UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
INSTITUTO DE ONCOLOGÍA “DR. MIGUEL PÉREZ CARREÑO”
POSTGRADO DE MEDICINA ONCOLÓGICA

DETERMINACIÓN DEL VALOR PRONÓSTICO DE LOS LINFOCITOS INFILTRANTES DEL TUMOR EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA TRATADOS CON NEOADYUVANCIA

Trabajo especial de grado presentado como requisito

para obtener el título de especialista en Medicina Oncológica:

Jesús Armando León Bracho

Bárbula, Noviembre de 2023

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
INSTITUTO DE ONCOLOGÍA “DR. MIGUEL PÉREZ CARREÑO”
POSTGRADO DE MEDICINA ONCOLÓGICA

DETERMINACIÓN DEL VALOR PRONÓSTICO DE LOS LINFOCITOS INFILTRANTES DEL TUMOR EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA TRATADOS CON NEOADYUVANCIA.

Trabajo especial de grado presentado como requisito

para obtener el título de especialista en Medicina Oncológica:

Jesús Armando León Bracho.

Tutor: Liliana Castillo.

Bárbula, Noviembre de 2023

Universidad de Carabobo

Valencia – Venezuela

Facultad de Ciencias de la Salud

Dirección de Asuntos Estudiantiles
Sede Carabobo

ACTA DE DISCUSIÓN DE TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

En atención a lo dispuesto en los Artículos 127, 128, 137, 138 y 139 del Reglamento de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo, quienes suscribimos como Jurado designado por el Consejo de Postgrado de la Facultad de Ciencias de la Salud, de acuerdo a lo previsto en el Artículo 135 del citado Reglamento, para estudiar el Trabajo Especial de Grado titulado:

DETERMINACIÓN DEL VALOR PRONÓSTICO DE LOS LINFOCITOS INFILTRANTES DEL TUMOR EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA TRATADOS CON NEOADYUVANCIA

Presentado para optar al grado de **Especialista en Medicina Oncológica** por el (la) aspirante:

LEÓN B. JESÚS A.
C.I. V – 19350640

Habiendo examinado el Trabajo presentado, bajo la tutoría del profesor(a): Liliana Castillo C.I. 7122231, decidimos que el mismo está **APROBADO .**

Acta que se expide en valencia, en fecha: **16/12/2023**

Prof. Liliana Castillo
(Pdte)
C.I. 7122231
Fecha 16/12/23

Prof. María I. Cobos
C.I. 9088667
Fecha 16/12/23

República Bolivariana de Venezuela
UNIVERSIDAD DE CARABOBO
DIRECCIÓN DE ASUNTOS ESTUDIANTILES
SEDE CARABOBO
Facultad de Ciencias de la Salud

Prof. Aldo Reigosa
C.I. 4879129
Fecha 16/12/23

TG:**114-23**

DETERMINACIÓN DEL VALOR PRONÓSTICO DE LOS LINFOCITOS INFILTRANTES DEL TUMOR EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA TRATADOS CON NEOADYUVANCIA.

Autor: Jesús Armando León Bracho

RESUMEN

Introducción: Los linfocitos infiltrantes del tumor se definen como la suma de todas las células mononucleares, incluidos linfocitos y células plasmáticas, en el tumor y su porcentaje de infiltración muestras tumorales de pacientes no tratados se ha correlacionado con el pronóstico de los subtipos de cáncer de mama. La utilidad de su determinación en enfermedad residual posneoadyuvancia no está definida. **Objetivo:** Determinar el valor pronóstico de los linfocitos infiltrantes del tumor en la enfermedad residual de pacientes con cáncer de mama tratados con neoadyuvancia. **Materiales y métodos:** Estudio clínico, descriptivo, transversal, retrospectivo y no experimental, que incluyó 35 pacientes con cáncer de mama. Se realizó revisión de historias médicas y evaluación de linfocitos infiltrantes del tumor en muestras de enfermedad residual posneoadyuvancia. **Resultados:** Tras 5 años de seguimiento, la sobrevida libre de enfermedad fue de 37,1% (Me=46 meses) y la sobrevida global fue de 42,9% (Me=58 meses); para cada parámetro se encontró relación con el porcentaje de linfocitos infiltrantes del tumor estadísticamente significativa ($p=0,022$ y $p<0,001$, respectivamente). **Conclusión:** La presencia de linfocitos infiltrantes del tumor mayores al 40% en la enfermedad residual posneoadyuvancia parece representar un factor de buen pronóstico asociado a sobrevidas libres de enfermedad y sobrevidas globales más prolongadas.

