

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
(UNAN-Managua)
Facultad de Medicina
Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez



Tesis para optar al título de "**Especialista en Medicina Interna**"

Mutación del receptor del factor de crecimiento epidérmico en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas, atendidos en el Servicio de Neumología del Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez de Enero 2015 a Diciembre 2016.

Autor:

Dr. José Alexander Aguilera Martínez

Tutor:

Dr. Francisco Hernández Rodríguez
Internista-Neumólogo

Asesor Metodológico:

Dra. Sayonara Sandino
Internista- Reumatólogo-Msc en Salud Pública

Managua, 22 de Febrero 2017

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a Dios que nos da la vida, sabiduría y salud para que sigamos adelante desempeñando esta dura profesión *La Medicina*.

A mi Madre Lucía Olga Martínez Espinal, quien ha estado detrás de cada logro en mi vida y que con sus consejos y oraciones hace posible mi existencia y triunfos. A ella dedico la razón de mi desempeño profesional como médico.

A mi esposa Teresa del Carmen Treminio Delgadillo por su apoyo y su amor para permitirme seguir en momentos difíciles.

A mi hijo Nehemías Alessandro Aguilera Treminio, quien es y será la continuación de mi existencia, precioso regalo del cielo, que me impulsa a ser mejor y luchar cada día.

A mis amigos, que creyeron en mí y me brindaron su confianza.

A todos mis maestros de la medicina y de la vida, que ocuparan siempre el mas alto nivel de mi respeto, aprecio y consideración.

A mis colegas médicos, amigos y no amigos, aunque de estos últimos se suele aprender mucho.

A tantas otras personas, que sin nombrarlas saben cuanto significan para mí.

Dr. José Alexander Aguilera Martínez

OPINIÓN DEL TUTOR

Las Neoplasias de pulmón constituyen una entidad cada vez más frecuente, tanto a nivel mundial como local por lo que se debe hacer énfasis en todas las estrategias dirigidas a prevenir, tratar y reducir el número de complicaciones derivadas de éstas, así como la mejora en la calidad de vida y supervivencia global de los pacientes.

En el presente estudio **Prevalencia de la mutación del receptor del factor de crecimiento epidérmico en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas, atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez de enero 2015 a diciembre 2016**, Se pretende dar inicio al estudio de marcadores expresado en la superficie de células tumorales, con el objeto de definir con que frecuencia se presentan en nuestro medio y posteriormente hacer énfasis en dianas terapéuticas que puedan mejorar el enfoque de éstas, descrita en la literatura internacional.

En nuestro medio se ha destinado muy poco apoyo a la detección de estos genes que no han permitido llevar a cabo cambios en la terapéutica que tradicionalmente se ha usado y que no necesariamente lograría el efecto deseado.

Dr. Francisco Hernández Rodríguez
Internista-Neumólogo

RESUMEN

Se llevó a cabo un estudio de prevalencia de la mutación del receptor del factor de crecimiento epidérmico en 49 pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas, atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez de enero 2015 a diciembre 2016. Del total de pacientes en quienes se les realizó análisis para detección de la mutación, en 10 casos se obtuvo un resultado positivo, representando el 20.4%. De estos 10 casos, el axón más frecuente en el que se reporta la mutación fue el Exón 18 con el 40%, seguido del 21 con el 30% y el 19 con el 10%. La prevalencia estimada de la mutación fue 20.4% (IC 95% 11.5 – 33.6%). La prevalencia en mujeres fue de 27.6% (IC 95% 14.7 – 45.7). La prevalencia en hombres fue de 10% (IC95% de 23.3-30%). La prevalencia en no fumadores fue de 38.9% (IC 95% 20.3 – 61.4). La prevalencia en fumadores fue de 9.7% (IC95% de 3.4 -24.9%). Los rangos observados se encuentran correspondencia con lo reportado en la literatura.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	6
ANTECEDENTES	8
JUSTIFICACIÓN	10
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
OBJETIVOS	13
MARCO TEÓRICO.....	14
DISEÑO METODOLÓGICO	30
RESULTADOS	39
DISCUSIÓN	40
CONCLUSIONES.....	43
RECOMENDACIONES	44
BIBLIOGRAFÍA	45
ANEXO.....	48

I. INTRODUCCIÓN

El cáncer de pulmón ha sido el tipo de cáncer más común en el mundo durante varias décadas. De acuerdo con el reporte del año 2012 del Estudio de la Carga Global de Cáncer (GLOBOCAN 2012), se estima que para ese año se presentaron 1.8 millones de casos nuevos (12.9% del total de casos), de los cuales 58% ocurre en países en vías de desarrollo[1]. Más de tres cuartas partes de los pacientes con cáncer de pulmón se diagnostican en estadios avanzados (Estadio IIIB y IV) resultando en altas tasas de mortalidad[1-5].

Las dos principales formas de cáncer de pulmón son el cáncer de células no pequeñas (non-small cell lung cancer, NSCLC, por sus siglas en inglés) que representa el 85% de los cánceres de pulmón y el cáncer de células pequeñas (small-cell lung cancer, SCLC, por sus siglas en inglés). Los casos de NSCLC pueden ser subdivididos en dos grandes categorías histológicas, escamosos y no escamosos (adenocarcinoma, carcinoma de células grandes)[1-5].

Los avances recientes sobre la comprensión de la biología del cáncer de pulmón ha permitido personalizar las terapias basadas en las características moleculares del tumor, inhibiendo genes y rutas específicas. El cáncer de pulmón, presenta múltiples cambios en la secuencia del ADN (mutaciones) y anomalías en la expresión genética (alteraciones epigenéticas), que generalmente se inician en una clona celular. Todas estas anomalías juntas resultan en la activación de oncogenes e inactivación de genes supresores de tumores y reparadores de ADN[6-8].

La alteración genética más frecuente en cáncer de pulmón en esta vía es la mutación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), que permite a los tumores ser independientes de las señales de supervivencia expresadas por otros genes. Existen múltiples estudios que han demostrado el importante papel que la vía de señalización mediada por el receptor del factor de crecimiento

epidérmico (EGFR) posee en el desarrollo del carcinoma pulmonar de células no pequeñas[9].

El receptor del EGF constituye un blanco de gran interés dado su importante papel en el desarrollo tumoral, y representa una diana molecular en las actuales y futuras estrategias terapéuticas contra el cáncer. En otras palabras se ha descubierto que las mutaciones en dicho receptor se comportan como elemento predictivo de respuesta a los fármacos inhibidores de la actividad tirosina cinasa[6-8].

Se han reportado prevalencias de mutaciones del EGFR en cáncer de pulmón de células no pequeñas que varían considerablemente entre regiones y etnias. Se han estimados prevalencias entre el 10 y 15% en poblaciones norteamericanas y europeas, entre 26 y 30% en grupos poblaciones del este asiático incluyendo China, Korea y Japón. En la India se han reportado prevalencias del 30%. Los datos registrados en Latinoamérica ubican una frecuencia de mutaciones en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas de 31.2%[10-13].

En Nicaragua, el manejo del cáncer de pulmón de células no pequeñas no se sustenta en el estudio marcadores moleculares en la toma de decisiones para dirigir terapias que impacten de forma efectiva en la supervivencia y en la calidad de vida de estos pacientes. Tampoco se cuenta con información en poblaciones locales sobre la frecuencia de estas mutaciones en este tipo de pacientes.

Debido a la relevancia de conocer la presencia de este tipo de mutaciones en población Nicaragüense es que se decidió llevar a cabo un estudio para determinar la prevalencia de la mutación del receptor del factor de crecimiento epidérmico en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas, atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez de enero 2015 a diciembre 2016.

ANTECEDENTES

Rossel y colaboradores en el 2009 en España determinaron que de una población de 2,015 casos con CPCNP la prevalencia de la mutación del EGFR fue del 17.4%. La prevalencia en no fumadores fue 34% y en fumadores 8.4%. La prevalencia en mujeres fue del 30% y en varones 8% [13].

Tanaka y colaboradores en el 2010 determinaron en un estudio realizado en Japón que la prevalencia de la mutación en pacientes con CPCNP fue de 36.4%. La prevalencia en fumadores versus no fumadores fue de 61.5% vs 22.3%. La prevalencia en mujeres versus varones fue 60% vs 30%[14].

D'Angelo y colaboradores en el 2011 publicaron los resultados del análisis de 2,142 casos de COCNP en Estados Unidos, estimando una prevalencia de la mutación 23.5% (n=503). La prevalencia en no fumadores fue 52 % y en fumadores fue 12.8%de. La prevalencia en mujeres fue 23.6% y en varones fue de 18.9%[15].

Gahr y colaboradores en el 2013 en Alemania de 1,201 pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas, en 118 estaba presente la mutación del receptor para factor de crecimiento epidérmico (EGFR), para una prevalencia de 9.8%, siendo la prevalencia de la mutación en no fumadores de 24.5% y en fumadores de 4%, en mujeres de 17.4% y en varones de 5%[16].

Prevalencia de mutación del receptor para factor de crecimiento epidérmico (EGFR) según región geográfica

Midha y colaboradores publicaron en el 2015 en la Revista Americana de Investigación del Cáncer [12]., una revisión sistemática son la frecuencia de mutación del receptor para factor de crecimiento epidérmico (EGFR) en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas, según región geográfica, reportado los siguientes hallazgos:

- La región Asiática tiene la más alta frecuencia de 47% (n=5958/12819; 87 estudios; rango 20%-76%). Dentro de esta región, Taiwan tiene la frecuencia de mutación más alta (57% [n=423/739; 9 estudios; rango 36%-76%]), mientras Singapur tiene la frecuencia más baja (40% [n=57/142; 2 estudios; rango 39%-43%])[12].
- En la India se reporta una frecuencia de 26% [n=278/1090; 5 estudios; rango 22-27%])[12].
- Australia presenta una frecuencia aproximada de mutación en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas de 12% [n=69/570; 4 estudios; rango 7%-36%])
- En la región de Sudamérica, hay gran variación entre países con respecto a la frecuencia de mutaciones (36% [n=250/686; 5 estudios; rango 9%-67%]); aunque este resultado se vio afectado por el resultado de un estudio en el Perú que reporta una frecuencia de 67% [n=136/203])[12].
- En Centro América y Nicaragua no existe reporte de estudios de esta prevalencia.

