o 28 (46%) presentaron PD-L1 negativo, 22 (36%) expresó PD-L1 positivo débil, y 11 (18%) expresó PD-L1 positivo fuerte. (Figura 6).



**Figura 6. Relación edad-género en función de expresión de PD-L1**

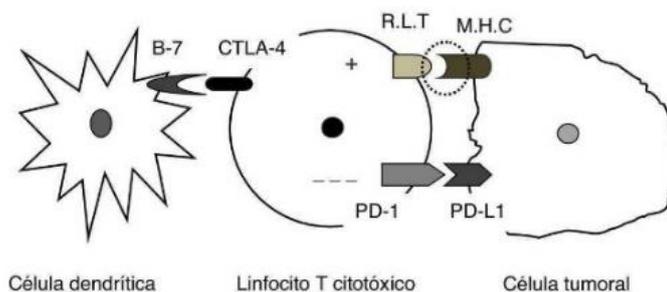
## 9. DISCUSIÓN

Resulta importante conocer que el bloqueo de puntos de control del sistema inmunitario con anticuerpos monoclonales ha surgido de manera reciente como una nueva herramienta terapéutica a nivel oncológico, la cual aporta un rayo de esperanza (3, 4).

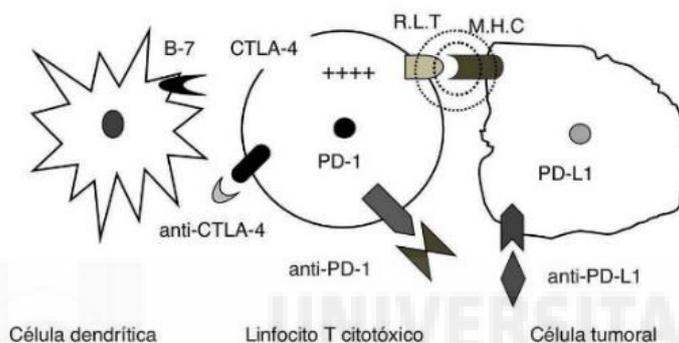
Hay investigaciones recientes analizando la relación entre el sistema inmune y el cáncer, las cuales han llevado a descubrir los mecanismos moleculares por los que las células tumorales utilizan receptores de los linfocitos T, activando la inhibición de la respuesta citotóxica, para defenderse del ataque inmune hacia ellas. Todas estas investigaciones han sido muy importantes para identificar dianas (receptores de los linfocitos T o ligandos que se les unen), ya que se han podido diseñar anticuerpos monoclonales dirigido a esas dianas que tienen la capacidad de activar de nuevo la respuesta inmunitaria. Estos anticuerpos se han convertido en fármacos con eficacia demostrada en el carcinoma renal, melanoma metastásico y en el carcinoma pulmonar no microcítico. Estos fármacos se aprobaron como terapia de 2ª línea después de una terapia inicial de quimioterapia, pero en los últimos estudios se ha visto que hay resultados favorables al utilizar esta terapia como 1ª línea, tras realizar ensayos comparándolos con quimioterapia (3). Como hemos comentado, entre estos receptores tenemos el “programme death-1” (PD-1) y el ligando que se une a él (PD-L1), la cual es una muy importante diana, habiendo desarrollado fármacos contra ella: contra la diana molecular PD-1 (Nivolumab, Pembrolizumab), y fármacos contra la diana molecular PD-L1 (Atezolizumab, Durvalumab, Avelumab). PD-1 es una proteína que se encuentra en las células T, que ayuda a mantener bajo control las respuestas inmunitarias. Cuando PD-1 se une a PD-L1, ayuda a evitar que las células T destruyan las células cancerosas. Cuando se bloquea esta proteína, se activa de nuevo el sistema inmunitario y aumenta la capacidad de las células T de destruir células cancerosas (8,9). (Imagen 2).