Palabras clave: Cáncer de mama, linfocitos infiltrantes del tumor, factor pronóstico, neoadyuvancia.

DETERMINATION OF THE PROGNOSTIC VALUE OF TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH BREAST CANCER TREATED WITH NEOADJUVANCE.

Author: Jesús Armando León Bracho

ABSTRACT

Introduction: Tumor-infiltrating lymphocytes are defined as the sum of all mononuclear cells, including lymphocytes and plasma cells, in the tumor and their percentage of infiltration tumor samples from untreated patients has been correlated with the prognosis of cancer subtypes. mother. The usefulness of its determination in post-neoadjuvant residual disease is not defined. **Objective:** Determine the prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in the residual disease of breast cancer patients treated with neoadjuvant treatment. **Materials and methods:** Clinical, descriptive, cross-sectional, retrospective and non-experimental study, which included 35 patients with breast cancer. A review of medical records and evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes was performed in post-neoadjuvant residual disease samples. **Results:** After 5 years of follow-up, disease-free survival was 37.1% (Me=46 months) and overall survival was 42.9% (Me=58 months); For each parameter, a statistically significant relationship was found with the percentage of tumor infiltrating lymphocytes ($p=0.022$ and $p<0.001$, respectively). **Conclusion:** The presence of tumor-infiltrating lymphocytes greater than 40% in post-neoadjuvant residual disease seems to represent a good prognostic factor associated with longer disease-free survival and overall survival.

Keywords: Breast cancer, tumor infiltrating lymphocytes, prognostic factor, neoadjuvant.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama comprende un grupo heterogéneo de entidades clínicas que ocupa el primer lugar en incidencia y mortalidad a nivel mundial para las mujeres según Globocan 2020 (2.261.419 y 684.996 casos, respectivamente) (1). El boletín de los pronósticos de la mortalidad e incidencia del cáncer en Venezuela 2019 de la Sociedad Anticancerosa de Venezuela reporta que el cáncer de mama ocupa el segundo lugar de la tabla de incidencia, cuya tasa, en 2019, fue de 38,79 nuevos casos por cada 100.000 mujeres, así como la tercera posición en mortalidad, cuya tasa anual alcanzó a 15,50 fallecidas por cada 100.000 mujeres. (2).

El cáncer de mama es clasificado tradicionalmente de acuerdo a la expresión de receptores hormonales (receptor de estrógenos y receptor de progesterona) y el receptor del factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2 (HER2, por sus siglas en inglés) en tres subtipos: cáncer de mama luminal (con receptores hormonales positivos, dividido a su vez en luminal A y luminal B), cáncer de mama HER2 enriquecido y cáncer de mama triple negativo, los cuales representan aproximadamente el 70%, 15-20% y 10-15% de todos los que son diagnosticados, respectivamente (3).

Actualmente, el tratamiento estándar de las pacientes con cáncer de mama localmente avanzado –así como aquellas con subtipo molecular HER2 enriquecido y triple negativo en estadios tempranos– consiste en quimioterapia neoadyuvante basada en antraciclinas con o sin un taxano, debiendo asociarse Trastuzumab con o

sin Pertuzumab neoadyuvante a pacientes con cáncer de mama HER2 positivo. Posteriormente, el tratamiento local consiste regularmente en mastectomía total con linfadenectomía de niveles axilares I-II con o sin reconstrucción mamaria o mastectomía parcial con linfadenectomía de niveles axilares I-II (4).