JUSTIFICACIÓN

El cáncer del pulmón (CP) es un serio problema de salud. El CP constituye la principal causa de muerte por cáncer a nivel mundial.[17] En Nicaragua los diversos tipos de cánceres representan una mortalidad general entre el 12.3% anual, de los cuales dos terceras partes se presentan después de los 50 años, teniendo el cáncer de pulmón una incidencia de 9% aproximadamente siendo está más frecuente en el sexo masculino[18].

El conocimiento de las alteraciones moleculares que definen subtipos de tumores dentro de la población general con cáncer de pulmón, ha conllevado un beneficio en supervivencia de los pacientes con dichas alteraciones. Esto pone en relevancia la importancia de poder determinar dichas alteraciones para ofrecer a los pacientes terapias dirigidas y el mejor tratamiento disponible para cada caso. Existen tanto mutaciones que derivan en un aumento de sensibilidad al tratamiento dirigido contra estas alteraciones génicas, como mutaciones que confieren resistencia a los mismos tratamientos. La determinación de las mutaciones de EGFR implica cambios en la actitud terapéutica de los pacientes con cáncer de pulmón en la práctica clínica habitual.[10]

Existe evidencia de nivel IA que indica que la determinación de estas alteraciones genéticas es adecuada y recomendable para la selección de pacientes con cáncer de pulmón candidatos para terapia molecular, con un pronóstico significativamente mejor[8, 19, 20].

Es importante, incluir la evaluación genética del estado mutacional del gen del EGFR de cada paciente con CPCNP para identificar, de una forma eficaz, tanto a los pacientes que se pueden beneficiar del tratamiento con EGFR-TKI, como a aquellos que presentan mutaciones de resistencia y necesitarían terapias más específicas como los TKI(Inhibidores Tirocin-Kinasa) irreversibles o tratamientos combinados. El estudio molecular del tejido tumoral, tanto al diagnóstico como a la

recidiva, es imprescindible para optimizar el manejo y mejorar el pronóstico de los pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón[8, 19, 20].

En Nicaragua no se realiza determinación molecular de las mutaciones de EGFR. Sin embargo hay un reconocimiento internacional de que la terapéutica del carcinoma pulmonar de células no pequeñas requiere hoy en día la necesidad de realizar el diagnóstico de mutación de manera estandarizada y generalizada, por lo que resulta necesario que los servicios de anatomía patológica ofrezcan dicha determinación dentro de la rutina asistencial.

Sabemos que en Nicaragua existen muchas limitaciones tanto de infraestructura como de recursos humanos, pero creemos que contar con un estudio de prevalencia permitirá tener una panorámica local del problema y sensibilizar tanto al personal médico como a las autoridades de salud en la necesidad de ir dando los primeros pasos para contar con este tipo de herramientas diagnósticas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la frecuencia de la mutación del receptor del factor de crecimiento epidérmico en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP), atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez de Enero 2015 a Diciembre 2016?

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la mutación del receptor del factor de crecimiento epidérmico en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP), atendidos en el Servicio de Neumología del Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez de Enero 2015 a Diciembre 2016.

Objetivos específicos

1. Identificar las características sociodemográficas de los casos en estudio.
2. Estimar la frecuencia de mutaciones del receptor para factor de crecimiento epidérmico (EGFR), en la población de pacientes con CPCNP en estudio.
3. Establecer la frecuencia de los distintos subtipos específicos de las mutaciones del receptor para factor de crecimiento epidérmico (EGFR), en la población en estudio.
4. Describir la frecuencia de la mutación del receptor para factor de crecimiento epidérmico (EGFR), según hábito de fumado, sexo, estadio tumoral, tipo histológico y etnia de los pacientes.

MARCO TEÓRICO

Cáncer de pulmón

Epidemiología

El cáncer de pulmón es un serio problema de salud, el cual causa >1.8 millones de nuevos diagnósticos de cáncer en el año, comprendiendo el 13% de los diagnósticos nuevos de cáncer y una mortalidad de aproximadamente 1.4 millones con un 18% de todas las neoplasias.[21]

De acuerdo con las estadísticas más recientemente publicadas, sólo en Estados Unidos se diagnostican más de 219.000 casos cada año. En 2010 fue el segundo tumor en incidencia tanto en varones como en mujeres (por detrás del cáncer de próstata y del de mama, respectivamente). La incidencia ya es similar en ambos sexos y está en torno al 15% en varones (116.090 casos) y al 14% en mujeres (103.350 casos). Es un tumor cuya letalidad es muy elevada, ya que la tasa de supervivencia relativa a 5 años no supera el 10% en la mayoría de países, y por ello globalmente se considera que las cifras de mortalidad son cercanas a las de incidencia. En Estados Unidos es la primera causa de muerte por cáncer en ambos sexos, con unas cifras del 30% en varones (88.900 pacientes) y del 26% en mujeres (70.490)[22]. En cuanto a las cifras en Europa, en el año 2008 se diagnosticaron 3,2 millones de casos nuevos de cáncer y fallecieron 1,7 millones de personas por esta causa [23, 24].

La Tasa de supervivencia relativa a 5 años en EEUU para el periodo 2001-2007 era del 16.3% el cual era para 1995-1997 de 12.3%. La supervivencia a 5 años depende del estado al momento del diagnóstico siendo de 54% para enfermedad localmente avanzado, de 24% para enfermedad regional y de 4% para enfermedad a distancia. Las características asociadas a peor pronóstico incluyen edad avanzada, sexo masculino y Afro-Americanos [21].

Factores de riesgo

El principal factor de riesgo para desarrollar cáncer de pulmón es el tabaquismo el cual está relacionado en un 80-90% de los casos, teniendo estos 20 veces más riesgo de desarrollarlo que los que no fuman, este ocurre sobre los 20 años de fumado. Se estima que entre 5-15% de los hombres y 15-50% de las mujeres diagnosticadas de cáncer de pulmón en el mundo son no fumadores. Entre los factores etiológicos asociados a CP en no fumadores están [17, 25, 26]:

- Exposición ambiental al humo de tabaco: Esta se reportó por primera vez hace más de 30 años siendo este de 35 y 25% en hombres y mujeres respectivamente en comparación con los no expuestos. El estudio EPIC (European Prospective into Cáncer and Nutrición) en el que incluyó 50,000 pacientes de 10 países europeos entre 1993 y 1998, siendo el riesgo relativo para desarrollar cáncer de 1.34%, para los exfumadores de 2.32% y para los no fumadores de 1.05%, el riesgo fue mayor para los hombres y aquel que tenía lugar en el domicilio o trabajo.
- Exposición a humos de combustión domestica: En un estudio de casos y controles realizado en Asia con más de 672 mujeres diagnósticadas de cáncer de pulmón (la mayoría no fumadoras) y con 735 controles se identificó el humo de aceite de colza como un factor que aumentaba el riesgo, cocinar más de 30 veces a la semana aumentaba el riesgo, igualmente la exposición a humo de carbón; El riesgo relativo fue de 1.5% al usar estufa doméstica.
- Suceptibilidad Genética o hereditaria: Existe evidencia que las tasas de CP son mayores en aquellos con antecedentes familiares sean fumadores o no. La base de datos son el registro familiar de Utah con más de 125,000 individuos y el registro Sueco del cáncer con más 1,200,000 casos, es riesgo relativo que arrojan es de 2.55% y 1.5% respectivamente cuando existe un familiar de primer grado, comparados con el Ca. de mama (1.5%) y colon (1.9%). Los genes se sitúan en mutaciones germinales de TP53 presentes en familias con el síndrome de Li-Fraumeni, línea germinal de

mutaciones del receptor EFGR y las variantes genéticas polimórficas de la enzima CYP1A1 (Exón 7) que participa en la metabolización de los hidrocarburos aromáticos policíclicos y gen GSTM1 (Gluthatione M Transferase M1), Locus 15q25 y 5q25.

- Exposición Profesional: Gas Radón, Asbesto(RR:3.60%)
- Factores Hormonales: Papel de los estrógenos en la angiogénesis y vías de señalización así como crecimiento y diferenciación celular.
- Enfermedades pulmonares previas: Asma, neumonía, fibrosis pulmonar idiopática o tuberculosis tienen un riesgo aumentado en el desarrollo de CP.
- Virus oncogénicos: El que más se ha relacionado Virus de Papiloma Humano (VPH) serotipo 16/18 en más del 50% de las muestras con CP y VIH/SIDA.

Manifestaciones Clínicas

Síntomas por afectación pulmonar local[17, 21, 25-28]:

Síntomas	Presencia al diagnóstico
Tos	45-75%
Disnea	40-60%
Pérdida de peso	20-70%
Dolor torácico	30-45%
Hemoptisis	25-35%
Dolor óseo	6-25%
Fatiga	0-20%
Disfagia	0-2%
Estridor/Sibilancias	0-2%
Ninguno	2-5%

Síntomas por afectación locorregional torácica[17, 21, 25-28]:

Disfonía: Se produce por afectación al nervio laríngeo recurrente izquierdo por invasión al cayado aórtico de tumores traqueales.

Parálisis del nervio frénico: Puede ser infiltrado por adenopatías o masas pulmonares a través de su recorrido.

Disfagia: Por compresión extrínseca del esófago por adenomegalias.

Estridor: Compromiso de la luz de la tráquea.

Síndrome de vena cava superior: Obstrucción por adenopatías paratraqueales derechas o tumores en el lóbulo superior derecho.

Derrame pleural: se presenta en el 15% al diagnóstico y no debe atribuirse a la neoplasia sin antes estudiarse.

Derrame pericárdico: Aparece en el 5-10% de los pacientes.

Síndrome de Pancoast: Ocurre cuando un tumor localizado en el ápex pulmonar invade estructuras adyacentes

Linfangitis Carcinomatosa: Se caracteriza por disnea tos e hipoxia e infiltrados pulmonares.

Metástasis: Cerebral, ósea, hepática, suprarrenal.

Síndrome paraneoplásicos: Hiponatremia, anemia, LES, Vasculitis, síndrome de Eaton-Lambert, neuropatía, etc.