## Imagen 2. Mecanismo de actuación de PD-L1 y PD-1.

a) Linfocito T bloqueado por las uniones PD-1---PD-L1 y B7---CTLA-4.



b) Linfocito T desbloqueado por inhibición de PD-1, PD-L1 ó CTLA-4 mediante anticuerpos



R.L.T - Receptor del linfocito T. M.H.C.-Complejo mayor de histocompatibilidad.  
 PD-1 - Receptor *programme death-1*. PD-L1 -Ligando de PD-1.  
 CTLA4 - Antígeno 4 del linfocito T citotóxico.

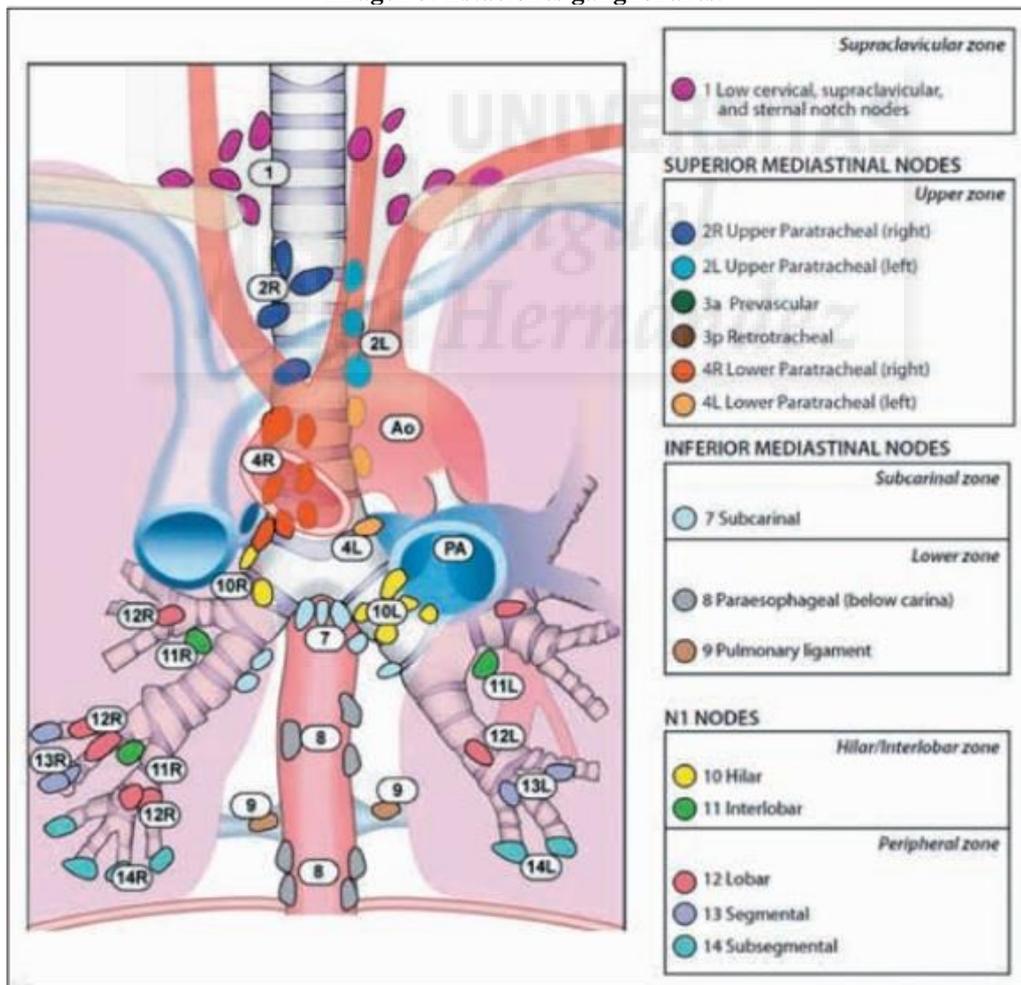
Arch Bronconeumol. 2017;53:682-7

**Fuente: Archivos de Bronconeumología. Volumen 53. Número 12. Diciembre 2017. “Nueva inmunoterapia y cáncer de pulmón”.**