Uno de los principales beneficios de la terapia sistémica neoadyuvante es la evaluación de marcadores precoces útiles para predecir la evolución a largo plazo, así como validar nuevos tratamientos. Los ensayos clínicos de neoadyuvancia han demostrado que las pacientes que alcanzaron respuesta patológica completa (pCR, por sus siglas en inglés) -definida como la ausencia de carcinoma residual invasivo en la mama y ganglios linfáticos después de la neoadyuvancia- tuvieron mejores resultados en términos de sobrevida global y sobrevida libre de enfermedad con tasas de riesgo variable en dependencia al subtipo intrínseco (5, 6). Aquellos altamente proliferativos y más agresivos como el cáncer de mama HER2 positivo no luminal y el cáncer de mama triple negativo tienen mayor probabilidad de responder a la terapia sistémica neoadyuvante y la asociación entre la ausencia de la pCR y pronóstico desfavorable es mayor en estos subtipos en comparación con los luminales (6, 7). Sin embargo, algunos pacientes sin pCR sobrevivirán a largo plazo, mientras que algunos con pCR recaerán, existiendo limitaciones en este parámetro como objetivo subrogado al evaluar la eficacia de un fármaco.

Los linfocitos infiltrantes del tumor (TIL, por sus siglas en inglés) se definen como la suma de todas las células mononucleares, incluidos linfocitos y células plasmáticas, en el tumor identificado mediante criterios morfológicos clásicos; se cree

que la presencia en el tumor refleja la respuesta inmune antitumoral en curso del huésped (8). Los TIL evaluados en las muestras de biopsia por aguja gruesa en pacientes no tratadas representan un biomarcador sustituto de la inmunidad antitumoral mediada por linfocitos, cuya activación se relaciona con mejores resultados en pacientes con cáncer de mama triple negativo. El enriquecimiento en TIL puede identificar tumores altamente inmunogénicos e inmunovulnerables, así como pacientes con un mejor pronóstico que pueden necesitar tratamientos desintensificados, por ejemplo, menos quimioterapia o ninguna quimioterapia. La validez clínica de los TIL, en particular como biomarcadores de pronóstico, se ha evaluado ampliamente en el subtipo triple negativo (9).

Los TIL evaluados en enfermedad residual después de la terapia sistémica neoadyuvante se han sugerido como un marcador potencialmente útil y fiable para refinar la estratificación del riesgo e identificar pacientes que pueden beneficiarse de los tratamientos sistémicos adicionales (10). Se han caracterizado como factores predictivos de respuesta a la quimioterapia neoadyuvante en cáncer de mama triple negativo y HER2 positivo, pero su rol en el cáncer de mama luminal y el efecto de los TIL sobre el pronóstico en todos los subtipos es menos claro (11).

Actualmente se acepta que el efecto antitumoral de la quimioterapia es parcialmente ejercido a través de la modulación del sistema inmune en un proceso conocido como muerte celular inmunogénica (11, 12). Asimismo, existen estudios que indican que la administración de quimioterapia resulta en la atracción y activación de TIL en el lecho tumoral (12). De modo similar, pacientes con cáncer de

mama HER2 positivo mostraron un incremento en TIL después de la exposición a Trastuzumab de acuerdo con el mecanismo de acción de los anticuerpos monoclonales presumiblemente inmunomediado (14-16). En consecuencia, los TIL en enfermedad residual difieren en naturaleza no sólo de los TIL basales, sino que también pueden reflejar la capacidad del tratamiento para obtener una respuesta inmune antitumoral (17).

Reportes preliminares de Asano y colaboradores (18) sugieren que la combinación de la carga tumoral residual (*Residual Cancer Burden* o RCB) y los TIL es un predictor significativo de recurrencia del cáncer de mama después de la neoadyuvancia, pudiendo ser un indicador más sensible que los TIL aislados.