Estadía de del CP según el TNM

T	Tumor Primario
Tx	Tumor primario no evaluado o tumor primario demostrado por la presencia de células tumorales en esputo o lavado bronquial pero no visualizado por imagen ni broncoscopía
T0	Sin evidencia de tumor primario
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor ≤ 3 cm en su diámetro mayor, rodeado de pulmón o pleura visceral, sin evidencia broncoscópica de invasión proximal al bronquio lobar T1a: Tumor ≤ 2 cm T1b: Tumor mayor a 2cm
T2	Tumor mayor a 3cm pero ≤ 7 cm ó tumor con cualquiera de las siguientes características: afecta a bronquio principal a 2 ó más cm de la Carina, invade pleura visceral, presenta atelectasias o pneumonitis obstructiva que alcanza la zona hilar pero no afecta todo el pulmón. T2a: Tumor mayor de 3cm pero \leq a 5cm T2b: Tumor mayor de 5cm
T3	Tumor > 7 cm ó con alguna de las siguientes características: invasión de pared torácica, diafragma o pericardio; afectación de bronquio principal a < 2 cm de Carina pero sin invadirla; o presenta atelectasias que afecta a todo el pulmón o nódulos tumorales en el mismo lóbulo.
T4	Tumor de cualquier tamaño que invade: Mediastino, corazón, grandes vasos, tráquea, nervio laríngeo recurrente, esófago, cuerpo vertebral, carina; nódulos pulmonares en el mismo pulmón
N	Nódulos linfáticos regionales
Nx	Ganglios linfáticos regionales no evaluados
N0	Sin metástasis a los ganglios regionales
N1	Metástasis a los ganglios regionales ipsilaterales peribronquiales o hiliares y ganglios intrapulmonares incluida la afectación por invasión directa
N2	Metástasis a los ganglios mediastínicos ipsilaterales o subcarinales
N3	Metástasis en mediastino contralateral, hilio contralateral, escalenos ipsilaterales o contralaterales o en ganglio supraclaviculares
M	Metástasis a distancia

Mx	Afectación a distancia no evaluable
M0	Sin metástasis a distancia
M1	Presencia de metástasis a distancia M1a: Nódulos pulmonares en el pulmón contralateral o afectación pleural o pericárdica. M1b: Mets a distancia.

Estadíos

Estadíos	T	N	M
Carcinoma oculto	Tx	N0	M0
0	Tis	N0	M0
Ia	T1a-T1b	N0	M0
Ib	T2a	N0	M0
IIa	T2a	N0	M0
	T1a-T2a	N1	M0
IIb	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIa	T1a-T3	N2	M0
	T3-T4	N1	M0
	T4	N0	M0
IIIb	T1a-T4	N3	M0
	T4	N2	M0
IVa	Cualquier T	Cualquier N	M1a
IVb	Cualquier T	Cualquier N	M1b

Tratamiento

Cirugía

La resección Quirúrgica es la opción terapéutica con mayores tasas de curación en los pacientes estadíos I y II, lo cual es necesaria una valoración multidisciplinaria y en aquellos pacientes inoperables es una opción la cirugía mínimamente invasiva y la radioterapia estereotáctica.

Radioterapia

Es usada en pacientes con enfermedad localizada o localmente avanzada como tratamiento paliativo; existe radioterapia estereotáctica y con intención radical en aquellos inoperables o que no aceptan la cirugía; quimiorradioterapia combinada se puede indicar en aquellos pacientes con enfermedad localmente avanzada estadio II-III considerados inoperables.

Quimioterapia perioperatoria

En pacientes con estadios IIa-IIb-IIIa y en aquellos estadios Ib con tumores de gran tamaño, en el estudio IALT(International Adjuvant Lung Cancer Trial) se reportó un aumento en la supervivencia global estadísticamente significativa con el uso de QT adyuvante basada en cisplatino en el cual se reclutaron 1867 pacientes comparados con aquellos tratados con placebo encontrándose una supervivencia a los cinco años de 45% vs 40% ($p<0.03\%$) y una mayor tasa de supervivencia libre de progresión a cinco años 39% vs 34% ($p<0.03\%$). En el estudio NCIC y ANITA se valoró la eficacia de Cisplatino + vinorelbina frente a observación en pacientes con CP microcítico resecaado se observó un significativo aumento de la supervivencia global (94 vs 73 meses) $p=0.04\%$ y la supervivencia libre de recaída (no alcanzada vs 47 meses) $p<0.01\%$. En el estudio CALBG 9633 se valoró el uso de QT adyuvante se incluyeron 344 pacientes que fueron aleatorizados con carboplatino + paclitaxel con un seguimiento a seis años fueron negativos en pacientes posoperatorios estadios Ib.

Terapias moleculares

Bevacizumab: Es un anticuerpo monoclonal que se une al factor de crecimiento del endotelio vascular bloqueando la activación y angiogénesis tumoral, en el estudio ECOG se incluyeron 848 pacientes los que fueron distribuidos en dos grupos, el primer grupo recibió carboplatino + paclitaxel y el segundo grupo

carboplatino + paclitaxel + bevacizumab la supervivencia osciló entre 10.3 meses vs 12.3 meses respectivamente.

Erlotinib: Es una pequeña molécula con actividad inhibitoria de la actividad TK del EGFR. Está aprobado en segunda y tercera línea de tratamiento. Al igual Gefitinib y afatinib han mostrado superioridad QT de primera línea en pacientes con CP avanzado.

- Terapia con Inhibidores del EGFR
 - Existen cuatro mecanismos terapéuticos potenciales:
 1. Conjugados Ligandos-Toxinas e Inmuno-Toxinas
 2. Estrategias Antisentido
 3. Anticuerpos Monoclonales
 4. Inhibidores de la Tirosin-Kinasa.(EGFR-TKI)

Receptor del Factor de crecimiento epidérmico (EGFR)

Definición

Es una glucoproteína transmembrana encontradas inicialmente en células de origen epitelial. Es miembro de una familia de receptores de factores de crecimiento con actividad Tirosin-Kinasa. La unión de ligandos al receptor del factor de crecimiento desencadena una serie de respuestas celulares que eventualmente llevan a la proliferación celular. Estos “Vías de señalización intracelulares” son ahora el área principal de investigación en oncología ya que ellos participan en varios sistemas moleculares y mecanismos de carcinogénesis y progresión tumoral, fue uno de los genes tempranamente identificado como proto-oncogen: la versión normal de un oncogén. [6, 9]

Biología del EGFR

Este gen codifica 26 exones y se traduce en una cadena polipeptídica de transmembrana de 1186 aminoácidos (masa molecular 170 kDa). Es el arquetipo de una familia de receptores Tirosin-Kinasa que comprenden 4 subtipos: EGF-R, HER2, HER3 y HER4.[6, 9, 29]

La estructura del EGFR está dividida en tres dominios con distintas funciones[6, 9, 29]:

- Dominio extracelular, de unión al ligando
- Dominio de transmembrana (anclado a la membrana)
- Dominio citoplásmico Tirosin-Kinasa (transducción de señales)

Un número de ligandos interactúan con el dominio extracelular de la familia de receptores, reflejando el amplio rango de procesos celulares en los cuales este receptor está involucrado[6, 9, 29].

Fisiología del EGFR

El primer rol notado para el ligando EGF (factor de crecimiento epidérmico) y su receptor (EGFR) fue la maduración de tejidos epiteliales durante la embriogénesis (apertura ocular precoz y erupción dentaria fueron observadas bajo inyección de EGF). En el adulto, juega un rol en la reparación de órganos y curación de heridas. Parece jugar un rol fundamental en el tracto urinario[6, 9, 29].

En todas esas situaciones, la proliferación celular parece ser un común denominador. Además, la motilidad celular dentro de la matriz de tejidos sólidos así como la angiogénesis son también estimulados por el EGFR, contribuyendo a la organogénesis[6, 9, 29].

Los ligandos inducen activación de EGFR iniciando una cascada de señales que activan genes e inducen respuestas celulares como: progresión del ciclo celular o diferenciación. La activación aberrante de esta vía de señales, críticamente regulada, viene a contribuir en muchos procesos de la carcinogénesis:

proliferación celular aumentada, migración, evasión de la apoptosis, invasión tumoral y metástasis[6, 9, 29].

Todos estos receptores de transmembrana contienen una actividad Tirosin-Kinasa intrínseca que modifican los residuos de tirosina del receptor y desencadenan una cascada de señales moleculares a nivel intracelular. La actividad quinasa es estimulada cuando los factores de crecimiento se unen a la familia de receptores.

Un número de diferentes ligandos que interactúan con miembros de la familia EGFR han sido identificados, de ellos el Factor de Crecimiento Transformante Alfa (TGF α) es el más ampliamente expresado en humanos, TGF- α interactúa específicamente con el EGF-R[6, 9, 29].

La activación de EGF-R en tumores puede ocurrir a través de diferentes mecanismos que afecten EGFR y sus ligandos. El más prevalente de esos mecanismos en carcinomas humanos es la sobreexpresión del EGF-R normal, debido a una amplificación génica o anomalías transcripcionales, y una sobreproducción autocrina de EGF o TGF- α . Además de los mecanismos que resultan en una expresión incrementada del EGFR, cambios oncogénicos en la actividad del EGF-R pueden también ocurrir por mutaciones que activan el receptor en ausencia de unión a ligandos (activación constitutiva).

La estimulación de EFGR[6, 9, 29]:

- Incrementa la proliferación celular
- Promueve la angiogénesis
- Disminuye la apoptosis
- Facilita la invasión celular y la motilidad
- Incrementa la adhesión
- Está involucrado en resistencia a las drogas
- Está involucrado en la resistencia endocrina en tumores hormonodependientes.

La transducción de señales en el EGFR ocurre por un proceso secuencial y de múltiples pasos, iniciando en las células normales por la interacción entre el receptor y su ligando. El ligando se une al dominio extracelular induciendo en los receptores su dimerización. Esta dimerización puede ocurrir entre dos moléculas del mismo receptor (homodimerización) o entre miembros diferentes de la familia (heterodimerización) y activan el dominio protein quinasa intracelular de cada receptor para los residuos de tirosina fosforilados cruzados en la otra molécula EGF-R. Los residuos fosforilados actúan como sitios de unión para proteínas adaptadoras y sustratos adicionales para Tirosin Kinasas, entonces un ensamble transitorio en la vía de transducciones de señales ocurre en el citoplasma[6, 9, 29].