Los estudios que han aprobado las terapias anti-PD-L1 requieren de biopsias que en ocasiones son difíciles de obtener, y que someten al paciente a un sufrimiento añadido y a pruebas diagnósticas invasivas. A este nivel, la ultrasonografía endobronquial (EBUS) ha demostrado fiabilidad en el diagnóstico y estadificación (2, 5 ,10). La ultrasonografía endobronquial (EBUS) con punción aspiración es una prueba diagnóstica reciente con capacidad de diagnosticar tumores y ganglios en mediastino y pulmonares. Se trata de una técnica mínimamente invasiva, por lo que resulta de gran utilidad e importancia para diagnosticar y estadificar el carcinoma pulmonar (11). Esta técnica es rápida, ya que con práctica se adquiere destreza, y además se puede conocer el resultado por parte de anatomía patológica a nivel intraprueba, lo cual da un diagnóstico y estadificación del cáncer muy rápido, permitiendo iniciar terapias de manera precoz. Se realiza una punción transbronquial de los ganglios en hilio y en mediastino. El EBUS utiliza la videoendoscopia y la ecografía, por lo que podemos ver vía aérea y tener imagen ecográfica de los ganglios linfáticos. Existen dos métodos: ecobroncoscopia radial, que

orienta la punción, pero no te guía en tiempo real, y ecobroncoscopia lineal que sí obtienes visión directa del trayecto de la aguja con un transductor en su extremo distal que escanea de forma paralela a la dirección de inserción del broncoscopio. Las imágenes las obtiene por contacto directo del transductor o por medio de un balón que se rellena con solución salina y que está en la punta del mismo. El ecobroncoscopio tiene un canal de trabajo que permite la punción/aspiración en tiempo real (2). La principal indicación de la ecobroncoscopia lineal es estadificar ganglios linfáticos en sospecha de cáncer de pulmón o en pacientes ya diagnosticados. La ecobroncoscopia lineal puede explorar las estaciones mediastínicas 2, 3p, 4, 5 y 7 y las intrapulmonares 10 y 11 con una alta rentabilidad (7), pero no podemos visualizar los ganglios linfáticos subaórticos y paraesofágicos (niveles 6, 8, 9). La sensibilidad y rentabilidad diagnóstica es elevada después de dos punciones con muestra representativa para cada ganglio (1).

**Imagen 3. Estaciones ganglionares.**



Fuente: Revista de Patología Respiratoria. Volumen 20. Suplemento 1. Marzo 2017. “Actualización TNM. Estadificación mediastínica”. Y.Pun

En los diferentes artículos leídos, tras una búsqueda exhaustiva en las bases de datos tan conocidas como son PubMed, Web of Science y Embase, el estudio de la expresión de PD-L1 en el carcinoma pulmonar no microcítico es muy heterogénea, lo que lleva a considerar la biopsia como una muestra que quizás sea poco representativa, pudiendo ser infraestimada o sobreestimada esa expresión de PD-L1 según la biopsia obtenida, además de que en muchas ocasiones no se puede disponer de biopsia o de pieza quirúrgica para llevar a cabo el análisis de inmunohistoquímica. En las situaciones en las que se dispone de biopsia o de pieza quirúrgica de la neoplasia pulmonar, ya sea por intervención quirúrgica o por biopsia transbronquial siempre se suele realizar la determinación de expresión de marcadores por disponer de mayor muestra (13). Poco a poco se están llevando a cabo más estudios sobre la capacidad que tiene la ecobroncoscopia de tomar muestras citológicas en una cantidad suficiente y de manera mínimamente invasiva como para llegar a resultar válido el determinar el marcador PD-L1 para luego llevar a cabo la toma de decisiones que nos van a permitir iniciar tratamiento diferente a la quimioterapia y radioterapia, es decir, con inmunoterapia (7, 11, 14). Se está demostrando que la muestra obtenida mediante EBUS, de una manera poco invasiva y con muy poco sufrimiento para el paciente, no son inadecuadas ni inferiores a las obtenidas mediante biopsia (7,14).