Deici y colaboradores (19) evaluaron retrospectivamente los TIL en cortes teñidos con hematoxilina y eosina de los especímenes quirúrgicos de 278 pacientes con cáncer de mama triple negativo con enfermedad residual postquimioterapia neoadyuvante, reportando una correlación significativa e independiente de los TIL con la sobrevida global y la sobrevida libre de metástasis, con una reducción relativa del 21% del riesgo de metástasis y muerte por cada incremento del 10% de los TIL.

Un metaanálisis de 6 estudios aleatorizados hechos por el Grupo Alemán de Cáncer de Mama (11) concluyó que un 10% de incremento de los TIL se asoció de forma significativa con la prolongación de la sobrevida libre de enfermedad en cáncer de mama triple negativo (HR 0,93, p=0,011) y cáncer de mama HER2 positivo no luminal (HR 0,94; p=0,017), así como con la prolongación de la sobrevida global en

cáncer de mama triple negativo (HR 0,92; p=0,032) y su acortamiento en tumores luminales HER2 negativo (HR 1,10; p=0,011).

El Grupo de Trabajo Internacional de Biomarcadores de Inmuno-Oncología en Cáncer de Mama emitió en 2018 las recomendaciones para la evaluación de TIL en cáncer de mama primario y su adaptación a enfermedad residual después de la terapia sistémica neoadyuvante, especificando la metodología para la selección del área del tumor, el tipo de células inmunes, la localización y el método de puntuación (10).

En vista de no existir estudios locales que determinen el valor pronóstico de los TIL en cáncer de mama localmente avanzado como parámetro de respuesta patológica a la terapia sistémica neoadyuvante, surge la necesidad de evaluar su comportamiento en la enfermedad residual y su relación con la sobrevida libre de enfermedad y global para identificar grupos de alto riesgo que se beneficien de tratamiento adyuvante.

En ese sentido se propuso como objetivo de la investigación determinar el valor pronóstico de los linfocitos infiltrantes del tumor en la enfermedad residual de pacientes con cáncer de mama tratados con neoadyuvancia. Para esto se decidió clasificar a las pacientes con cáncer de mama de acuerdo a las características clínicas, histológicas y moleculares y el esquema de tratamiento neoadyuvante empleado, cuantificar los linfocitos infiltrantes del tumor en las biopsias de los especímenes quirúrgicos con enfermedad residual, calcular la sobrevida global y

sobrevida libre de enfermedad y relacionarlas con los niveles de linfocitos infiltrantes del tumor, las características clínicas y el tratamiento recibido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio clínico, descriptivo, transversal, retrospectivo y no experimental, en el cual se incluyeron pacientes femeninos, mayores de 18 años, con diagnóstico de carcinoma invasor de la mama, con tipificación inmunohistoquímica inicial, que cumplieron terapia sistémica neoadyuvante seguida de una mastectomía radical modificada y que acudieron a las consultas de control y seguimiento en la institución por al menos 5 años. Adicionalmente, debía tenerse disponibles las láminas histológicas del espécimen quirúrgico viables para la evaluación de los TIL.

Previa autorización del proyecto de investigación por parte de la Coordinación Docente del Instituto de Oncología “Dr. Miguel Pérez Carreño”, se realizó la revisión de historias médicas de las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama que cumplieron los criterios de selección.

Los datos obtenidos de la información registrada en las historias clínicas correspondieron a las variables: edad, categoría “T”, categoría “N”, estadio clínico, grado histológico, estatus del receptor de estrógeno, receptor de progesterona, HER2 y Ki-67 (identificados en las muestras de biopsia por aguja gruesa, previas al tratamiento neoadyuvante), subtipo molecular, antraciclina recibida, taxano recibido, localización de la primera recaída, intervalo hasta la primera recaída e intervalo hasta la muerte (estos últimos, dentro de los 5 años de seguimiento a partir del momento de la cirugía radical).

