

EDITORIAL



LINFOCITOS INFILTRANTES DEL TUMOR. AYER, HOY Y ¿MAÑANA?

Por definición, los linfocitos infiltrantes del tumor son células mononucleares linfoides (linfocitos y plasmocitos) que infiltran el tumor y su estroma.

El concepto que la infiltración linfocitaria del estroma tumoral tiene valor pronóstico no es un concepto nuevo. En su artículo publicado en 1922, Sistrunk y MacCarty se refieren a la sobrevida de pacientes con “infiltración linfocítica local” y la encuentran en el 62% de 91 pacientes con material patológico completo de 218 pacientes motivo del estudio. En 41% de las pacientes, la observan junto con fibrosis, en 28% con hialinización y en 28% con fibrosis e hialinización. El promedio de vida post-operatoria (cirugía radical) fue 28% mayor para las pacientes con infiltración linfocítica local en comparación al promedio de vida de las 91 pacientes y 15% menor para aquellas pacientes sin esta infiltración linfocítica. El promedio de vida post-operatoria (cirugía radical) fue 37.8% mayor para las pacientes con infiltración linfocítica local, hialinización y fibrosis en comparación al promedio de vida de las 91 pacientes y 42% menor para aquellas pacientes sin estos elementos histológicos.¹

El otro dato ya histórico que no se puede dejar de mencionar es la existencia de un carcinoma caracterizado por una marcada infiltración linfocitaria tumoral como el carcinoma medular. Esta denominación data de la década de 1940 (Foote y Stewart, 1946; Moore y Foote, 1949)², anteriormente fue llamado “carcinoma neomamario quístico” por Geschickter y “adenocarcinoma bulky” en el Memorial Hospital de Nueva York. El carcinoma medular se definió como un carcinoma bien circunscripto, compuesto por células pobremente di-

ferenciadas, con escaso estroma e infiltración linfocitaria prominente. Esta marcada reacción linfocitaria o linfoplasmocitaria lo asemejó a los carcinomas linfo-epiteliales descritos en otros órganos. Ya en la primera descripción del carcinoma medular por Moore y Foote, se destacaba el buen pronóstico del tumor; este dato fue confirmado por algunos estudios posteriores, pero es importante mencionar que en menos del 50% de los tumores diagnosticados originalmente como carcinomas medulares, este diagnóstico fue confirmado luego de la revisión patológica; el resto se reclasificó como carcinoma ductal infiltrante con caracteres medulares y el pronóstico resultó discretamente mejor que el de los carcinomas ductales sin estas características, pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

Durante las siguientes décadas, se intentó corroborar el valor pronóstico de la infiltración linfocitaria tumoral con resultados controvertidos y el diagnóstico de carcinoma medular ha sido cada vez más infrecuente y reemplazado por el de carcinoma invasor de tipo no especial (carcinoma ductal infiltrante) con caracteres medulares. La última clasificación de los tumores de mama de la OMS, de 2019³, no incluye al carcinoma medular como un tipo especial de carcinoma de mama, sino que lo menciona como un patrón del carcinoma invasor de tipo no especial (carcinoma invasor de tipo no especial con patrón medular).

Ya en la actualidad, se considera que los TILs son un reflejo de la respuesta inmune contra el tumor y ésta se asocia con la respuesta clínica. El microambiente tumoral está compuesto por el estroma constituido por fibroblastos y el sistema inmune constituido por macrófagos y células T. Este microambiente tumoral varía según el tipo tumoral. Las distintas células inmunes de este microambiente tumoral cumplirían distintas funciones y tendrían distinto valor pronóstico. El grupo de trabajo de TILs reunido en 2014⁴, publica el artículo original en 2015, con Salgado como primer autor, sobre las recomendaciones de cómo evaluar los TILs en cáncer de mama. En este artículo, los autores se refieren al valor de los distintos tipos de células inmunes.

La infiltración tumoral extensa por linfocitos T citotóxicos CD8+ se asocia con mejor sobrevida y respuesta al tratamiento.

La infiltración por linfocitos T reguladores (Treg) CD4+ se ha asociado con buen y mal pronóstico. En lo que se refiere a otras subpoblaciones de células CD4+, las células Th1 (principal fuente de interferon- γ) se han asociado con pronóstico favorable y las células Th2 se han asociado con amortiguación de la respuesta anti-tumoral.