## 10. CONSIDERACIONES FINALES Y CONCLUSIONES

Tras llevar a cabo la recogida de datos de pacientes que fueron sometidos a ultrasonografía endobronquial para el diagnóstico, estadiaje y/o presencia de adenopatías en la sección de intervencionismo del Servicio de Neumología del Hospital Universitario Miguel Servet, se pudo disponer del análisis de 76 pacientes que cumplían con los requisitos pertinentes para formar parte de nuestro estudio.

La mayoría de estos pacientes, como se ha comentado en el correspondiente apartado de resultados eran hombres mayores de 50 años. En general se expresó de manera fiable el biomarcador tumoral PD-L1, siendo un 47% de las muestras PD-L1 positivo. Al clasificar a los pacientes por diferenciación tumoral a nivel histológico, se nos permitió valorar la expresión de PD-L1 en función de la estirpe, siendo aquellos tumores que más presentaron el biomarcador el carcinoma pulmonar escamoso y el carcinoma de célula grande. Valorándolo a nivel de género, el 84% de la muestra resultaron ser hombres, la mayoría de 50 años o más, presentando adenocarcinoma como estirpe tumoral seguido de carcinoma escamoso, y con más de la mitad de estos hombres presentando PD-L1 positivo.

Tras la revisión bibliográfica, podemos decir que la ultrasonografía endobronquial (EBUS) con punción aspiración es una técnica cada vez más importante, dado que es capaz de manera mínimamente invasiva llegar al diagnóstico del carcinoma pulmonar y de realizar estadificación de éste. Una de las inmunoterapias más utilizadas contra el cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) son los anticuerpos monoclonales contra PD-1 o PD-L1. La expresión tumoral de PD-L1 es heterogénea. Los estudios que aprueban terapias anti-PD-L1 requieren de biopsias que en ocasiones son difíciles de obtener y se requiere de métodos invasivos. La utilización de la ultrasonografía endobronquial con punción-aspiración (EBUS-TBNA) demuestra fiabilidad en la toma de muestras pudiendo posteriormente determinar diferentes biomarcadores tumorales, en concreto PD-L1, lo que implica el poder llegar a pautar el tratamiento específico con anticuerpos monoclonales que bloquean esta vía, lo que resulta de gran importancia, ya que es un tratamiento que podría utilizarse en pacientes que no han respondido bien a quimioterapia o que no pueden recibirla por diferentes motivos.

Con este estudio llegamos a las conclusiones de que el bloque celular obtenido con al menos 100 células tumorales mediante ultrasonografía endobronquial con punción-aspiración (EBUS-TBNA) y aguja de 22G es útil para el análisis de PD-L1. Además, llegamos también a la conclusión de que la expresión de PD-L1 debería ser determinada de manera rutinaria en muestras de carcinoma pulmonar no microcítico obtenidas por EBUS-TBNA para seleccionar pacientes susceptibles de inmunoterapia dirigida cuando no se disponga de una biopsia.



## 11. ASPECTOS ÉTICOS

En la base de datos definitiva no aparecen datos identificativos del paciente. Solo los investigadores tienen acceso a la base de datos, tanto durante como después de finalizar el estudio. Los datos incluidos en la misma (nº de historia) a través de los que se puede acceder a la identidad del paciente durante la fase de toma de datos, son eliminados de forma definitiva. Los datos que se recogen de la historia clínica del paciente se almacenan en una base de datos en la que a cada paciente se le asigna un código numérico por asignación correlativa comenzando por el número 1, de manera que la correlación entre paciente y código de dicha base sólo es conocida por los investigadores del estudio, sin posibilidad de que terceros puedan identificar a los pacientes en dicha base de datos.

Como se ha comentado antes, la atención y seguimiento del paciente fue en todo momento las mismas que las habituales, sin modificarse las tareas asistenciales por la inclusión en el estudio.