Varios caminos de señales intracelulares contribuyen a múltiples respuestas biológicas, por ejemplo, la cascada de señales Ras/Map quinasa estimula la división celular así como la migración y juega un rol altamente significativo en la carcinogénesis[6, 9, 29].

El gen que codifica EGF-R, C-erb2, fue el primer proto-oncogen identificado sin una función oncogenica conocida. La activación de EGF-R en tumores puede ocurrir a través de diferentes mecanismos que afecten EGFR y sus ligandos. El más prevalente de esos mecanismos en carcinomas humanos es la sobreexpresión del EGF-R normal, debido a una amplificación génica o anomalías transcripcionales, y una sobreproducción autocrina de EGF o TGF- α . Además de los mecanismos que resultan en una expresión incrementada del EGFR, cambios oncogénicos en la actividad del EGF-R pueden también ocurrir por mutaciones que activan el receptor en ausencia de unión a ligandos (activación constitutiva)[6, 9, 29].

EGFR y Cáncer

La transducción de señales del EGFR impacta en muchos aspectos de la biología tumoral. La activación de EGFR ha mostrado que resalta el proceso de respuesta de crecimiento y progresión tumoral, incluyendo la promoción de la proliferación,

angiogénesis y la capacidad de invasión y metástasis, así como la inhibición de la apoptosis. La expresión de EGFR en tumores ha sido correlacionada con progresión de enfermedad, pobre sobrevida, y mala respuesta al tratamiento, y el desarrollo de resistencia a los agentes citotóxicos. Altos niveles de EGFR[7, 30, 31].

Han sido observados en una variedad de tumores, incluyendo próstata, mama, gástrico, colorrectal, y ovario. Sin embargo, mecanismos diferentes a la expresión de EGFR afectan las señales del EGFR. Por ejemplo, mutaciones en el EGFR han sido observados en algunos tumores; la mas común mutación es EGFRvIII, el que carece de un dominio externo de unión a ligando y tiene una activación tirosin quinasa constitutiva, aunque atenuada. EGFRvIII esta comúnmente sobre expresado como resultado de amplificación génica y ha sido identificada en cáncer de cerebro, pulmón, mama, próstata y estómago, sin haber aun sido halladas en células no malignas[7, 30, 31].

Porcentaje de expresión de EGFR en las distintas Neoplasias

Neoplasia	Sobreexpresión del EGFR (%)
Cabeza y Cuello	80-100
Esófago	35
Gástrico	4-38
Colon	25-77
Pulmón	45-70
Pancreático	30-50
Renal	50-90
Mama	14-91
Ovario	35-70
Vejiga	>50
Próstata	40-80
Cuello uterino	50-70

Determinación de mutaciones del EGFR.

Técnicas

En la actualidad existen diversas técnicas de laboratorio que permiten el análisis de mutaciones en el gen EGFR, si bien la mayoría de ellas se centran en procesos basados en la amplificación del ADN utilizando PCR. En la mayoría de laboratorios donde actualmente se realizan las determinaciones del EGFR, las técnicas utilizadas son las siguientes: secuenciación automática, Scorpion Amplification Refractory Mutation System (SARMS), PNA-LNA clamp y Pirosecuenciación. Existen otras formas de llevar a cabo estos análisis, como son plataformas Sequenom® basadas en tecnología «MassArray», e incluso otras plataformas más sofisticadas, pero la realidad actual es que la gran mayoría del mercado mundial utiliza las cuatro técnicas enumeradas anteriormente. Como regla fundamental, antes de tomar la decisión de qué técnica/plataforma se va a utilizar en el laboratorio para el análisis de mutaciones se debe plantear de qué material y recursos técnicos y de personal se dispone. A partir de esta decisión, se establecerá y diseñará un protocolo adecuado y se validará dentro del programa de aseguramiento de la calidad del laboratorio, estableciéndose los criterios. A continuación detallaremos algunos aspectos de cada una de las cuatro técnicas, destacando los puntos más importantes que considerar [8, 19, 29, 30, 32]:

Secuenciación automática: De todas las técnicas, ésta es la que tiene menor sensibilidad, pero al mismo tiempo presenta varias ventajas sobre las demás, a destacar[8, 19, 29, 30, 32]:

- Es de fácil acceso en muchos de los laboratorios y el personal de laboratorio suele tener experiencia en este tipo de análisis.
- Permite conocer con exactitud todas las mutaciones que existen en el gen, ya que se dispone de las secuencias completas de cada zona amplificada[8, 19, 29, 30, 32].

Para aumentar al máximo la sensibilidad, es necesario macro o microdisecar las muestras sujeto de análisis, de forma que al menos el 80% de las células deben

ser de origen tumoral. De esta forma, nos aseguramos que el ADN sea mayoritariamente tumoral, disminuyendo el porcentaje de falsos negativos. Es altamente recomendable utilizar doble secuenciación, es decir, hacer la reacción de secuenciación tanto de forma directa como invertida (lo que se conoce como secuenciación en forward y reverse), para lo que es necesario disponer de un secuenciador automático. Para la lectura de las secuencias pueden utilizarse programas informáticos que detectan automáticamente cualquier cambio en la pauta de lectura a partir de una secuencia consenso o wild type, aunque debido a la sensibilidad de esta técnica se recomienda hacer un análisis manual de las secuencias. De esta forma se podrán detectar algunas mutaciones que de forma automática no se detectarían, y más si tomamos como límite de heterocigosidad el 30%, como suele hacerse de forma estándar para la secuenciación automática[8, 19, 29, 30, 32].

Scorpion Amplification Refractory Mutation System (SARMS): Se basa en la combinación de dos técnicas: las sondas Scorpions y una amplificación refractaria para la detección de mutaciones. El procedimiento de laboratorio requiere un equipo de PCR capaz de detectar en tiempo real la reacción con PCR en función de la fluorescencia que se va generando en cada ciclo con el uso de sondas fluorescentes. Esta técnica tiene la ventaja de su alta sensibilidad (2-5% según las series y las mutaciones que detectar). Precisa un equipo de PCR en tiempo real. Esta técnica permite solamente detectar las mutaciones específicas para las que está diseñado el ensayo. Actualmente, existe un kit comercial de la compañía DxS (Qiagen) para la detección de las mutaciones más frecuentes[8, 19, 29, 30, 32].

PNA-LNA clamp: Esta técnica se basa en una reacción de PCR junto a un oligotipo PNA (ácido nucleico peptídico) o LNA (ácido nucleico bloqueado) diseñado sobre la secuencia nativa, lo cual favorece la detección de las secuencias no bloqueadas o inhibidas por este tipo de cebador, incrementando la sensibilidad en la detección de las mutaciones para las cuales está diseñado el ensayo. La ventaja clara es el incremento en la sensibilidad de la técnica. Sin embargo, como contrapartida, es una técnica dirigida a mutaciones concretas y

requiere experiencia en el procedimiento. Es necesario disponer de un equipo de PCR en tiempo real[8, 19, 29, 30, 32].

Pirosecuenciación: Constituye un método de secuenciación de ADN basado en el principio de la secuenciación por síntesis. A diferencia del procedimiento de Sanger, donde la terminación de la cadena se lleva a cabo con la incorporación de dideoxinucleótidos, esta se basa en la liberación de pirofosfato cuando se produce la incorporación de un nucleótido mediante la ADN polimerasa[8, 19, 29, 30, 32].

En relación con los estudios inmunohistoquímicos, se estima que entre el 45 y el 60% de los adenocarcinoma de pulmón pueden presentar grados diversos de expresión del EGFR[8, 19, 29, 30, 32].

En el año 2004, grupos independientes de investigadores identificaron mutaciones somáticas en el dominio de la tirosina cinasa del gen EGFR en pacientes con respuesta clínica a gefitinib. Estas mutaciones dan lugar a un incremento de la actividad del factor de crecimiento y confieren susceptibilidad al inhibidor porque conllevan cambios conformacionales que incrementan la sensibilidad de las células tumorales a los inhibidores. En otras palabras, estas mutaciones convierten a la célula mutada en «adicta» a las señales del EGFR. Cuando se administra un inhibidor, la activación del EGFR, necesaria para la supervivencia celular, se interrumpe, lo que provoca la muerte celular. Las mutaciones más frecuentes son deleciones in-frame de los nucleótidos 9, 12, 15, 18, o 24 en el exón 19 y mutaciones puntuales CTG/CGG en el exón 21(L858R). Múltiples estudios han analizado de forma retrospectiva el valor de las mutaciones del gen EGFR en pacientes con CPCNP avanzado tratados con gefitinib o erlotinib. En estos estudios se encontró que los pacientes de raza asiática, sexo femenino, histología de adenocarcinoma y no fumadores o fumadores de menos de 100 cigarrillos en total, obtenían mejores tasas de respuesta al utilizar un inhibidor de la tirosina cinasa del EGFR. De forma retrospectiva, parecía que este perfil clínico se correspondía con la presencia de mutaciones activadoras. Así, por ejemplo, en un estudio con gefitinib la tasa de respuestas parciales fue del 64,7% en pacientes con mutación del EGFR comparada con sólo el 13,7% en pacientes sin mutación.

También la supervivencia libre de progresión (SLP) y la SG fueron superiores en los mutados (21,7 frente a 1,8 meses de SLP y 30,5 frente a 6,6 meses de SG). Todo ello generó un gran volumen de información, que, como siempre, debía confirmarse en ensayos prospectivos[8, 19, 29, 30, 32].

DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio

Este estudio se caracterizó por ser observacional, descriptivo, retrospectivo de corte transversal.

Área y periodo de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, el cual atiende aproximadamente a 1374 pacientes oncológicos de forma anual. El estudio se realizó de forma prospectiva en el período comprendido del 01 Enero del 2015 al 31 Diciembre del 2016.

