

Valoración de los cambios en los niveles de Linfocitos Intratumorales Estromales (TIL) en respuesta a la quimioterapia neoadyuvante y su valor pronóstico en pacientes con diagnóstico de cáncer de mama localmente avanzado

Matías Miguel Horacio Martel Bustamante¹, Agostina Fonseca²,
Cinthia Elizabeth Velázquez Andretta¹, Sara Raquel Gonorazki², Jorge Jaime Macedo¹, Guillermo Ortiz¹

RESUMEN

Introducción

Diversos parámetros inmunológicos, incluidos los TIL estromales, se asocian con tasas más altas de respuesta patológica completa. Su evaluación en el tumor residual posterior a la neoadyuvancia sistémica podría llevar información de pronóstico adicional, en comparación con los TIL iniciales, ya que pueden reflejar la reacción del microambiente inmunológico a la quimioterapia.

Objetivo

Determinar los niveles de TIL antes y después de la quimioterapia neoadyuvante, la relación entre niveles preneoadyuvancia y respuesta patológica completa, los cambios en los mismos y su efecto en la sobrevida global y libre de enfermedad.

¹Servicio de Ginecología Hospital San Bernardo-Salta

²Servicio de Anatomía Patológica Hospital San Bernardo-Salta

Correo electrónico:
matiasmartelb@gmail.com

Material y método

Estudio observacional, descriptivo y retrospectivo, realizado en el Hospital San Bernardo (Salta), de pacientes con diagnóstico de Cáncer de Mama Localmente Avanzado entre los años 2010 y 2021 que realizaron Quimioterapia Neoadyuvante, cirugía, radioterapia y seguimiento en el nosocomio. Los TIL se evaluaron en la biopsia incisional preneoadyuvancia y pieza quirúrgica posterior.

Resultado

Se analizaron 34 pacientes. Preneoadyuvancia, 26% presentó niveles bajos y 41% intermedio. Las pacientes con respuesta patológica completa tuvieron igual frecuencias de TIL Bajo, Intermedio y Alto ($p=0,887$). 67% de los tumores luminal A y 58% de los triple negativo presentaron disminución de los niveles, pero el 100% de los HER 2 positivo presentaron aumento ($p= 0,035$). Las primeras presentaron una media de supervivencia de 30 meses y las pacientes sin cambios, 94 meses (Log Rank 0,038). En el análisis multivariado, el cambio de niveles de TIL no fue un factor pronóstico independiente.

Conclusión

Luego de la quimioterapia neoadyuvante las pacientes experimentaron disminución de los niveles de TIL o ausencia de cambios en los mismos, excepto los tumores HER 2 positivo. Los datos son controvertidos proponiéndose realizar investigaciones multicéntricas y prospectivas para obtener resultados concluyentes.

Palabras Clave

Linfocitos intratumorales, Cáncer de Mama, Neoadyuvante, Pronóstico

ABSTRACT

Introduction

Several immunological parameters, including stromal TILs, are associated with higher rates of complete pathological response. Their assessment in residual tumor after systemic neoadjuvant therapy may provide additional prognostic information compared with baseline TILs, as they may reflect the reaction of the immune microenvironment to chemotherapy.

Objective

To determine the levels of TIL before and after neoadjuvant chemotherapy, the relationship between preneoadjuvant levels and complete pathological response, the changes in them and their effect on Overall and Disease-Free Survival.

Materials and method

Observational, descriptive, retrospective study at the Hospital San Bernardo, Salta of patients diagnosed with Locally Advanced Breast Cancer between 2010 and 2021 who underwent Neoadjuvant Chemotherapy, Surgery, Radiotherapy and follow-up in the hospital. TILs were evaluated in the preneoadjuvant incisional biopsy and subsequent surgical specimen.

Results

34 patients were analyzed. Preneoadjuvant 26% presented low levels and 41% intermediate. Patients with complete pathological response had equal frequencies of Low, Intermediate and High TIL ($p=0.887$). 67% of the Luminal A tumors and 58% of the Triple Negative tumors presented decreased levels, but 100% of the HER 2 positive tumors presented an increase ($p=0.035$). The former presented a mean survival of 30 months and the patients without changes 94 months (Log Rank 0.038). In multivariate analysis, the change in TIL levels was not independent

Conclusion

After neoadjuvant chemotherapy, patients experience decreased or no changes in TIL levels, except in HER2-positive tumors. The data is controversial, proposing to carry out multicentric and prospective investigations to obtain conclusive results.

Key words

Intratumoral lymphocytes, Breast Cancer, Neoadjuvant, Prognosis

INTRODUCCIÓN

La quimioterapia neoadyuvante es el tratamiento estándar para el cáncer de mama localmente avanzado con el objetivo de reducir la carga tumoral y disminuir el estado ganglionar axilar.¹⁻⁵ Además, es un modelo adecuado para valorar la sensibilidad de la neoplasia al tratamiento y buscar marcadores biológicos con valor pronóstico.⁶ Actualmente se acepta que el efecto antitumoral de la quimioterapia se ejerce parcialmente a través de la modulación del sistema inmunológico, en un proceso conocido como muerte celular inmunogénica.^{7,8} Diversos estudios realizados sobre parámetros inmunológicos y quimioterapia neoadyuvante demostraron que los primeros, incluidos los TIL estromales, se asocian con tasas más altas de respuesta patológica completa (RCp), independientemente de otros factores pronósticos clínico-patológicos o de la respuesta a la quimioterapia.⁹ El subtipo molecular del tumor tiene gran influencia en su interacción con el sistema inmune, donde los tumores triple negativos y HER 2 positivos están infiltrados con mayor frecuencia por niveles mayores de TIL que los tumores con receptores hormonales positivos; sin embargo, todos los subtipos moleculares pueden presentar infiltración de los mismos.^{10,11} En tumores HER 2 positivo y triple negativo, la presencia de TIL puede constituir un biomarcador pronóstico y predictivo de respuesta a la inmunoterapia, la quimioterapia y otras terapias dirigidas.¹²

Los Linfocitos Intratumorales Estromales (TIL) evaluados en el tumor residual posterior a la neoadyuvancia sistémica podrían llevar información de pronóstico adicional, en comparación con los TIL iniciales, ya que pueden reflejar en parte la reacción del microambiente inmunológico a la quimioterapia. Esto ha sido respaldado por la observación de que la administración de quimioterapia da como resultado la atracción y activación de los TIL en el lecho tumoral.¹³ Además, algunos estudios sugieren que la quimioterapia podría convertir un tumor de TIL bajo preneoadyuvancia en un tumor TIL alto postneoadyuvancia, y que esta conversión se asocia con una excelente tasa de sobrevida global a 5 años.¹⁴

OBJETIVO

Los objetivos de este trabajo fueron:

- Determinar los niveles de TIL de las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama localmente avanzado antes y después de la quimioterapia neoadyuvante.
- Evaluar la relación entre niveles de TIL preneoadyuvancia y respuesta patológica completa.