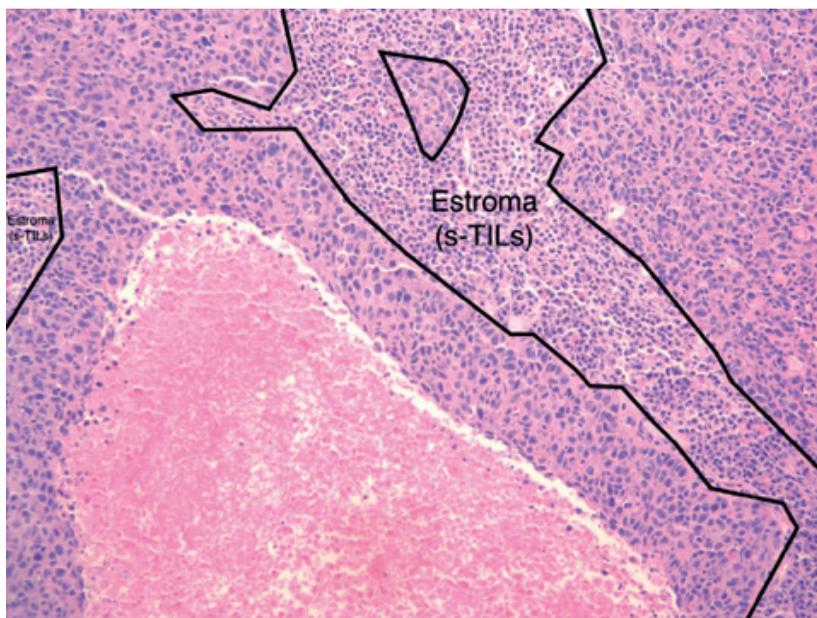
Los linfocitos T “follicular helper” (Tfh) se asociarían con buena evolución tanto en adyuvancia como en neoadyuvancia.

Con respecto a las células B, su rol seguiría siendo controversial.

En este trabajo original, los autores consideran a los TILs como un biomarcador inmunológico, que podría corresponder al grado inmunológico del tumor. La relevancia clínica de este biomarcador inmunológico se basa en que el mismo constituye un factor pronóstico y predictivo, ya que predice una mejor respuesta local al tratamiento adyuvante y neoadyuvante y mejor pronóstico a largo plazo, especialmente en tumores triple negativos (TN) y HER2+.

Desde un punto de vista práctico, han resultado muy importantes las recomendaciones de la metodología para la evaluación de los TILs, utilizando los cortes coloreados con técnica de rutina (coloración con Hematoxilina-Eosina). No se recomienda utilizar técnica de inmunohistoquímica para subtipificar poblaciones de linfocitos; sólo en el contexto de trabajos de investigación.

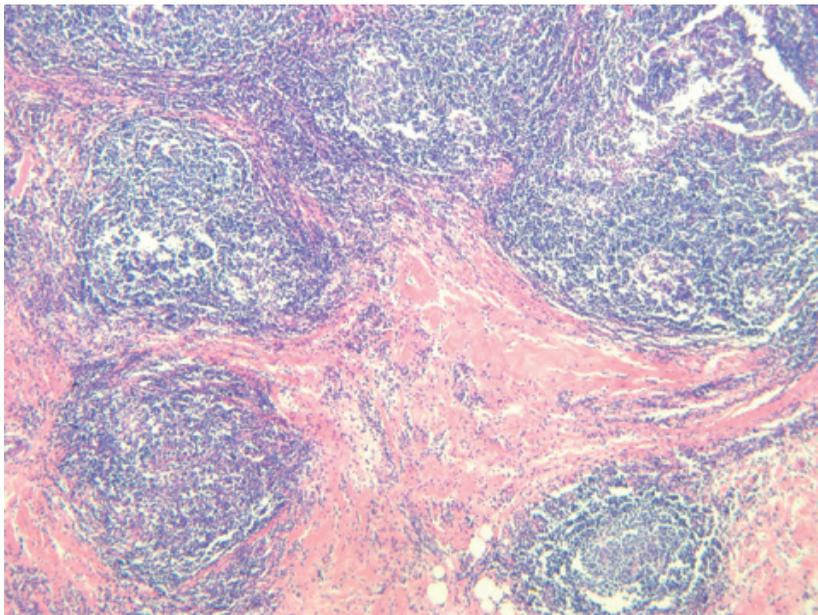
Los TILs se pueden dividir en estromales e intratumorales. Los linfocitos estromales (s-TILs) son aquellos que se encuentran dispersos en el estroma, sin contacto directo con las células tumorales. Los linfocitos intratumorales (i-TILs) son aquellos que se encuentran en los nidos tumorales, en contacto célula a célula, sin estroma interpuesto, interactuando con las células tumorales.