El análisis histopatológico del porcentaje de TIL, determinado en las muestras de enfermedad residual posquimioterapia neoadyuvante, se evaluó en una única sección tumoral teñida con hematoxilina y eosina (HE) utilizando los criterios descritos por Salgado y colaboradores (20). Los TIL se definieron como los linfocitos infiltrantes dentro del estroma tumoral y se expresaron mediante la proporción del campo investigado, y el número de TIL en el estroma que rodea las células cancerosas teñidas se midió cuantitativamente en cada campo con un aumento de 400 veces. No se incluyeron las áreas de carcinoma in situ ni artefactos de aplastamiento. Según los niveles de TIL, se clasificaron dichos porcentajes en las categorías “bajo”, “intermedio” y “alto” si el área del estroma que contenía infiltración linfoplasmocítica alrededor de los nidos de células tumorales invasivas comprendía ≤10%, >10–40% y >40%, respectivamente. La evaluación histopatológica de los TIL fue realizada por un médico patólogo, que estaba cegado a la información clínica, incluida la asignación del tratamiento y los resultados.

Para el análisis estadístico, se calcularon las distribuciones de frecuencia absolutas y relativas (%) para las variables cualitativas y se construyeron los intervalos al 95% de confianza para las frecuencias relativas ($IC_{95\%}$). Se calcularon los estadísticos descriptivos media aritmética ($\bar{x}$), desviación estándar (DE) y valores mínimo y máximo para la edad de las pacientes y se construyó el intervalo al 95% de confianza para la media poblacional ($IC_{95\%}$), por otra parte, para las variables TIL, tiempo de recaída y tiempo de muerte se calcularon los estadísticos mediana, primer cuartil (Q_1), tercer cuartil (Q_3), valores mínimo y máximo y se construyó el intervalo al

95% de confianza para la mediana poblacional ($IC_{95\%}$). Se cruzaron las variables cualitativas y categorizadas con las categorías de TIL para construir las tablas de contingencia correspondientes, sobre éstas se aplicó la prueba de independencia de chi-cuadrado (χ^2) para detectar asociaciones entre pares de variables, asimismo, se construyeron los gráficos de barra para la frecuencia relativa (%) a fin de caracterizar las asociaciones detectadas. Se llevó a cabo el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier para la sobrevida libre de enfermedad y la sobrevida global durante 5 años de seguimiento, se construyeron las curvas de supervivencia, se estimaron la media y la mediana de la sobrevida y los correspondientes intervalos al 95% de confianza, la comparación para las variables cualitativas se realizó con la prueba log-rank. El nivel de significación se fijó en 5% y 10%, por lo que un resultado se consideró estadísticamente significativo al 5% si $p \leq 0,05$ y estadísticamente significativo al 10% si $p \leq 0,10$. Los datos se procesaron con los programas estadísticos EPI INFO 7.2.5 (frecuencias absolutas y relativas e intervalos al 95% de confianza para las frecuencias relativas), R 4.3.2 (intervalos de confianza para la mediana), Minitab 21.3 (estadísticos descriptivos e intervalos al 95% confianza para la media) y SPSS 27.0 (prueba de independencia de χ^2, análisis de supervivencia de Kaplan-Meier).