Se le dio información oral y/o escrita al paciente (y/o a sus familiares), quien (es) debía (n) firmar el consentimiento informado para ser incluido en el estudio. En caso de que el paciente fuese incapaz, podía firmar el consentimiento un familiar y la persona que lo tutele. No se practicaron estudios genéticos en las muestras, y posteriormente esas muestras fueron eliminadas tras ser analizadas, sin necesidad de almacenarse.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Lee HS. Real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration in mediastinal staging of non-small cell lung cancer. How many aspirations per target lymph node station? *Chest* 2008; 134: 368-74.
2. Varela L. Ultrasonografía endobronquial con aspiración transbronquial con aguja (USEB-ATBA) en la estadificación de nódulos linfáticos. Axencia de avaliación de tecnoloxías sanitarias de Galicia. Enero 2007.
3. Sánchez de Cos Escuín J. Nueva inmunoterapia y cáncer de pulmón. *Arch Bronconeumol.* 2017; 53 (12): 682-7.
4. Kim H, Kwon HJ, Park SY, Park Y, Park E, Chung JH. Clinicopathological análisis and prognostic significance of programmed cell death-ligand 1 protein and mRNA expression in non-small cell lung cancer. *PLoS One.* 2018 jun; 13 (6).
5. Oki M, Yatabe Y, Saka H, Kitagawa C, Kogure Y, Ichihara S, Moritani S. Feasibility and accuracy of molecular testing in specimens obtained with small biopsy forceps: comparison with the results of surgical specimens. *Respiration.* 2015; 89 (3): 235-42.
6. Sánchez-Font A, Chalela R, Martín-Ontiyuelo C, Albero-González R, Dalmases A, Longarón R, Alonso-Espinaco V, Curull V, Bellosillo B, Pijuan L. Molecular análisis of peripheral lung adenocarcinoma in brush cytology obtained by EBUS plus fkuoroscopy-guided bronchoscopy. *Cancer Cytopathol.* 2018 Oct; 126 (10): 860-71.
7. Gosney John R, Boothman A.M, Ratcliffe M, Kerr K.M. Cytology for PD-L1 testing: A sistematic review. *Lung Cancer.* 2020; 141: 101-106.
8. Nagasaka M, Zaki M, Kim H, Raza SN, Yoo G, Lin HS, Sukari A. PD1/PD-L1 inhibition as a potential radiosensitizer in head and neck squamous cell carcinoma: a case report. *J Immunother Cancer.* 2016 Nov 15; 4:83.
9. Sui H, Ma N, Wang Y, Li H, Liu X, Su Y, Yang J. Anti-PD-1/PD-L1 therapy for Non-Small-Cell Lung Cancer: Toward Personalized Medicine and Combination Strategies. *J Immunol Res.* 2018 Aug 8; 2018: 6984948.

10. Heymann JJ, Bulman WA, Swinarski D, Pagan CA, Crapanzano JP, Haghghi M, Fazlollahi L, Stoopler MB, Sonett JR, Sacher AG, Shu CA, Rizvi NA, Saqi A. PD-L1 expression in non-small cell lung carcinoma: Comparison among cytology, small biopsy, and surgical resection specimens. *Cancer Cytopathol.* 2017 Dec; 125 (12): 896-907.
11. Monsó E. *Ecobroncoscopia. Prólogo.* Marge Medica Books; 2009.
12. Herth FJ. Real-time endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration for sampling mediastinal lymph nodes. *Thorax* 2006; 61: 795-8. EBUS para citología de ganglios mediastínicos.
13. Navani N, Nankivell M, Lawrence DR, Lock S, Makker H, Baldwin DR, Stephens RJ, Parmar MK, Spiro SG, Morris S, Janes SM. Lung cancer diagnosis and staging with endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration compared with conventional approaches: an open-label, pragmatic, randomised controlled trial. *Lancet Respir Med* 2015; 3(4): 282-289.
14. Plönes T, Elze M, Kayser G, Pfeifer D, Burger M, Zissel G. mRNA and miRNA analyses in cytologically positive endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: implications for molecular staging in lung cancer patients. *Cancer Cytopathol.* 2014 Apr; 122 (4): 292-8.