- Determinar los cambios en los niveles de TIL en respuesta a la quimioterapia neoadyuvante.
- Evaluar la supervivencia global y libre de enfermedad de las pacientes con modificaciones en los niveles de TIL.

MATERIALES Y MÉTODO

Se realizó un estudio observacional, descriptivo, retrospectivo en el Hospital San Bernardo, Provincia de Salta. La población bajo estudio estuvo constituida por todas las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama localmente avanzado tratadas por el Servicio de Ginecología, entre los años 2010 y 2021, que realizaron diagnóstico a través de biopsia incisional y recibieron quimioterapia neoadyuvante, cirugía, eventual radioterapia adyuvante y seguimiento oncológico posterior en el nosocomio. Las mismas debían tener firmado el consentimiento informado prequirúrgico de la institución, así como su presentación correspondiente en el Comité de Tumores que defina la conducta terapéutica.

Se excluyeron a todas aquellas pacientes con diagnóstico de Cáncer de mama E I y II, cáncer de mama inflamatorio, cáncer de mama metastásico, cáncer de mama en embarazo.

Las variables en estudio fueron:

Grupo etario

Tipo histológico: teniendo en cuenta la clasificación de tumores de mama de la Organización Mundial de la Salud de 2019. Se consideró carcinoma invasor NOS, carcinoma lobulillar invasor y otro.¹⁵

Grado histológico: teniendo en cuenta el Score Histológico de Nottingham. Se consideró Grado 1, Grado 2 y Grado 3.¹⁶

Tamaño tumoral, estado ganglionar y estadio anatómico TNM: se tuvo en cuenta la Clasificación TNM 8ª Edición del AJCC Edición, categorizando las variables según su convención.¹⁷

Subtipo molecular: se categorizó en luminal A, luminal B, luminal B HER 2 positivo, HER 2 positivo y triple negativo según subrogación por inmunohistoquímica e hibridación in situ en caso de corresponder.

Nivel de TIL pre Quimioterapia Neoadyuvante: se analizará como una medida continua, categorizándose en TIL bajos (0-10%), TIL intermedios (11-50%) o TIL altos (50-100%), según las recomendaciones del Grupo de Trabajo Internacional de TIL, Salgado R y col.^{10,18}

Esquema de Quimioterapia

Tipo de Cirugía: Se consideró operación de Madden y cuadrantectomía con vaciamiento axilar.

Respuesta patológica completa (RPC): ausencia de enfermedad residual invasora luego del tratamiento neoadyuvante tanto en la mama como en la axila (ypTo/is ypN0)¹³. Se categorizó en RPc y no RPc

Nivel de TIL postquimioterapia Neoadyuvante: se analizó como una medida continua, categorizándose en TIL bajos (0-10%), TIL intermedios (11-50%) o TIL altos (50-100%) según las recomendaciones del Grupo de Trabajo Internacional de TIL, Salgado R y col.^{10,18}

Cambios en los niveles de TIL: teniendo en cuenta las modificaciones que presentan los niveles de TIL antes y después de la quimioterapia neoadyuvante se consideró las categorías Aumento, Disminución y Sin cambios.

Sobrevida Global: es el tiempo desde la aleatorización hasta la muerte independientemente de la causa.

Sobrevida Libre de Enfermedad: es el tiempo transcurrido desde la aleatorización hasta la recaída del cáncer de mama o la muerte por cualquier causa.

Procedimientos e instrumental

Se realizó valoración de los tratamientos indicados a las pacientes a través del Registro de Comité de Tumores del Hospital, seleccionando aquellas con diagnóstico de cáncer de mama localmente avanzado con confirmación histológica a través de biopsia incisional que se les indicó quimioterapia neoadyuvante. Además, se revisó las historias clínicas de las pacientes y la ficha de seguimiento oncológico del Servicio de Ginecología. La valoración de los TIL se realizó tanto en la biopsia incisional pre quimioterapia neoadyuvante y en la pieza quirúrgica posterior. Se seleccionó los preparados histológicos coloreados con hematoxilina-eosina del tumor de cada paciente, antes y después del tratamiento, del archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital San Bernardo. La valoración de TIL estromales en los portaobjetos se realizó siguiendo las recomendaciones del Grupo de Trabajo Internacional de TIL, Salgado R y col¹³ en el caso de biopsias incisionales preneoadyuvancia, y del Grupo de Trabajo Internacional de Biomarcadores de Inmuno Oncología sobre el Cáncer de Mama, Dieci, MV y col.¹⁸, en las muestras quirúrgicas después de la neoadyuvancia. El nivel de TIL estromal se informó como el

Tabla 1. Características clínicas de la población bajo estudio (n=34).

Variable	Frecuencia % (n)
Grupo Etario	
30-39 años	15% (5)
40-49 años	21% (7)
50-59 años	59% (20)
60-69 años	3% (1)
70 o más años	3% (1)
Subtipo Histológico	
Invasor NST	
Lobulillar Invasor	82% (28)
Otro	9% (3)
Grado Histológico	9% (3)
GH 2	
GH 3	53% (18)
Tamaño Tumoral	47% (16)
T1	
T2	3% (1)
T3	15% (5)
T4	62% (21)
Estado Ganglionar	21% (7)
N1	
N2	41% (14)
N3	53% (18)
Estadio Anatómico TNM	6% (2)
IIIA	
IIIB	73% (25)
IIIC	21% (7)
Subtipo Molecular	6% (2)
Luminal A	
Luminal B	23% (8)
Luminal B HER 2 positivo	23% (8)
HER 2 positivo	18% (6)
Triple Negativo	9% (3)
Tipo de Cirugía	26% (9)
Operación de Madden	
Cuadrantectomía + Vaciamiento Axilar	85% (29)
Axilar	15% (5)
Respuesta patológica completa	
(R _{Pc})	82% (28)
No R _{Pc}	18% (6)
R _{Pc}	

porcentaje del área ocupada por células inflamatorias mononucleares sobre el área total del estroma intratumoral.