RESULTADOS

La muestra estuvo constituida por 35 pacientes de sexo femenino, con edades comprendidas entre 35 y 76 años, $\bar{x}$ = 51,74 ± 10,74 años, todas con cáncer de mama, atendidas en el Instituto de Oncología “Dr. Miguel Pérez Carreño” durante el período 2000-2015. De estas pacientes, 13 (37,14%) presentaron enfermedad T2 y 14 (40%) T3; más del 90% se categorizó con ganglios positivos, con 11 de ellas (31,43%) en estadio II y 24 (68,57%) en estadio III. Los subtipos moleculares mayormente representados fueron triple negativo (37,14%) y luminal B (34,29%). Todas las pacientes recibieron quimioterapia neoadyuvante con antraciclinas, 31 (88,57%) con Doxorrubicina y 4 (11,43%) Epirrubicina, mientras que sólo el 60% recibió taxanos, siendo el Docetaxel el predominante en 14 pacientes (40%). Los TIL oscilaron entre 0% y 90%, mediana=20%, Q_1=10%, Q_3=60%, de tal manera que 10 (28,57%) pacientes tenían TIL con infiltración baja, 14 (40%) intermedia y 11 (31,43%) alta, (tabla 1).

Tabla 1. Características clínicas.

Variable	Categorías	Frecuencia	%	$IC_{95\%}$
Edad (años)		51,74 ± 10,74; (35 – 76)		48,05 – 55,43
Categoría T	2	13	37,14	21,47 – 55,08
	3	14	40,00	23,87 – 57,89
	4	8	22,86	10,42 – 40,14
Categoría N	0	3	8,57	1,80 – 23,06
	1	20	57,14	39,35 – 73,68
	2	11	31,43	16,85 – 49,29
	3	1	2,86	0,07 – 14,92
Estadio	II	11	31,43	16,85 – 49,29
	III	24	68,57	50,71 – 83,15
Grado histológico	I	5	14,29	4,81 – 30,26
	II	19	54,29	36,65 – 71,17
	III	11	31,43	16,85 – 49,29
Subtipo molecular	Luminal A	8	22,86	10,42 – 40,14
	Luminal B	12	34,29	19,13 – 52,21
	HER2 enriquecido	2	5,71	0,70 – 19,16
	Triple negativo	13	37,14	21,47 – 55,08
Antraciclina	Doxorrubicina	31	88,57	73,26 – 96,80
	Epirrubicina	4	11,43	3,20 – 26,74
Taxano	Docetaxel	14	40,00	23,87 – 57,89
	Paclitaxel	7	20,00	8,44 – 36,94
	Ninguno	14	40,00	23,87 – 57,89
TIL (%)		20 (10 – 60) (0 – 90)		20 – 40
TIL	Bajo (≤10%)	10	28,57	14,64 – 46,30
	Intermedio (>10-40%)	14	40,00	23,87 – 57,89
	Alto (>40%)	11	31,43	16,85 – 49,29

Nota: La variable edad se presenta con el formato '$\bar{x}$ ± DE; (mínimo – máximo)'. La variable TIL (%) se presenta con el formato 'Mediana (Q_1 – Q_3) (mínimo – máximo)'.

La mediana del tiempo de sobrevida de las pacientes antes de la primera recaída fue de 46 meses, mostrando una curva de supervivencia de Kaplan-Meier con tendencia a presentar una tasa de recaídas homogénea durante el seguimiento con sobrevida libre de enfermedad a 5 años de 37,1%, (figura 1).

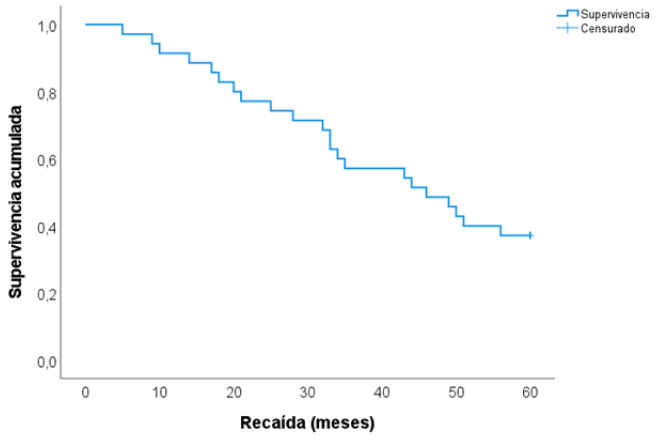

Figura 1. Curva general de sobrevida libre de enfermedad (meses).