TILs en el estroma tumoral

El grupo de trabajo recomienda evaluar los s-TILs para la práctica diaria y los i-TILs, TILs en los bordes del tumor y TILs peritumorales sólo en el contexto de trabajos de investigación.

Además, dicho grupo de trabajo considera que no es posible una recomendación formal del punto de corte clínicamente relevante; el consenso fue que era más importante definir una metodología válida que definir un punto de corte. Queda definido el carcinoma de mama a predominio linfocitario como aquel tumor que contiene más linfocitos que células tumorales y el punto de corte estaría entre 50 y 60% de linfocitos estromales o más.



*Carcinoma de mama rico en linfocitos
/ Carcinoma de mama a predominio
linfocitario*

Vale la pena destacar que ha sido muy importante definir esa metodología para evaluar los TILs. Hasta ese momento, la presencia de infiltración linfocitaria en el estroma tumoral se informaba con términos descriptivos como discreta, moderada o marcada infiltración linfocitaria. En la actualidad, es conveniente hacerlo en la forma semi-cuantitativa que el grupo de trabajo recomienda. El tema controversial puede ser el o los puntos de corte, pero si se estandariza la metodología para informar este biomarcador inmunológico, seguramente esto colaborará en la definición más acertada de ese o esos puntos de corte a futuro.

En la última clasificación de los tumores de mama de la OMS (2019)³, los autores del capítulo del carcinoma invasor recomiendan aplicar la metodología de trabajo ya citada, evaluando TILs estromales y expresándolo en porcentaje. Según estos autores, los TILs reflejan la respuesta inmune del huésped al tumor y tienen valor como marcador pronóstico, con alto número de TILs asociado a mejor pronóstico y valor predictivo, con mejor respuesta a la QT neoadyuvante en carcinoma de mama TN y HER2+. También mencionan que, para mayor detalle, se puede visitar la página www.tilsinbreastcancer.org. Esta página contiene información detallada y minuciosa de la forma de evaluar los TILs, además de otros datos relevantes sobre el tema.

Los panelistas de las reuniones de St. Gallen no han sido tan claros con respecto a la necesidad de informar los TILs en la práctica diaria. En 2015, una clara mayoría del panel no aceptó la presencia de los TILs como factor pronóstico o predictivo

En 2017, consideraron que la evaluación de los TILs podría ser útil en la clínica en pacientes seleccionados y debería incluirse en el informe anatomopatológico, ya que los TILs altos han demostrado relacionarse con buen pronóstico en carcinoma de TN y HER2+. También reconocieron a los TILs como factor predictivo de respuesta patológica completa a la quimioterapia neoadyuvante en trials prospectivos de neoadyuvancia y que su aumento se relaciona con buen pronóstico en adyuvancia. Por cada 10% de aumento en los niveles de TILs, 15-20% mejor sobrevida.

En 2019, el panel recomendó la caracterización rutinaria de los TILs en carcinoma de mama TN por su valor pronóstico. Sin embargo, la aclaración fue que los datos no permiten recomendarlo como un test para guiar la elección del tratamiento adyuvante/neoadyuvante en estos tumores.

Finalmente, en 2021, la determinación de biomarcadores adicionales no fue recomendada en carcinoma de mama TN. Un 61% del panel estuvo en contra y un 39% a favor de la evaluación rutinaria de los TILs.

Sin embargo, como ya ha sido expresado y como demuestran distintos autores, los TILs constituyen un factor pronóstico y predictivo, ya que este biomarcador predice una mejor respuesta local al tratamiento adyuvante y neoadyuvante.

En lo que se refiere al significado de los TILs en adyuvancia, Loi y col. (2019)⁵, analizan el valor pronóstico de los TILs en carcinoma de mama TN temprano, en pacientes en el contexto de trials clínicos y grupos de trabajo de instituciones (BIG 02-98, ECOG 1199, ECOG 2197, FinHER, GR, IBCSG 22-00, IEO, PACS01, PACS04). Los autores concluyen que cada 10% más TILs, 14% mejor sobrevida, por lo cual destacan el valor pronóstico de los TILs en carcinoma de mama TN temprano, con una excelente sobrevida de pacientes con TILs altos con tratamiento quimioterápico adyuvante. Proponen la integración de los TILs en un modelo pronóstico clínico-patológico para pacientes con carcinoma de mama TN.