Procesamiento y análisis de datos

Se realizó un análisis descriptivo de las variables estudiadas. El análisis de significación estadística se realizó por el Test de Chi cuadrado, con una $p \leq 0,05$. El análisis de supervivencia se realizó mediante las curvas de Kaplan Meyer y test de Log rank. Se empleó los modelos de regresión de Cox para el análisis uni y multivariado. Los datos fueron procesados en el programa Excel 2016 y analizados por medio del programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 23 para Windows.

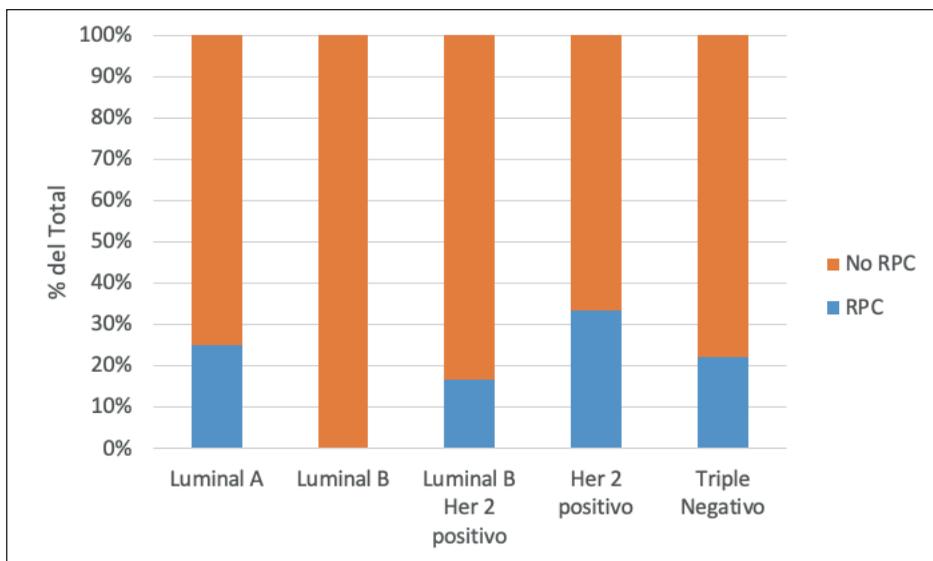
RESULTADOS

La población bajo estudio estuvo constituida por 34 pacientes con diagnóstico de cáncer de mama localmente avanzado, tratadas con quimioterapia neoadyuvante, cirugía, radioterapia, con o sin hormonoterapia posterior, seguidas en el Hospital San Bernardo. Cabe destacar que la población inicial de la investigación estaba constituida por 42 pacientes, pero por la falta de datos en archivo de anatomía patológica o de historia clínica la misma se redujo, representando una pérdida del 19% (8 pacientes).

La Tabla 1 describe las características clínicas de la población estudiada. La media calculada para la edad es de 50 años (DE 9 años). Respecto al esquema de quimioterapia neoadyuvante, todas las pacientes realizaron antraciclinas y taxanos. De las pacientes con subtipo molecular HER 2 positivo y luminal B HER 2 positivo (n=9) solamente el 11% (n=1) realizó tratamiento con trastuzumab y el 11% (n=1) bloqueo dual con pertuzumab.

Si tenemos en cuenta la distribución de la respuesta patológica completa según subtipo molecular (Gráfico 1), se observó que la misma estuvo presente en el

Gráfico 1: Distribución de la Respuesta Patológica Completa según Subtipo Molecular (n=34)



33% (n=1) de las pacientes Her 2 positivo, 25% (n=2) de las pacientes luminal A y 23% (n=2) de las pacientes triple negativo, no observándose en ningún caso de las pacientes Luminal B, diferencias que no fueron estadísticamente significativas (p=0,617).

Al evaluar los niveles de TIL en las pacientes antes de la quimioterapia neoadyuvante se observó que 26% (IC95%= 12- 41%) (n=9) presentó niveles bajos, 41% (IC95%=25%-58%) (n=14) presentó nivel intermedio y 32% (IC95%=17%-49%) (n=11), nivel alto. La media de niveles de TIL fue de 37% (DE 27%).

En la Tabla 2 se representa la distribución de los niveles de TIL pre-quimioterapia neoadyuvante según subtipo molecular y respuesta patológica completa. Se observó que, de los pacientes evaluados, el subtipo molecular triple negativo presentó una mayor frecuencia de niveles de TIL Alto, de un 67% (n=6), mientras que el subtipo HER 2 Positivo una frecuencia mayor de nivel de TIL Medio, del 67% (n=2). En tanto el subtipo luminal A presentó una mayor frecuencia de nivel de TIL Intermedio de 62% (n=5) y el subtipo luminal B HER 2 positivo de nivel de TIL Intermedio de 50% (n=3). El subtipo molecular Luminal B presentó igual frecuencia de nivel de TIL Bajo e Intermedio del 37% (n=2) respectivamente. No se encontró evidencia de asociación significativa entre las variables.

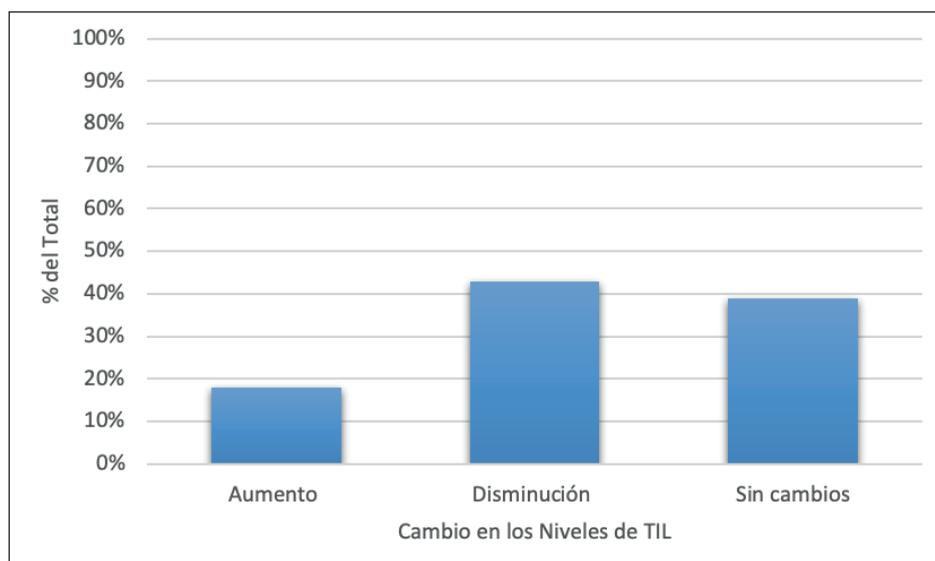
Tabla 2: Distribución de los Niveles de TIL Pre Quimioterapia Neoadyuvante según Subtipo Molecular y Respuesta patológica completa (n=34).