La prueba de log-rank para comparación de curvas de supervivencia clasificadas por estratos, indicó que hubo diferencias estadísticamente significativas al 10% para el subtipo molecular (p=0,054) y al 5% para los TIL (p=0,022). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el resto de las variables consideradas (p>0,10), (tabla 2).

Tabla 2. Mediana de sobrevida libre de enfermedad estratificada por variables clínicas.

Variable	Categorías	$Me \pm DE$	$IC_{95\%}$	p
General	-	46 ± 8,87	28,61 - 63,39	-
Categoría T	2	33 ± 6,59	20,08 - 45,92	0,416
	3	51 ± 9,35	32,67 - 69,33	
	4	49		
Categoría N	0			0,156
	1	43 ± 10,06	23,28 - 62,72	
	2	46		
	3	18		
Estadio	II	33 ± 6,06	21,13 - 44,87	0,143
	III	51		
Grado histológico	I	56 ± 30,67	0,00 - 116,12	0,736
	II	46 ± 4,35	37,47 - 54,53	
	III	34 ± 13,21	8,11 - 59,89	
Subtipo molecular	Luminal A			0,054*
	Luminal B	32 ± 5,20	21,82 - 42,18	
	HER2 enriquecido	51		
	Triple Negativo	50		
Antraciclina	Doxorrubicina	43 ± 8,90	25,55 - 60,45	0,405
	Epirrubicina	50		
Taxano	Docetaxel	33 ± 0,93	31,19 - 34,81	0,462
	Paclitaxel	44 ± 11,78	20,90 - 67,10	
	No	51 ± 6,55	38,17 - 63,83	
TIL	Bajo (≤10%)	21 ± 6,32	8,60 - 33,40	0,022**
	Intermedio (>10-40%)	56		
	Alto (>40%)	51		

Notas: (**) Diferencias estadísticamente significativas al 5%. (*) Diferencias estadísticamente significativas al 10%.

En la figura 2 puede apreciarse que las pacientes con infiltración de TIL intermedia y alta presentaron curvas similares con una sobrevida libre de enfermedad a 5 años de 50% y 45,5%, respectivamente, a diferencia de las pacientes con baja infiltración de TIL con 10%, (figura 2).

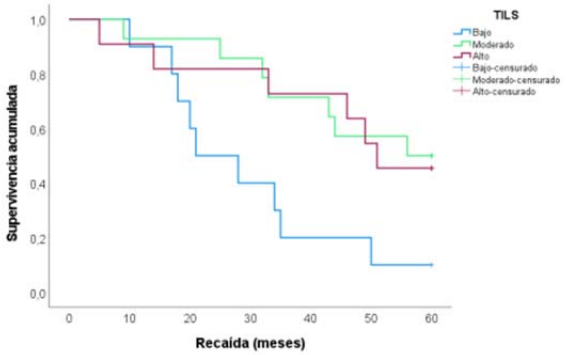

Figura 2. Curvas de sobrevida libre de enfermedad (meses) clasificadas por TIL.

La mediana de tiempo de sobrevida de las pacientes hasta la muerte fue de 58 meses, mostrando una curva de supervivencia de Kaplan-Meier en la que a partir del mes 17 fallecieron a una tasa aproximadamente constante con sobrevida global a 5 años del 42,9%, (figura 3).

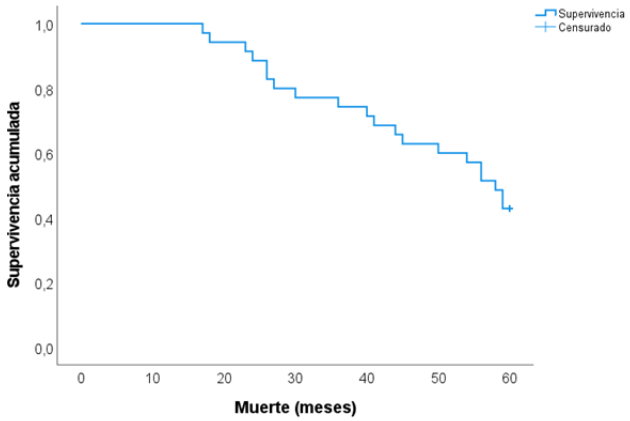

Figura 3. Curva general de sobrevida global (meses).