Población y Muestra

Debido a las limitaciones relacionadas la capacidad analítica (de laboratorio), restricciones económicas y a la frecuencia esperada de los casos. Se decidió incluir todos los casos que cumplieren los criterios de selección y que fuesen captados durante el período de estudio. Por lo que se procedió a evaluar todo paciente con cáncer de pulmón de células no pequeñas que fuese siendo diagnósticos a lo largo del período de los estudios. En cada paciente se tomó una muestra de biopsia en una sola ocasión para análisis de mutaciones del recepto para factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y se revisó el expediente en una sola ocasión. Al final del período se incluyeron en el estudio 49 casos. Por tal motivo no hubo necesidad de aplicar ningún procedimiento para determinación del tamaño de la muestra ni procedimiento especial de muestreo.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Edad > 16 años
- Pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón de células no pequeñas
- Con diagnóstico confirmado por patología
- Que cuento con espécimen adecuado para análisis de mutación del receptor del factor de crecimiento epidermoide.

Criterios de exclusión

- Que el análisis de la mutación no se haya podido realizar por problemas con la técnica o con la muestra.
- Pérdida o deterioro de la muestra durante trasportación.

Técnicas y procedimientos para recolectar la información

Determinación de las características sociodemográficas de los casos, presentación clínica e histopatológica del tumor

Una vez seleccionados los casos a estudiar, se procedió a la revisión de expedientes y la recolección de la información llenando una ficha previamente elaborada (instrumento de recolección).

En un primer momento se realizó un diseño de la ficha tomando en cuenta la revisión de la literatura y la opinión de experto, posteriormente se validó la ficha a través de la revisión de 5 expedientes y se procedió a realizar las correcciones y modificaciones correspondientes.

El instrumento final o ficha de recolección estuvo conformado por las siguientes grandes secciones: A) Datos sociodemográficos; B) Exposición a factores de

riesgo; C) Presentación clínica del tumor; y D) Presencia de la mutación del receptor para factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Esta última sección fue llenada a partir del reporte de resultados del análisis de la mutación que se detalla en la siguiente sección. Para ver una descripción de las variables incluidas en la ficha de recolección revisar la sección de listado de variables y operacionalización de las variables.

Determinación de la presencia de la mutación del receptor para factor de crecimiento epidérmico (EGFR).

Muestras de tejido del tumor procedentes de los casos de pacientes seleccionados con tumores de células no pequeñas, fueron enviadas a las instalaciones de *CancerGeneticLaboratories* para análisis de la presencia de mutaciones del receptor para factor de crecimiento epidérmico (EGFR). El análisis de las mutaciones se hizo a través de PCR en tiempo real (reacción en cadena de polimerasa) seguido por pirosecuenciación del ADN aislado de los especímenes de tejidos estudiados. Los productos de PCR fueron sometidos a pirosecuenciación. Se determinó la presencia de la mutación en los exones 18, 19, 20 y 21.

Técnicas y procedimientos para análisis de la información

Creación de base de datos

La información obtenida a través de la aplicación del instrumento fue introducida en una base de datos utilizando el programa SPSS 20.0 versión para Windows (SPSS 2011)

Análisis estadístico

Se estimará la prevalencia general de mutación (total de casos con resultados positivos / Total de casos estudiados) y la prevalencia según subtipo de mutación y subgrupo de población (fumadores vs no fumadores y mujeres vs hombres).

Cada estimación de prevalencia irá acompañada de la estimación de su respectivo intervalo de confianza, aplicando la siguiente fórmula:

$$p - Z \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}} \leq \pi \leq p + Z \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

Donde:

$$p = \text{proporción de la muestra} = \frac{X}{n} = \frac{\text{número de elementos con característica de interés}}{\text{tamaño de la muestra}}$$

π = proporción de la población

Z = valor crítico para la distribución normal estandarizada

n = tamaño de la muestra

Todos los análisis estadísticos se hicieron a través del programa SPSS 22.0

Listado de variables según objetivo

Objetivo #1:

- Edad
- Sexo
- Ocupación
- Procedencia (municipio)
- Área de procedencia
- Etnia

Objetivo #2

- Estadio
- Tipo histológico

Objetivo # 3

- Presencia de la mutación

Objetivo #4

- Sub-tipo de la mutación (exón)

Objetivo # 5 (cruce de variables)

- Presencia de la mutación / Sexo
- Presencia de la mutación / Hábito de fumado
- Presencia de la mutación / Tipo histológico
- Presencia de la mutación / Etnia
- Presencia de la mutación / Estadio del tumor

Consideraciones éticas

Durante el diseño y ejecución del trabajo investigativo, así como durante el análisis de la información, se seguirán los principios y recomendaciones de la Declaración de Helsinki para el desarrollo de investigaciones biomédicas. Por otro lado se siguieron las recomendaciones éticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se contó tanto con la autorización de las autoridades del hospital como con la autorización de los pacientes. Los autores de esta tesis declaran no tener ningún conflicto de interés ni académico ni financiero.

Operacionalización de las variables

No.	Variable	Definición	Indicador	Valor / Escala
1	Edad	Periodo de tiempo que ha vivido un individuo desde su nacimiento	Dato registrado en el expediente clínico	<30 31-40 41-50 51-60 61-70 >70
2	Sexo	Características biológicamente determinadas que definen a los seres humanos como hombre o mujer	Dato registrado en el expediente clínico	Femenino Masculino
3	Procedencia	Lugar geográfico donde la persona reside de forma permanente y desarrolla sus actividades familiares y sociales	Dato registrado en el expediente clínico	Municipio de procedencia
4	Área de procedencia	Definido por la localización geográfica	Dato registrado en el expediente clínico	Rural Urbano

		de su vivienda según la densidad poblacional		
5	Ocupación	Actividad laboral del paciente a través de la cual obtiene los ingresos para subsistir	Dato registrado en el expediente clínico	Domestica Oficinista Trabajadores del sector Servicio Mineros Aisladores Conductores Trabajadores del metal Estilistas / Sector de belleza Cocinera Tortilleras Trabajo informal en la calle Otros
6	Etnia	Referido a grupos raciales establecidos en ciertas regiones y que tienen rasgos hereditarios que lo predisponen a ciertas patologías	Dato registrado en el expediente clínico	Caucásica – Americana Caucásica – Europea Asiática Negra Etnias del caribe Nicaragüense Indígena del pacífico Mestizo

7	Hábito de fumado	Consumo habitual de tabaco en forma de cigarrillos u otros medios para el consumo del tabaco	Dato registrado en el expediente	No fumador (nuca) Fumador (pasdo/actual)
8	Estadio del tumor	Clasificación según el grado de invasión que tenga un tumor a los tejidos circundantes	Dato registrado en el expediente clínico	Estadio oculto (escondido) Estadio 0 (carcinoma in situ) Estadio I Estadio II Estadio IIIA Estadio IIIB Estadio IV
9	Tipo histológico	Variedad histológica que se evidencie por extracción de tejido tumoral la que tendría características individuales según la celularidad	Reporte de patología	<ul style="list-style-type: none"> - Carcinoma de células escamosas o epidermoide. - Adenocarcinoma. - Carcinoma de células grandes. - Otros
10	Presencia de la mutación	Glucoproteína transmembrana encontradas inicialmente en células de origen	Reporte de laboratorio	Si No

		epitelial definida por las características individuales y pueden aparecer en células tumorales. Siendo el resultado positivo o negativo		
12	Subtipo de mutación según exón	Sitio en el que se ubica la mutación según su frecuencia	Reporte de laboratorio <ul style="list-style-type: none"> - Cambio del nucleótido - Cambio del aminoácido - Porcentaje por exón 	Exon 18 Exon 19 Exon 20 Exon 21

RESULTADOS

Con respecto a las características sociodemográficas, un total de 10 pacientes (20.4%) tenía menos de 50 años, 24 (49%) tenía entre 51 y 70 años, 15(30.6%) tenía más de 70 años. (Ver cuadro 1).

En cuanto al género un total de 20 pacientes (40.8%) era masculino y 29 (59.2%) era femenino. Según la procedencia un total de 30 (61.2%) pacientes procedía de áreas urbanas y 19 (38.8%) procedía de áreas rurales. El 95.9%(47) era de raza mestiza. El 2% (1) raza negra y el 2% (1) raza caucásica (un pacientes con ascendencia alemana) (ver cuadro 2).

Del total de pacientes investigados el 36.7% (18), no había fumado nunca, un 49% (24) había fumado en el pasado y un 14.3% (7) fumaba actualmente. (Ver cuadro 2).

Con respecto al estadio clínico del tumor, el más frecuente al momento del diagnóstico fue estadio IV con 73.5% (36) y estadio IIIB con un 18.4% (9). (Ver cuadro 3).

El tipo histológico más frecuente fue el adenocarcinoma con el 61.2% (30) y el carcinoma epidermoide con el 30.6% (15). (Ver cuadro 3)

Del total de pacientes en quienes se les realizó análisis para detección de la mutación, en 10 casos se obtuvo un resultado positivo, representando el 20.4%. De estos 10 casos, el axón más frecuente en el que se reporta la mutación fue el Exon 18 con el 40% (4), seguido del 21 con el 30% (3) y el 19 con el 10% (2). (ver cuadro 4).

La prevalencia estimada de la mutación fue 20.4% (IC 95% 11.5 – 33.6%). La prevalencia en mujeres fue de 27.6% (IC 95% 14.7 – 45.7). La prevalencia en hombres fue de 10% (IC95% de 23.3-30%).

La prevalencia en no fumadores fue de 38.9% (IC 95% 20.3 – 61.4). La prevalencia en fumadores fue de 9.7% (IC95% de 3.4 -24.9%).

DISCUSIÓN

El presente estudio es el primero en nuestra institución abordando esta temática y hasta donde llega nuestro conocimiento es el primero que se realiza en el país.

El tratamiento individualizado del cáncer de pulmón con terapias dirigidas (dianas) en el subgrupo de pacientes con mutaciones de EGFR ha conllevado un beneficio en supervivencia y calidad de vida de este subgrupo de pacientes, no obtenido hasta el momento con tratamiento quimioterápicos modernos. Esto pone de relevancia la importancia de poder determinar dichas alteraciones para ofrecer a los pacientes el mejor tratamiento disponible para cada caso. (13)

Los resultados del presente estudio representan un paso importante en la identificación de la presencia de estas mutaciones en nuestra población.