	TIL Bajo	TIL Intermedio	TIL Alto	p
Subtipo Molecular				0,299
Luminal A (n=8)	25%	62%	12%	
Luminal B (n=8)	37%	37%	25%	
Luminal B HER 2 positivo (n=6)	17%	50%	33%	
HER 2 positivo (n=3)	33%	67%	0%	
Triple Negativo (n=9)	22%	11%	67%	
Respuesta Patológica Completa				0,887
RPc (n=6)	33%	33%	33%	
No RPc (n=28)	26%	41%	32%	

Respecto a la respuesta patológica completa, se observó que de las que no presentaron la misma, 41% (n=12) presentó niveles de TIL Intermedios y 32% (n=9) niveles Altos, mientras que las que presentaron RPc, tuvieron igual frecuencias de TIL Bajo, Intermedio y Alto, del 33% (n=2) respectivamente, no encontrándose evidencia de asociación significativa.

La determinación de los niveles de TIL después de la quimioterapia neoadyuvante se realizó únicamente en las que presentaron enfermedad residual (n=28). Se observó que 43% (IC95%=24%-61%) (n=12) presentó niveles bajos, e igual proporción presentó niveles de TIL intermedio, mientras que 14% (IC95%=3%-32%) (n=4), presentó nivel alto. La media de niveles de TIL fue de 26% (DE 20%).

Gráfico 2: Distribución de las pacientes según Cambios en los Niveles de TIL en Enfermedad Residual (n=28).



En el Gráfico 2 se representa la distribución de las pacientes según los cambios en niveles de TIL en enfermedad residual. Se observó que 43% (IC95%=24%-61%) (n=12) de las pacientes presentaron disminución del nivel de TIL, mientras que 39% (IC95%=21%-58%) (n=11) no presentó cambios respecto a la biopsia previa.

Tabla 3: Distribución de los Cambios en los Niveles de TIL en Enfermedad Residual según variables clínicas (n=28).

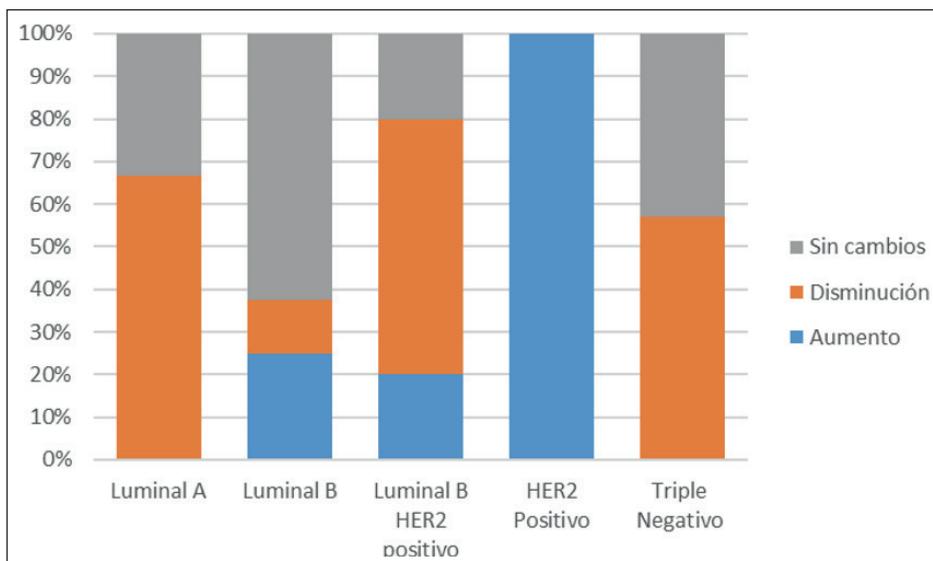
	Aumento % (n)	Disminución % (n)	Sin Cambios % (n)	p
Grupo Etario				0,301
30-39 años	25% (1)	50% (2)	25% (1)	
40-49 años	0% (0)	83% (5)	17% (1)	
50-59 años	25% (4)	25% (4)	50% (8)	
60-69 años	0% (0)	0% (0)	100% (1)	
70 o más años	0% (0)	100% (1)	0% (0)	
Subtipo Histológico				0,749
Invasor NST	22% (5)	43% (10)	35% (8)	
Lobulillar Invasor	0% (0)	50% (1)	50% (1)	
Otro	0% (0)	33% (1)	67% (2)	
Grado Histológico				0,270
GH 2	7% (1)	43% (6)	50% (7)	
GH 3	29% (4)	43% (6)	29% (4)	
Tamaño Tumoral				0,746
T1	0% (0)	100% (1)	0% (0)	
T2	0% (0)	67% (2)	33% (1)	
T3	17% (3)	39% (7)	44% (8)	
T4	33% (2)	33% (2)	33% (2)	