Dieci y col. (2019)⁶, evalúan la asociación de los TILs con la sobrevida libre de enfermedad a distancia en pacientes con carcinoma de mama HER2+ temprano, enroladas en el trial de adyuvancia ShortHER, que compara 9 semanas versus 1 año de trastuzumab y quimioterapia. Toman como punto de corte el 20% de TILs, con mejor sobrevida libre de enfermedad a distancia para las pacientes con más de 20% de TILs, aunque reconocen que este punto de corte es arbitrario. La conclusión es que los TILs constituyen un factor pronóstico independiente en carcinoma de mama HER2+ temprano en pacientes tratadas con quimioterapia adyuvante y trastuzumab, lo cual podría facilitar la identificación de pacientes con bajo riesgo de recaída elegibles para de-escalar la terapia adyuvante.

En referencia al tratamiento neoadyuvante, Denkert y col. (2018)⁷, incluyen pacientes en el contexto de los trials clínicos de neoadyuvancia GeparDuo, GeparTrio, GeparQuattro, GeparQuinto, GeparSixto, GeparSepto y encuentran que altos porcentajes de TILs predicen una mejor respuesta a la quimioterapia neoadyuvante en todos los subtipos moleculares, además de un beneficio en la sobrevida en pa-

cientes con carcinoma de mama TN y HER2+. Cada 10% más de TILs, mayor sobrevida libre de enfermedad en ambos subtipos y mayor sobrevida global en carcinoma de mama TN.

En carcinoma de mama Receptores Hormonales+ HER2-, se debería investigar la interacción sistema inmune/terapia endócrina.

También con relación a los subtipos tumorales, los autores encuentran TILs detectables en 75% de los carcinomas de mama TN y HER2+, hasta 20% particularmente densos y menores porcentajes de TILs en subtipos luminales. Si se toma como punto de corte la recomendación del grupo de trabajo (>50-60%), corresponden a carcinoma de mama a predominio linfocitario un 20% de TN, 16% de HER2+ y 6% de RE+.

En su trabajo de revisión a cerca de la evaluación e informe de los TILs en tumores sólidos, el antes "International TILs Working Group", ahora "International Immunooncology Biomarkers Working Group" recomienda utilizar el sistema propuesto por Salgado y col. y pone en consideración las diferencias entre el carcinoma invasor, el CDIS y las metástasis.⁸

En cuanto al carcinoma invasor, aplican las recomendaciones del grupo de trabajo citado.⁴

Con respecto al carcinoma ductal "in situ" y otras lesiones premalignas, recomiendan guiarse por el trabajo de Pruneri y col. (2017)⁹, que define el área estromal como el estroma especializado que rodea los conductos comprometidos por carcinoma intraductal o, cuando dicha área no queda clara, el área alrededor de los conductos comprometidos que entre en dos campos de gran aumento (aproximadamente 1 mm).

En referencia a las metástasis, si las mismas comprometen ganglios linfáticos y hay estroma desmoplásico, la recomendación es proceder como en el tumor primitivo. Si no hay estroma desmoplásico, se deben evaluar los TILs intratumorales. Se debe excluir el estroma linfoide preexistente. Las metástasis en otros sitios se deben evaluar como en el tumor primario.

Se deberá también considerar a futuro la utilidad de evaluar los TILs en el tumor original o en el sitio del último evento.

Un tema aún más controvertido es la evaluación de los TILs en el material post-quimioterapia neoadyuvante. Dieci y col (2018)¹⁰, señalan dos problemas prácticos: la selección del área tumoral a evaluar (área de regresión o tumor residual) y la identificación de los TILs relevantes. Con respecto al primer punto, la recomendación sería considerar los TILs dentro de los bordes del lecho tumoral con tumor

residual (según Residual Cancer Burden) o, en caso de respuesta patológica completa, en el área de regresión de acuerdo con la correlación radiológica, macroscópica y microscópica. El segundo punto no difiere de la evaluación en la mama sin quimioterapia neoadyuvante.

Viale y col. (2021)¹¹, finalizan su artículo sobre evaluación patológica de la enfermedad residual post-quimioterapia neoadyuvante, refiriéndose a los TILs como un elemento que está adquiriendo una creciente relevancia. Sin embargo, reconocen que es motivo de investigación en trials clínicos, pero no se aplica aún en la práctica clínica en esta situación.

Otro tema siempre discutido en lo que se refiere a los biomarcadores es su reproducibilidad diagnóstica. Swisher y col. (2016)¹² consideran que, utilizando las recomendaciones del grupo de trabajo, el acuerdo inter observador entre patólogos es aceptable y que las causas de falta de acuerdo serían la presencia de necrosis de células aisladas o apoptosis, de células plasmáticas reactivas que simulan células tumorales (en esta situación se puede utilizar inmunohistoquímica para diferenciar estos tipos de células), o la presencia de áreas focales de marcada infiltración inmune ("hot spots").