En el presente estudio se observó que las mujeres con cáncer de pulmón de células pequeñas presentaron 3 veces mayor prevalencia de la mutación del gen del receptor del factor de crecimiento epidermoide en comparación con los varones. Este hallazgo se corresponde con lo reportado Kosaka y colaboradores (2004) que indican que en todas las regiones la frecuencia de mutaciones es más alta en mujeres comparada con varones: Europa, 22% versus 9%; Asia-Pacífico 60% versus 37%; India subcontinental, 31% versus 23%; África, 48% versus 8%; and Norte América 28% versus 19%.(10) A pesar de pareciese consenso que dicha mutación es más frecuente en mujeres hay algunos estudios que tiene hallazgos diferentes, por ejemplo Midha (2015) y colaboradores señalan que en un estudio reportado en Bangladesh, se encontró una frecuencia más alta en hombres (26% en hombres versus 14%, en mujeres). (11)

En el presente estudio la mutación fue más prevalentes en no fumadores. Las personas con cáncer de pulmón de células no pequeñas tenía hasta 2 veces

mayor prevalencia de dicha mutación en comparación con las personas fumadores. En el mismo estudio reportado por Kota y colaboradores (2015) refieren frecuencias más alta en subpoblaciones de no fumadores en comparación con no fumadores: Europa, 35% versus 8%; Asia-Pacífico, 64% versus 33%; India subcontinental, 32% versus 17%; África, 41% versus 6%; and Norte América, 47% versus 14%. (12)

En esta investigación no se observó mayor prevalencia en los pacientes caucásicos. Sin embargo los resultados reportados en la literatura internacional con respecto a la etnia hay una gran variabilidad de resultados, por lo que aunque sea significativo la etnia caucásica pareciese que no es la única etnia con riesgo importante de presentar dicha mutación. Por ejemplo, en la región de Sudamérica, hay gran variación entre países con respecto a la frecuencia de mutaciones (36% [n=250/686; 5 estudios; rango 9%-67%])(12) Kota y colaboradores (2015) señalan que en la región Asiática tiene la más alta frecuencia de 47% (n=5958/12819; 87 estudios; rango 20%-76%). En la India se reporta una frecuencia de 26% [n=278/1090; 5 estudios; rango 22%-27%]). (12)

Australia, una población con predominio caucásico presenta una frecuencia aproximada de mutación en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas de 12% [n=69/570; 4 estudios; rango 7%-36%])

Con respecto al tipo histológico, todos los estudios publicados hasta la fecha coinciden en que el adenocarcinoma es el tipo histológico con mayor prevalencia de la mutación. Silverman y colaboradores (2013)¹² reportan que el los pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas de tipo adenocarcinoma tiene 3 veces más riesgo de presentar la mutación del gen del receptor del factor epidérmico. En este estudio se observó que los pacientes con tipo adenocarcinoma tenía 5 veces mayor prevalencia de esta mutación.

De forma general la prevalencia de la mutación fue de 20.4%, lo cual se encuentra en el mismo rango de los países con mayor prevalencia de la mutación. El exón más afectados fue el 18 (41%) y el 21 (24%).

De forma general se puede decir que los resultados de este estudio son de gran utilidad al personal del ámbito médico ya que permitió identificar los aspectos en donde se debe realizar una mejor evaluación diagnóstica de los pacientes con cáncer de pulmón con relación al riesgo de presentar este tipo de mutaciones, de estos la mayoría se encuentra en estadio IV a los que puede dárseles la terapéutica adecuada y mejorar su pronóstico de vida.

Es importante que a todo los pacientes con cáncer de pulmón se le indique identificación de la mutación haciendo énfasis en los pacientes con estadio avanzado (IV).

CONCLUSIONES

1. De forma general la prevalencia de la mutación fue de 20.4%, lo cual se encuentra en el mismo rango de los países con mayor prevalencia de la mutación.
2. El exón más afectados fue el 18 (41%) y el 21 (24%). Este tipo de mutaciones son identificada por piro secuenciación.

RECOMENDACIONES

Al MINSA:

- ✓ Basado en los resultados del estudio, recomendamos no solo enviar la determinación de la mutación en pacientes en estadios avanzado, como convencionalmente se ha recomendado.
- ✓ Es de suma importancia que a través de futuras evaluaciones se profundicen en los aspectos en donde se debe realizar una mejor evaluación diagnóstica de los pacientes con cáncer de pulmón con relación al riesgo de presentar este tipo de mutaciones, que a su vez permitan diseñar herramientas necesarias para ofrecer una consejería oportuna a los pacientes en relación a probables alternativas terapéuticas.
- ✓ Debido a la poca información a nivel de Nicaragua sobre esta temática, recomendamos a la comunidad académica y científica impulsar nuevos proyectos de investigación mejorando la información que se maneja al respecto y dando a conocer a las autoridades de salud y a la misma población los resultados de la presente investigación y de futuras investigaciones.

Al Servicio de Cirugía:

- ✓ Extraer la cantidad de tejido adecuado para estudio de la mutación.

Al Servicio de Patología:

- ✓ Diseñar estrategias que permitan mantener los tejidos de biopsias pulmonares en condiciones adecuadas para su estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Globocan I: **Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012.** 2012. *Reference Source* 2012.
2. Cheng T-YD, Cramb SM, Baade PD, Youlden DR, Nwogu C, Reid ME: **The International Epidemiology of Lung Cancer: Latest Trends, Disparities, and Tumor Characteristics.** *Journal of Thoracic Oncology* 2016, **11**(10):1653-1671.
3. Stewart B, Wild CP: **World cancer report 2014.** *World* 2016.
4. Torre LA, Siegel RL, Jemal A: **Lung cancer statistics.** In: *Lung Cancer and Personalized Medicine.* edn.: Springer; 2016: 1-19.
5. Mao Y, Yang D, He J, Krasna MJ: **Epidemiology of lung cancer.** *Surgical oncology clinics of North America* 2016, **25**(3):439-445.
6. Causa JE, Vila EH: **Factor de crecimiento epidérmico, innovación y seguridad.** *Medicina Clínica* 2015, **145**(7):305-312.
7. Mitsudomi T, Yatabe Y: **Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development: EGFR gene and cancer.** *FEBS journal* 2010, **277**(2):301-308.
8. Yewale C, Baradia D, Vhora I, Patil S, Misra A: **Epidermal growth factor receptor targeting in cancer: a review of trends and strategies.** *Biomaterials* 2013, **34**(34):8690-8707.
9. Chen J, Zeng F, Forrester SJ, Eguchi S, Zhang M-Z, Harris RC: **Expression and function of the epidermal growth factor receptor in physiology and disease.** *Physiological Reviews* 2016, **96**(3):1025-1069.
10. Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, Kuwano H, Takahashi T, Mitsudomi T: **Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer biological and clinical implications.** *Cancer research* 2004, **64**(24):8919-8923.
11. Kota R, Gundeti S, Gullipalli M, Linga VG, Maddali LS, Digumarti R: **Prevalence and outcome of epidermal growth factor receptor mutations in non-squamous non-small cell lung cancer patients.** *Lung India: official organ of Indian Chest Society* 2015, **32**(6):561.
12. Midha A, Dearden S, McCormack R: **EGFR mutation incidence in non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology: a systematic review and global map by ethnicity (mutMapII).** *American journal of cancer research* 2015, **5**(9):2892.
13. Rosell R, Moran T, Queralt C, Porta R, Cardenal F, Camps C, Majem M, Lopez-Vivanco G, Isla D, Provencio M: **Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer.** *New England Journal of Medicine* 2009, **361**(10):958-967.

14. Tanaka T, Matsuoka M, Sutani A, Gemma A, Maemondo M, Inoue A, Okinaga S, Nagashima M, Oizumi S, Uematsu K: **Frequency of and variables associated with the EGFR mutation and its subtypes.** *International journal of cancer* 2010, **126**(3):651-655.
15. D'Angelo SP, Pietanza MC, Johnson ML, Riely GJ, Miller VA, Sima CS, Zakowski MF, Rusch VW, Ladanyi M, Kris MG: **Incidence of EGFR exon 19 deletions and L858R in tumor specimens from men and cigarette smokers with lung adenocarcinomas.** *Journal of Clinical Oncology* 2011, **29**(15):2066-2070.
16. Gahr S, Stoehr R, Geissinger E, Ficker J, Brueckl W, Gschwendtner A, Gattenloehner S, Fuchs F, Schulz C, Rieker R: **EGFR mutational status in a large series of Caucasian European NSCLC patients: data from daily practice.** *British journal of cancer* 2013, **109**(7):1821-1828.
17. de Groot P, Munden RF: **Lung cancer epidemiology, risk factors, and prevention.** *Radiologic Clinics of North America* 2012, **50**(5):863-876.
18. MINSA: **Estadísticas del Cáncer en Nicaragua.** In. Managua: Ministerio de Salud, República de Nicaragua; 2016.
19. Goffin JR, Zbuk K: **Epidermal growth factor receptor: pathway, therapies, and pipeline.** *Clinical therapeutics* 2013, **35**(9):1282-1303.
20. Ohashi K, Maruvka YE, Michor F, Pao W: **Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor-resistant disease.** *Journal of Clinical Oncology* 2013, **31**(8):1070-1080.
21. Alberg AJ, Brock MV, Ford JG, Samet JM, Spivack SD: **Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines.** *CHEST Journal* 2013, **143**(5_suppl):e1S-e29S.
22. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E: **Cancer statistics, 2010.** *CA: a cancer journal for clinicians* 2010, **60**(5):277-300.
23. Ferlay J, Parkin D, Steliarova-Foucher E: **Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008.** *European journal of cancer* 2010, **46**(4):765-781.
24. La Vecchia C, Bosetti C, Lucchini F, Bertuccio P, Negri E, Boyle P, Levi F: **Cancer mortality in Europe, 2000–2004, and an overview of trends since 1975.** *Annals of Oncology* 2009:mdp530.
25. Moyer VA: **Screening for lung cancer: US Preventive Services Task Force recommendation statement.** *Annals of internal medicine* 2014, **160**(5):330-338.
26. Wender R, Fontham ET, Barrera E, Colditz GA, Church TR, Ettinger DS, Etzioni R, Flowers CR, Scott Gazelle G, Kelsey DK: **American Cancer Society lung cancer screening guidelines.** *CA: a cancer journal for clinicians* 2013, **63**(2):106-117.