Al analizar los cambios en los niveles de TIL según variables clínicas (Tabla 3), se observó que 83% (n=5) de las pacientes entre 40-49 años presentó disminución de los niveles y el 17% (n=1) no presentó cambios en los mismos, mientras que 25% (n=4) de las pacientes entre 50-59 años presentó aumento y disminución de los niveles de TIL y 50% (n=8), no presentó cambios. Si tenemos en cuenta el subtipo histológico, 43% (n=10) de las pacientes con subtipo invasor NST presentó disminución de los niveles de TIL y 35% (n=8) no presentó cambios, a diferencia de las pacientes con otro subtipo histológico estos fueron de 33% (n=1) y 67% (n=2) respectivamente. Cuarenta y tres por ciento (n=6) de las pacientes con grado histológico 2 presentaron una disminución de los niveles de TIL y 50% (n=7), no presentaron cambios en los mismos, en tanto que las pacientes con grado histológico 3, 43% (n=6) presentó disminución de los niveles y 29% (n=4), no presentó cambios o aumentaron los mismos en igual proporción. Respecto al tamaño tumoral, las pacientes T3 presentaron en 39% (n=7) disminución de los niveles de TIL y 44% (n=8) no presentó cambios, a diferencia de las pacientes T4 donde 33% (n=2) presentó aumento, disminución y sin cambio en los niveles respectivamente. Al evaluar el estado ganglionar, las pacientes con N1 presentaron en 33% (n=4) disminución de los niveles de TIL y 58% (n=7) no presentaron cambios, mientras que 29% (n=4) de las pacientes N2 aumentó los niveles y 50% (n=7) disminuyó los mismos. Si tenemos en cuenta el estadio Anatómico TNM, 45% (n=9) de las pacientes E IIIA presentó disminución de los niveles de TIL y 40% (n=8) no presentó cambios, en tanto que las pacientes E IIIB, 33% (n=2) presentó

Al evaluar el estado ganglionar, las pacientes con N1 presentaron en 33% (n=4) disminución de los niveles de TIL y 58% (n=7) no presentaron cambios, mientras que 29% (n=4) de las pacientes N2 aumentó los niveles y 50% (n=7) disminuyó los mismos. Si tenemos en cuenta el estadio Anatómico TNM, 45% (n=9) de las pacientes E IIIA presentó disminución de los niveles de TIL y 40% (n=8) no presentó cambios, en tanto que las pacientes E IIIB, 33% (n=2) presentó

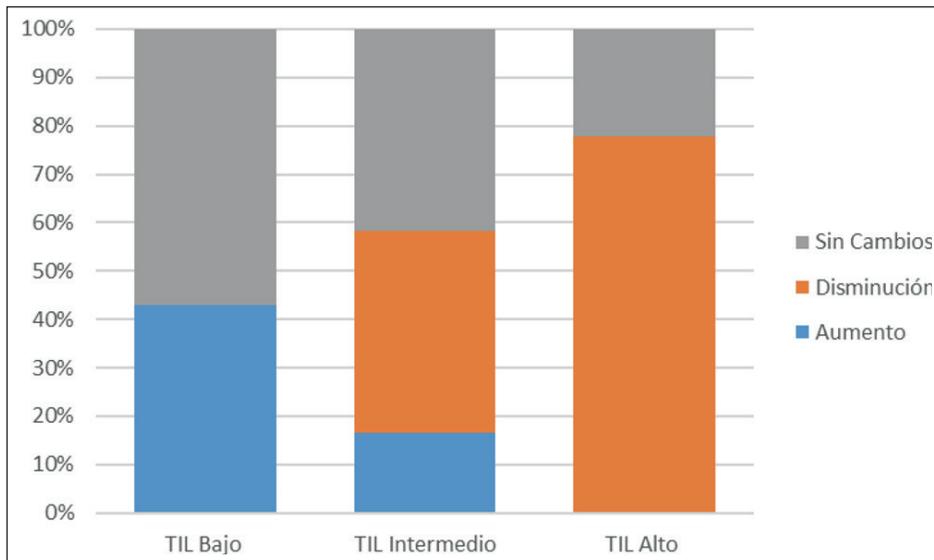
aumento, disminución y ausencia de cambios en los mismos respectivamente. Si tenemos en cuenta el tipo de cirugía, 44% (n=11) de las pacientes que fueron intervenidas con operación de Madden presentó disminución de los niveles y 36% (n=9) no presentó cambios en los mismos, a diferencia de las pacientes intervenidas con cuadrantectomía más vaciamiento axilar, donde los mismos fueron del 33% (n=1) y 67% (n=2) respectivamente. Sin embargo, todas estas diferencias en las variables clínicas no fueron estadísticamente significativas.

Gráfico 3: Distribución de los Cambios en los Niveles de TIL en Enfermedad Residual según Subtipo Molecular (n=28)



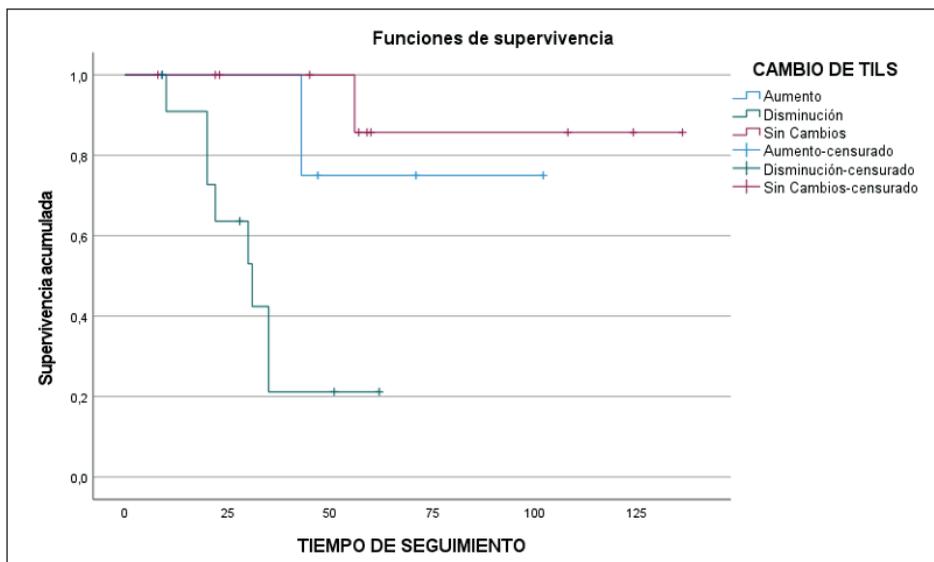
Al analizar los cambios de niveles de TIL en respuesta a la quimioterapia neoadyuvante según el subtipo molecular (Gráfico 3) se observó que 67% (n=4) de las pacientes luminal A, 60% (n=3) de las pacientes luminal B HER 2 positivos y 58% (n=4) de las pacientes triple negativo, presentaron disminución de los niveles de TIL, mientras que el 100% (n=2) de las pacientes HER 2 positivo presentaron aumento y el 62% (n=5) de las pacientes Luminal B no presentó cambios en los mismos. Se encontró evidencia de asociación estadísticamente significativas entre ambas variables ($p=0,035$).