Tramm y col. (2018)¹³, consideran que la utilidad clínica no es suficiente para garantizar la aplicación de un nuevo biomarcador en la práctica clínica; también es necesaria la validación analítica para establecer la precisión y la reproducibilidad interobservador, que en el caso de los TILs sería moderada, aunque mejoraría cuando se usan dos categorías, altos o bajos, utilizando como punto de corte el propuesto por el grupo de trabajo (50-60%).

Kos y col. (2020)¹⁴, atribuyen la reproducibilidad diagnóstica a la heterogeneidad en la distribución de los TILs estromales, a factores técnicos del preparado histológico, a la evaluación del área correcta y a la evaluación de las células correctas. Es decir, que es muy importante tener en cuenta todos estos elementos para una correcta evaluación de los TILs.

Concluyendo, ayer se le atribuía un mejor pronóstico a los tumores con marcada infiltración linfocitaria, hoy los TILs constituyen un biomarcador inmunológico, simple, económico y reproducible, con valor pronóstico y predictivo de respuesta al tratamiento adyuvante y neoadyuvante, especialmente en carcinoma de mama TN y HER2+. La metodología propuesta para evaluarlos es sencilla, aunque por el momento no está establecido en forma definitiva el punto de corte clínicamente relevante. Para mañana queda por determinar, además de ese punto de corte clínicamente relevante, su utilidad para definir

estrategias terapéuticas a futuro, como las terapias inmunomoduladoras. La evaluación de los TILs como indicador de inmunogenicidad pre-existente podría ser útil, combinada con otros marcadores (PD-L1, otros) para definir estas estrategias terapéuticas.

REFERENCIAS

1. Sistrunk W, MacCarty WC. Life expectancy following radical amputation for carcinoma of the breast: a clinical and pathologic study of 218 cases. *Ann Surg* 1922; p. 61-69. ◀
2. Rosen PP. Rosen's breast pathology - 3rd ed. 2009. Lippincott Williams & Wilkins, Wolters Kluwer. ◀
3. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Breast tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2019. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 2) <https://publications.iarc.fr/581>. ◀◀
4. Salgado R, Denkert C, Demaria S et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol* 2015; 26: 259–271. ◀◀
5. Loi S, Drubay D, Adams S et al. Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Prognosis: A Pooled Individual Patient Analysis of Early-Stage Triple-Negative Breast Cancers. *J Clin Oncol* 2019;37:559-569. ◀
6. Dieci MV, Conte P, Bisagni G et al. Association of tumor-infiltrating lymphocytes with distant disease-free survival in the ShortHER randomized adjuvant trial for patients with early HER2+ breast cancer. *Ann Oncol* 2019; 30: 418-423. ◀
7. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *Lancet Oncol* 2018; 19: 40–50. ◀
8. Hendry S, Salgado R, Gevaert T et al. Assessing Tumor-infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method From the International Immunooncology Biomarkers Working Group: Part 1: Assessing the Host Immune Response, TILs in Invasive Breast Carcinoma and Ductal Carcinoma In Situ, Metastatic Tumor Deposits and Areas for Further Research. *Adv Anatol Pathol* 2017; 24: 235-251. ◀
9. Pruneri G, Lazzeroni M, Bagnardi V et al. The prevalence and clinical relevance of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in ductal carcinoma in situ of the breast. *Ann Oncol* 2017; 28: 321–328. ◀
10. Dieci MV, Radosevic-Robin N, Fineberg S et al. Update on tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer, including recommendations to assess TILs in residual disease after neoadjuvant therapy and in carcinoma in situ: a report of the International Immunooncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. *Semin Cancer Biol* 2018; 52:16-25. ◀
11. Viale G, Fusco N. Pathology after neoadjuvant treatment e How to assess residual disease. *The Breast*, <https://doi.org/10.1016/j.breast.2021.11.009>. ◀
12. Swisher SK, Wu Y, Castaneda CA et al. Interobserver Agreement Between Pathologists Assessing Tumor-Infiltrating Lymphocytes (TILs) in Breast Cancer Using Methodology Proposed by the International TILs Working Group. *Ann Surg Oncol* 2016;23:2242-8. ◀
13. Tramm T, Di Caterino T, Jylling AMB et al. Standardized assessment of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer: an evaluation of inter-observer agreement between pathologists. *Acta Oncologica* 2018; 57: 90-94. ◀
14. Kos Z, Roblin, E, Kim RS et al. Pitfalls in assessing stromal tumor infiltrating lymphocytes (sTILs) in breast cancer. *NPJ Breast Cancer* 2020; 12: 6-17. ◀