27. Bustamante Medina JL, Alvarez Pineda VE, Freire V, Calle M, Chango JJ: **Cáncer de pulmón de células no pequeñas**. 2013.
28. Ettinger DS, Akerley W, Borghaei H, Chang AC, Cheney RT, Chirieac LR, D'amico TA, Demmy TL, Govindan R, Grannis FW: **Non-small cell lung cancer, version 2.2013**. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network* 2013, **11**(6):645-653.
29. Kovacs E, Zorn JA, Huang Y, Barros T, Kuriyan J: **A structural perspective on the regulation of the epidermal growth factor receptor**. *Annual review of biochemistry* 2014, **84**:739-764.
30. Carreón OZ, Mendiola AV, Steider BW, Cruz IS: **El receptor para el factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y su relación con el cáncer**. *Vertientes Revista Especializada en Ciencias de la Salud* 2012, **15**(1):15-25.
31. Hirsch FR, Jänne PA, Eberhardt WE, Cappuzzo F, Thatcher N, Pirker R, Choy H, Kim ES, Paz-Ares L, Gandara DR: **Epidermal growth factor receptor inhibition in lung cancer: status 2012**. *Journal of Thoracic Oncology* 2013, **8**(3):373-384.
32. Siegelin MD, Borczuk AC: **Epidermal growth factor receptor mutations in lung adenocarcinoma**. *Laboratory investigation* 2014, **94**(2):129-137.

ANEXOS

FICHA DE RECOLECCIÓN

Mutación del receptor para factor de crecimiento epidérmico (EGFR)

Número de Ficha: _____ Número de expediente: _____

Nombre: _____

A. CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS

- | | | |
|---|--------------------------|--|
| 1 | Edad | <30- ____
31-40 ____
41-50 ____
51-60 ____
61-70 ____
>70 ____ |
| 2 | Sexo | Femenino__
Masculino____ |
| 3 | Municipio de procedencia | _____ |
| 4 | Área de procedencia | Rural ____
Urbano____ |
| 5 | Ocupación | Domestica ____
Oficinista____
Trabajadores del sector Servicio____
Mineros____
Aisladores____
Conductores____
Trabajadores del metal____
Estilistas / Sector de belleza____
Cocinera____
Tortilleras____
Trabajo informal en la calle____
Otros____ |
| 6 | Etnia | Caucásica – Americana ____ |

Caucásica – Europea _____
Asiática _____
Negra _____
Etnias del caribe Nicaragüense _____
Indígena del pacífico _____
Mestizo _____

B. EXPOSICIÓN A TABACO

7 Consumo de tabaco Fumador (en el pasado/actualmente) _____
No fumador _____

C. PRESENTACIÓN CLÍNICA

8 Estadio del tumor Estadio oculto _____
Estadio 0 (carcinoma in situ) _____
Estadio I _____
Estadio II _____
Estadio IIIA _____
Estadio IIIB _____
Estadio IV _____
No estadiado _____

9 Tipo histológico Carcinoma de células epidermoide o
escamosas. _____
Adenocarcinoma. _____
Carcinoma de células grandes. _____
Otros _____

D. CARACTERÍSTICAS DE LA MUTACIÓN

10 Presencia de la mutación Si _____
No _____
12 Subtipo de mutación según exón Exon 18 _____
Exon 19 _____
Exon 20 _____
Exon 21 _____

Cuadros y gráficos

Cuadro #1: Características sociodemográficas con cáncer de pulmón de células no pequeñas atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el período comprendido entre el 1 de enero del 2015 y el 31 de diciembre del 2016.

		n	%
Edad	≤50	10	20.4
	51-70	24	49.0
	>70	15	30.6
Sexo	Masculino	20	40.8
	Femenino	29	59.2
Procedencia	Urbano	30	61.2
	Rural	19	38.8
Etnia	Caucásica	1	2.0
	Negra	1	2.0
	Mestiza	47	95.9

Fuente: Expediente clínico

Cuadro #2: Frecuencia de factores relacionados con las características sociodemográficas en pacientes con presencia de mutación del receptor para factor de crecimiento epidérmico (casos) casos y pacientes sin la mutación (controles), con cáncer de pulmón de células no pequeñas atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el período comprendido entre el 1 de enero del 2015 y el 31 de diciembre del 2016.

		Pacientes positivos		Pacientes negativos		P*
		n	%	n	%	
Edad	≤50	3	30.0	7	17.9	0.04
	51-70	5	50.0	19	48.8	
	>70	2	20.0	13	33.3	
Sexo	Masculino	2	20.0	18	46.2	0.001
	Femenino	8	80.0	21	53.8	
Procedencia	Urbano	6	60.0	24	61.5	0.34
	Rural	4	40.0	15	38.5	
Etnia	Caucásica	0	0.0	1	2.56	0.002
	Negra	0	0.0	1	2.56	
	Mestiza	9	90.0	37	94.8	
	Otra	1	10.0	0	0.0	

*Prueba de Chi²(χ²)

Fuente: Expediente clínico – Ficha de recolección de la información

Cuadro #3: Consumo de tabaco en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el período comprendido entre el 1 de enero del 2015 y el 31 de diciembre del 2016.

		n	%
Consumo de tabaco	Nunca	18	36.7
	Pasado	24	49.0
	Actualmente	7	14.3

Fuente: Expediente clínico

Cuadro #4: Frecuencia de factores relacionados con los antecedentes patológicos y no patológicos, en pacientes con presencia de mutación del receptor para factor de crecimiento epidérmico (casos) y pacientes sin la mutación (controles), con cáncer de pulmón de células no pequeñas atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el período comprendido entre el 1 de enero del 2015 y el 31 de diciembre del 2016.

		Pacientes positivos		Pacientes negativos		p
		n	%	n	%	
Consumo de tabaco	Nunca	7	70	11	28.2	0.001
	Pasado	2	20	22	56.4	
	Actualmente	1	10	6	15.4	
Exposición ocupacional a humo de leña	Nunca	4	40	13	33.3	0.543
	Pasado	4	40	19	48.7	
	Actualmente	2	20	7	17.9	
Exposición ocupacional a asbesto	Nunca	9	90	39	100.0	0.921
	Pasado	1	10	0	0.0	
	Actualmente	0	0	0	0.0	

*Prueba de Chi²(χ²)

Fuente: Expediente clínico – Ficha de recolección de la información

Cuadro #5: Estadio y tipo histológico en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el período comprendido entre el 1 de enero del 2015 y el 31 de diciembre del 2016.

		n	%
ESTADIO TUMOR	DEL Estadio oculto (escondido)	0	0.0
	Estadio 0 (carcinoma in situ)	0	0.0
	Estadio I	0	0.0
	Estadio II	0	0.0
	Estadio IIIA	4	8.2
	Estadio IIIB	9	18.4
	Estadio IV	36	73.5
TIPO HISTOLÓGICO	Carcinoma de células epidermoide	15	30.6
	Adenocarcinoma	30	61.2
	Carcinoma de células grandes	0	0.0
	Otros	4	8.2

Fuente: Expediente clínico

Cuadro #6: Frecuencia de factores relacionados con las características del tumor, en pacientes con presencia de mutación del receptor para factor de crecimiento epidérmico (casos) y pacientes sin la mutación (controles), con cáncer de pulmón de células no pequeñas atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el período comprendido entre el 1 de enero del 2015 y el 31 de diciembre del 2016.

		Pacientes positivos		Pacientes negativos		P
ESTADIO DEL TUMOR	Estadio oculto (escondido)	0	0.0	0	0	0.732
	Estadio 0 (carcinoma in situ)	0	0.0	0	0.0	
	Estadio I	0	0.0	0	0.0	
	Estadio II	0	0.0	0	0.0	
	Estadio IIIA	1	10.0	3	7.7	
	Estadio IIIB	2	20.0	6	15.4	
	Estadio IV	6	60.0	30	76.9	
	No estadiado	0	0.0	0	0.0	
TIPO HISTOLÓGICO	Carcinoma de células epidermoide	1	10.0	14	35.9	0.001
	Adenocarcinoma	7	70.0	23	59.0	
	Carcinoma de células grandes	0	0.0	0	0.0	
	Otros	2	20.0	2	5.1	

*Prueba de χ^2

Fuente: Expediente clínico – Ficha de recolección de la información

Cuadro #7: Frecuencia de mutación del receptor para factor de crecimiento epidérmico en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el período comprendido entre el 1 de enero del 2015 y el 31 de diciembre del 2016.

		n	%
Prevalencia de la mutación	Positivos	10	20.4%
	Negativos	39	79.6%
Subtipo de mutación según exón	Exon 18	4	40%
	Exon 19	2	20%
	Exon 20	1	10%
	Exon 21	3	30%
	Total	10	100%