Gráfico 4: Distribución de los Cambios en los Niveles de TIL en Enfermedad Residual según Nivel de TIL Pre Quimioterapia Neoadyuvante (n=28).



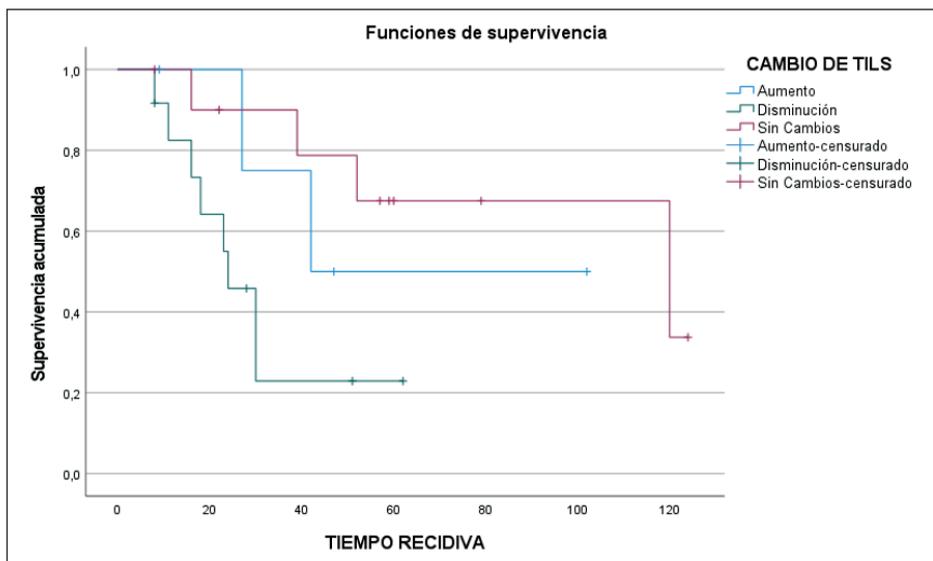
Si tenemos en cuenta los cambios en los Niveles de TIL según el nivel de los mismos antes de la quimioterapia neoadyuvante (Gráfico 4), se observó que las pacientes con nivel de TIL Alto previo presentaron disminución de los mismos en la enfermedad residual en 78% (n=7) y se mantuvieron sin cambios en 22% (n=2), mientras que las pacientes con nivel de TIL Bajo antes de la neoadyuvancia se encontraron sin cambios en la enfermedad residual en 57% (n=4) y presentaron aumento en 43% (n=3) de los casos. Se encontró evidencia de asociación significativa entre los cambios de nivel de TIL y el nivel del mismo pre quimioterapia neoadyuvante ($p=0,028$).

Gráfico 5: Distribución de la Supervivencia Global de las pacientes según Cambio de Nivel de TIL en Enfermedad Residual (n=28).



Al realizar el análisis de supervivencia, la media de sobrevida global (Gráfico 5) de las pacientes con disminución de los niveles de TIL fue de 34 meses (IC95%=24-44 meses), en las pacientes con aumento de los niveles fue de 87 meses (IC95%=62-102 meses) y de las pacientes que no presentaron cambios fue de 125 meses (IC95%=104-145 meses), con asociación significativa entre las variables (test de Log Rank 0,002).

Gráfico 6: Distribución de la Sobrevida Libre de Enfermedad de las pacientes según Cambio de Nivel de TIL en Enfermedad Residual (n=28).



En la evaluación de la sobrevida libre de enfermedad (Gráfico 6), las pacientes con disminución de los niveles de TIL presentaron una media de supervivencia de 30 meses (IC95%=19-42 meses), en las pacientes con aumento de los niveles fue de 68 meses (IC95%=35-102 meses) y en aquellas que no presentaron cambios fue de 94 meses (IC95%=68-121 meses), con asociación significativa entre las variables (test de Log Rank 0,038).

Tabla 4: Análisis univariado de las variables asociadas a un mayor riesgo de recurrencia de la enfermedad.

	Hazard Ratio	IC 95%	p
Edad Menos de 50 años vs 50 años o más	0,153	0,043-0,542	0,001
Tipo Histológico Ductal vs Lobulillar/Otro	0,747	0,159-3,506	0,711
Grado Histológico GH3 vs GH2	0,582	0,184-1,842	0,351
Tamaño Tumoral T3-4 vs T1-T2	0,031	0-12,530	0,066
Estado Ganglionar N3-4 vs N1-2	1,772	0,587-5,348	0,304
Estadio IIIB-C vs IIIA	1,904	0,416-8,704	0,398
Estado de Receptor Hormonal Negativo vs Positivo	0,963	0,290-3,201	0,951
Nivel de TIL Pre Quimioterapia Neoadyuvante TIL Bajo-medio vs Alto	1,917	0,607-6,057	0,259
Cambios de Niveles de TIL Aumento-Disminución vs Sin Cambios	0,215	0,047-0,989	0,03

Tabla 5: Análisis multivariado de las variables asociadas a un mayor riesgo de recurrencia de la enfermedad.

	HR	IC 95%	p
Edad Menos de 50 años vs 50 años o más	0,174	0,045-0,676	0,12
Cambios de Niveles de TIL Aumento-Disminución vs Sin Cambios	0,276	0,056-1,353	0,112

Al realizar un análisis univariado de las variables asociadas a un mayor riesgo de recurrencia de la enfermedad (Tabla 4), la edad y el cambio de los niveles de TIL presentaron asociación. Al pasar las mismas al análisis multivariado para la sobrevida libre de enfermedad (Tabla 5), el cambio de niveles de TIL no conserva su valor independiente.

DISCUSIÓN

El número pequeño de casos evaluado en nuestro trabajo, además de ser retrospectivo y unicentrico, hace que los datos obtenidos sean limitados.