Fuente: Expediente clínico

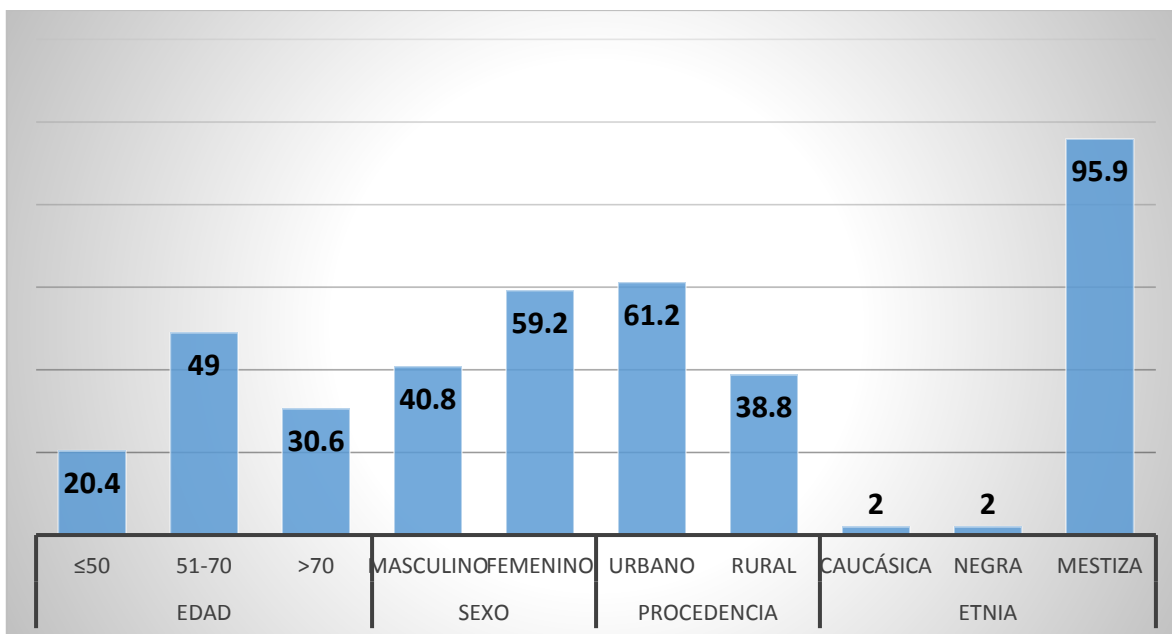
Cuadro #8: Prevalencia de la mutación del receptor para factor de crecimiento epidérmico en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el período comprendido entre el 1 de enero del 2015 y el 31 de diciembre del 2016.

		n	Positivos	Prevalencia	IC 95%	
					Li	Ls
Presencia de la mutación		49	10	20.4	11.5	33.6
SEXO						
	Mujeres	29	8	27.6	14.7	45.7
	Varones	20	2	10.0	2.3	30
HÁBITO DE FUMADO						
	No fumadores	18	7	38.9	20.3	61.4
	Fumadores	31	3	9.7	3.4	24.9

Fuente: Expediente clínico

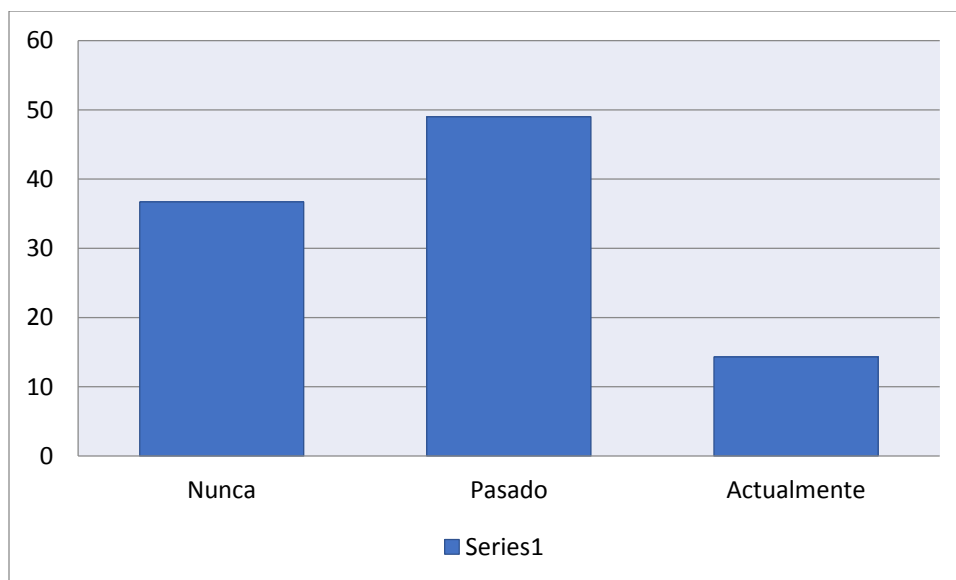
GRÁFICOS

Gráfico #1: Características sociodemográficas con cáncer de pulmón de células no pequeñas atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el período comprendido entre el 1 de enero del 2015 y el 31 de diciembre del 2016.



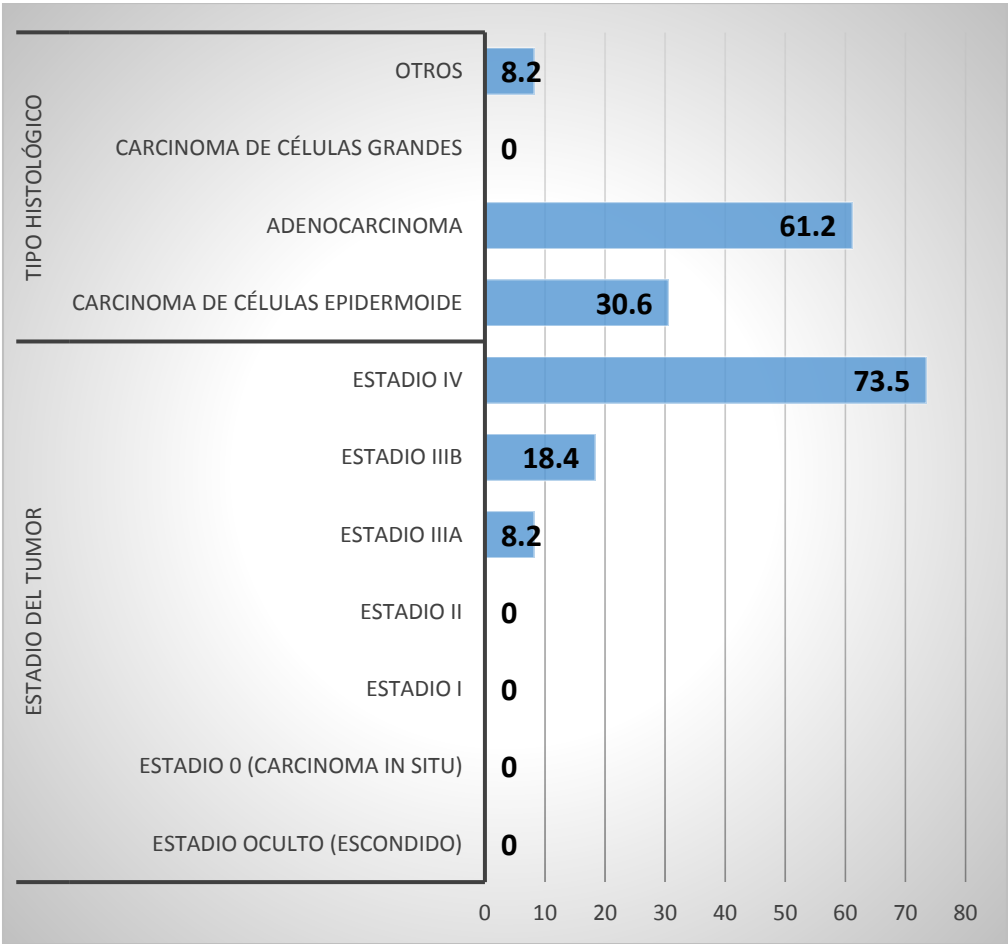
Fuente: Expediente clínico

Gráfico #2: Consumo de tabaco en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el período comprendido entre el 1 de enero del 2015 y el 31 de diciembre del 2016.



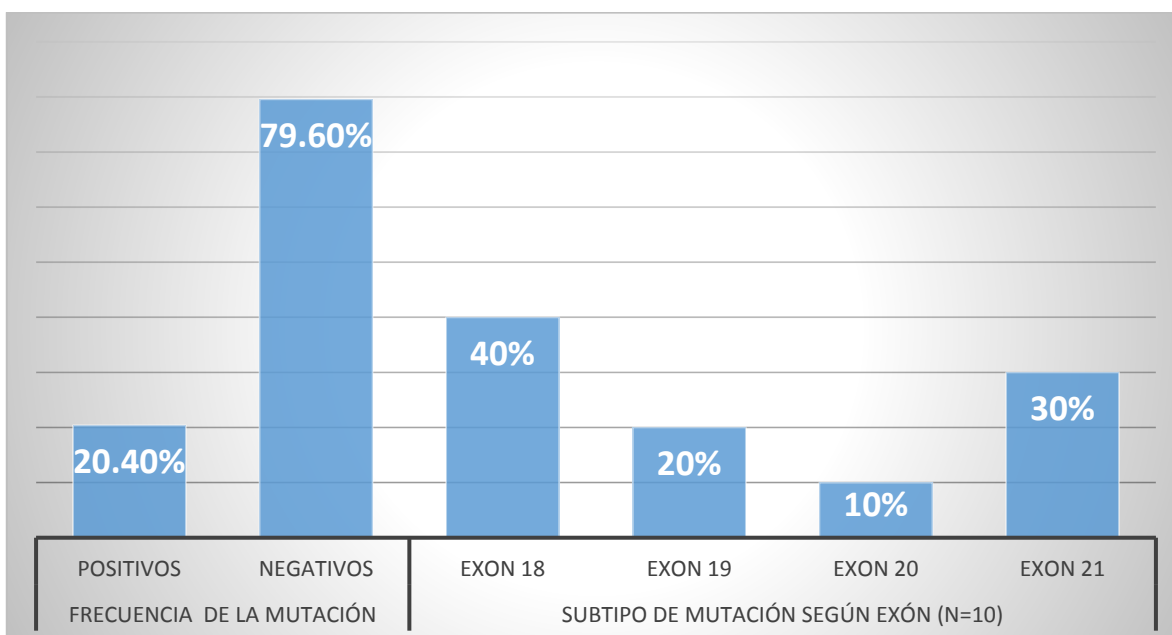
Fuente: Expediente clínico

Gráfico #3: Estadío y tipo histológico en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el período comprendido entre el 1 de enero del 2015 y el 31 de diciembre del 2016.



Fuente: Expediente clínico

Gráfico #4: Frecuencia de mutación del receptor del factor de crecimiento epidérmico en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas atendidos en el Hospital Escuela Dr. Roberto Calderón Gutiérrez, en el período comprendido entre el 1 de enero del 2015 y el 31 de diciembre del 2016.



Fuente: Expediente clínico