Si tenemos en cuenta las características clínicas de nuestra población llama la atención en los subtipos moleculares una prevalencia de cáncer de mama triple negativo superior a los otros, donde 26% de nuestras pacientes evaluadas correspondían al mismo. Sin embargo, al estar contenidas en un intervalo de confianza del 95% entre 12 y 43% no hay diferencia a las descripciones de prevalencia de este subtipo molecular, donde las mismas representan aproximadamente el

15%-20%.¹⁹ Por otro lado, si bien se observó una respuesta patológica completa mayor en el subtipo molecular Her 2 positivo, los tumores Luminal A presentaron la misma en el 25% de los casos. En un metaanálisis de asociación de respuesta patológica a la quimioterapia neoadyuvante de Houssami y col, la tasa de respuesta patológica completa en tumores con receptor hormonal positivo fue de 8,3%.²⁰

Al observar los niveles de TIL en las pacientes antes de la quimioterapia neoadyuvante se observó que 26% presentó niveles bajos, 41% nivel intermedio y 32% nivel alto. El subtipo molecular triple negativo presentó una mayor frecuencia de niveles de TIL Alto (67%), mientras que el subtipo HER 2 Positivo, luminal A y luminal B Her 2 positivo, una frecuencia mayor de nivel de TIL intermedio: 67%, 62% y 50% respectivamente. El subtipo molecular luminal B presentó igual frecuencia de nivel de TIL Bajo e Intermedio de 37%. En un estudio prospectivo fase III de quimioterapia adyuvante en pacientes con ganglios positivos, Loi y col. observaron que los TIL fueron más altos en los subtipos triple negativo y HER2 positivo en comparación con el subgrupo receptor hormonal positivo HER2-negativo.²¹

Evaluando las pacientes que presentaron respuesta patológica completa, se observó que tuvieron igual frecuencias de TIL Bajo, Intermedio y Alto, de 33% respectivamente, no encontrándose evidencia de asociación significativa, a diferencia de los reportado por Denkert y col., donde la tasa de respuesta patológica completa fue significativamente mayor en los tumores con TIL Alto.²²

La determinación de los niveles de TIL después de la quimioterapia neoadyuvante observó que 43% de las pacientes presentaron disminución del nivel de TIL, mientras que 39% no presentó cambios respecto a la biopsia previa, similar a lo reportado por Hamy y col.²³

En la evaluación de los cambios de niveles de TIL en respuesta a la quimioterapia neoadyuvante según el subtipo molecular sí se evidenció asociación estadística, donde la mayor proporción de las pacientes con tumores luminal A, luminal B HER 2 positivos y triple negativo presentaron disminución de los niveles de TIL, mientras que el 100% de las pacientes HER 2 positivo presentaron aumento y el 62% de las pacientes Luminal B no presentó cambios. Estos resultados contrastan a lo evaluado por Park y col., donde los niveles de TIL aumentaron durante el tratamiento en el 85% de los casos de tumores triple negativo y disminuyeron en el 62% de los casos de otros subtipos moleculares²⁴. Luen y col. observaron una diversidad considerable en el cambio dinámico en los niveles de TIL, donde el 48% de los pacientes experimentó un aumento de sus niveles y el 47% disminución, sugiriendo así que pueden ocurrir respuestas in-

munes heterogéneas a la quimioterapia neoadyuvante.²⁵ Respecto al aumento encontrado de los niveles de TIL en tumores HER 2 positivos, Ali y col. destacaron que un aumento en la densidad de linfocitos estaba asociado con una quimio resistencia relativa.²⁶ Hamy y col., en un estudio sobre 175 pacientes con tumores Her 2 positivos postulan un impacto pronóstico adverso de los niveles de TIL altos posteriores a la quimioterapia neoadyuvante, donde el aumento de sus niveles reflejaría que los infiltrados no eliminarían las células tumorales de forma eficaz, ya sea porque no han tenido suficiente tiempo para erradicarlas o porque la respuesta inmunitaria no reconoce las células tumorales quizás por un entorno inmunosupresor circundante, concluyendo así que una determinación temprana de los cambios en los niveles de TIL durante la quimioterapia podría ser útil como un sustituto temprano de la resistencia a la quimioterapia y podría ofrecer la posibilidad de un cambio prematuro a tratamientos de segunda línea.²⁷

Al analizar la sobrevida global y libre de enfermedad se observó que las pacientes que no tuvieron cambios en los niveles de TIL fueron las que presentaron mayor supervivencia. Si bien en el análisis univariado el cambio de los niveles de TIL se asoció a mayor riesgo de recurrencia de enfermedad, en el análisis multivariado no constituyó una variable independiente. A diferencia de estos resultados, Denkert y col. observaron que las pacientes con concentraciones de TIL aumentadas tuvieron una supervivencia libre de enfermedad y una supervivencia global significativamente más largas que las que disminuyeron los niveles, sin embargo, al incluir otras variables en el análisis multivariable, la asociación también dejó de ser significativa.¹⁰

Estudios de inmunotinción para discriminar las células inmunes permitirán aclarar el efecto antitumoral de la quimioterapia a través del sistema inmune y su implicancia en el pronóstico de las pacientes.

CONCLUSIÓN

Luego de la quimioterapia neoadyuvante las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama localmente avanzado experimentan disminución de los niveles de TIL o ausencia de cambios en los mismos, sin embargo los tumores HER 2 positivo muestran aumento de los niveles de TIL. Al contrastar los resultados con la bibliografía disponible, los datos son controvertidos sobre el valor pronóstico de los cambios de TIL en el manejo de las pacientes. Se propone realizar investigación de los mismos de forma multicéntrica y prospectiva para obtener resultados más concluyentes.

REFERENCIAS

1. Wolmark N, Wang J, Mamounas E, Bryant J, Fisher B. Pre operative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2001; 30: 96-102. ◀
2. Van der Hage JA, Van de Velde CJ, Julien JP, Tubiana-Hulin M, Vandervelden C, Duchateau L. Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of Cancer trial 10902. *J Clin Oncol* 2001; 19(22): 4224-4237. ◀
3. Mayer EL, Carey LA, Burstein HJ. Clinical trial update: implications and management of residual disease after neoadjuvant therapy for breast cancer. *Breast Cancer Res* 2007; 9(5): 110. ◀
4. Sachelarie I, Grossbard ML, Chadha M, Feldman S, Ghesani M, Blum RH. Primary systemic therapy of breast cancer. *Oncologist* 2006; 11(6): 574-589. ◀
5. Fisher B, Brown A, Mamounas E, et al. Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Clin Oncol* 1997; 15 (7): 2483-2493. ◀
6. Esserman LJ, Berry DA, Cheang MCU, et al. Chemotherapy response and recurrence-free survival in Neoadjuvant breast cancer depends on biomarker profiles: Results from the I-SPY 1 TRIAL (CALGB 150007/150012; ACRIN 6657). *Breast Cancer Res Treat* 2012; 132 (3): 1049-1062. ◀
7. Andre F, Dieci MV, Dubsy P, et al. Molecular pathways: involvement of immune pathways in the therapeutic response and outcome in breast cancer, *Clin. Cancer Res* 2013; 19 (1): 28-33. ◀
8. Galluzzi L, Buque A, Kepp O, Zitvogel L, Kroemer G. Immunological effects of conventional chemotherapy and targeted anticancer agents. *Cancer Cell* 2015; 28 (6): 690-714. ◀
9. Dieci MV, Criscitiello C, Goubar A, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: A retrospective multicenter study. *Ann Oncol* 2014; 25(3): 611-8. ◀
10. 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(1): 40-50. ◀◀◀◀
11. Stanton SE, Adams S, Disis ML. Variation in the incidence and magnitude of tumour-infiltrating lymphocytes in breast cancer subtypes: a systematic review. *JAMA Oncol* 2016; 2: 1354-1360. ◀
12. El Bairi K, Haynes HR, Blackley E, et al. The tale of TILs in breast cancer: A report from The International Immuno-Oncology Biomarker Working Group. *NPI breast cancer* 2021; 7(1): 150. ◀
13. 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 (2): 259-271. ◀◀
14. Demaria S, Volm MD, Shapiro RL, et al. Development of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer after neoadjuvant paclitaxel chemotherapy, *Clin. Cancer Res* 2001; 7 (10): 3025-3030. ◀
15. Tan PH, Ellis I, Allison K, et al. The 2019 World Health Organization classification of tumours of the breast. *Histopathology* 2020; 77 (2): 181-185. ◀
16. Elston CW, Ellis IO. Assessment of histologic grade. In: Elston CW, Ellis IO, editors. *Systemic pathology: the breast*. 3rd ed., Vol. 13. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1998. pp. 365-84. ◀
17. Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017; 67 (2): 93-99. ◀
18. Dieci MV, Radosevic-Robin N, Fineberg S, et al. International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. 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 Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. *Semin Cancer Biol* 2018; 52 (2): 16-25. ◀◀
19. Nielsen T, Hsu F, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10 (16): 5367-5374. ◀
20. Houssami, N, Macaskill, P, von Minckwitz, G, Marinovich ML, Mamounas, E. Meta-analysis of the association of breast cancer subtype and pathologic complete response

to neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Cancer* 2012; 48 (18): 3342–3354. ◀

21. Loi S, Sirtaine N, Piette F. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol* 2013; 31 (7): 860-867. ◀

22. Denkert C, Loibl S, Noske A, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28 (1): 105-113. ◀

23. Hamy AS, Bonsang-Kitzis H, De Croze D, et al. Interaction between Molecular Subtypes and Stromal Immune Infiltration before and after Treatment in Breast Cancer Patients Treated with Neoadjuvant Chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2019; 25 (22): 6731-6741. ◀

24. Park, YH., Lal, S., Lee, JE. et al. Chemotherapy induces dynamic immune responses in breast cancers that impact treatment outcome. *Nat Commun* 2020; 11 (1): 6175. ◀

25. Luen SJ, Salgado R, Dieci MV, et al. Prognostic implications of residual disease tumor-infiltrating lymphocytes and residual cancer burden in triple-negative breast cancer patients after neoadjuvant chemotherapy. *Ann Oncol* 2019; 30 (2): 236-242. ◀

26. Ali HR., Dariush A, Provenzano E, et al. Computational pathology of pre-treatment biopsies identifies lymphocyte density as a predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2016; 18 (1): 21. ◀

27. Hamy AS, Pierga JY, Sabaila A, et al. Stromal lymphocyte infiltration after neoadjuvant chemotherapy is associated with aggressive residual disease and lower disease-free survival in HER2-positive breast cancer. *Ann Oncol* 2017; 28 (9): 2233-2240. ◀

DEBATE

Dr. Cassab: Felicitaciones por el trabajo. ¿La presencia de TILs muy bajos, 5-8%, contraindicaría una quimioterapia de entrada? ¿Podríamos homologar un TIL muy bajo a un luminal A, por ejemplo, fuertemente receptores positivos?

Dr. Martel Bustamante: Fundamentalmente en los luminales, es de los tumores en que la evaluación de los TILs es donde menos está documentada su implicancia de valor pronóstico. No es tanto con los triple negativos, HER2+ donde tumores con TILs elevados tienen una mejor respuesta al tratamiento. Los TILs bajos podrían resultar en una pobre respuesta al tratamiento pero todavía los resultados son controvertidos con los luminales.

Dr. Cassab: ¿En la experiencia de ustedes, las pacientes que tenían TILs muy bajos de entrada, tuvieron respuesta al tratamiento?

Dr. Martel Bustamante: En las pacientes con tumores luminales tuvimos el 26% de respuesta patológica completa y eso fue lo que llamó la atención, a diferencia de lo que ocurre normalmente.

Dr. Bustamante: Un dato observacional, me llamó la atención la cantidad de estadios avanzados en los que hicieron 80% de mastectomías. Son muchos estadios avanzados.

Dr. Martel Bustamante: La mayoría de nuestras pacientes son estadios avanzados, exactamente el mismo problema que se venía comentando hasta hace rato. Generalmente la indicación de neoadyuvancia es mandatoria en estas pacientes, que muchas veces, sobre todo aquellas de pueblos originarios, no cumplen.

Dr. Bustamante: ¿Los TILs los tienen en la biopsia, en la Core?

Dr. Martel Bustamante: Sí, en la biopsia incisional o la Core.

Dr. Bustamante: Igual es un dato más, porque en realidad no le van a implementar un tratamiento distinto de ninguna manera porque tengan los TILs altos o bajos.

Dra. Fabiano: ¿Los TILs del 2010 estaban evaluados o tuvieron que volver a revisarlos?

Dr. Martel Bustamante: Se revisaron los TILs desde el 2017 para atrás. Del 2017 en adelante en mi hospital estaban informados si era un tumor rico en TILs o pobre infiltrado en TILs, no con el porcentaje, entonces se revisaron todos los datos y se les colocaron los porcentajes.

Dr. Cassab: Muchas gracias Dr. Martel Bustamante.