La prueba de log-rank para comparación de curvas de supervivencia clasificadas por estratos, indicó que hubo diferencias estadísticamente significativas al 10% para la categoría T (p=0,088), el estadio de la enfermedad (p=0,062) y el grado histológico (p=0,093) y al 5% para la antraciclina utilizada (p=0,013), el tratamiento con taxano (p=0,002) y los TIL (p<0,001). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el resto de las variables consideradas (p>0,10), (tabla 3).

Tabla 3. Mediana de sobrevida global estratificada por variables clínicas.

Variable	Categorías	$Me \pm DE$	$IC_{95\%}$	p
General		58 ± 2,96	52,20 - 63,80	-
Categoría T	2	54 ± 4,94	44,31 - 63,69	0,088*
	3	59		
	4			
Categoría N	0	59 ± 34,29	0,00 - 126,21	0,481
	1	54 ± 6,71	40,85 - 67,15	
	2			
	3	36		
Estadio	II	50 ± 5,50	39,21 - 60,79	0,062*
	III			
Grado histológico	I			0,093*
	II	59		
	III	45 ± 11,01	23,42 - 66,58	
Subtipo molecular	Luminal A			0,386
	Luminal B	44 ± 11,26	21,93 - 66,07	
	HER2 enriquecido	59		
	Triple negativo	50 ± 15,58	19,47 - 80,53	
Antraciclina	Doxorrubicina	59		0,013**
	Epirrubicina	24 ± 16,50	0,00 - 56,34	
Taxano	Docetaxel	56 ± 10,18	36,04 - 75,96	0,002**
	Paclitaxel	26 ± 3,93	18,30 - 33,70	
	Ninguno			
TIL	Bajo (≤10%)	36 ± 11,07	14,31 - 57,69	<0,001**
	Intermedio (>10-40%)			
	Alto (>40%)			

Notas: (**) Diferencias estadísticamente significativas al 5%. (*) Diferencias estadísticamente significativas al 10%.

Las pacientes con infiltración de TIL moderada y alta mostraron curvas similares, con sobrevida global a 5 años de 64,3% para TIL moderado y 54,5% para TIL alto al cabo de 5 años, mientras que todas las pacientes con TIL bajo fallecieron antes de los 5 años, (figura 4).

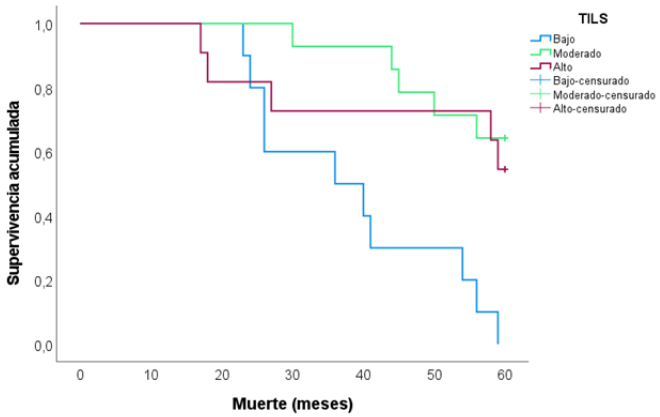

Figura 4. Curvas de sobrevida global (meses) clasificadas por TIL.

DISCUSIÓN

El promedio de edad de las pacientes incluidas en la muestra estudiada (51,74 años) coincidió con los registros históricos (3), sin embargo, no se reprodujo la distribución de los subtipos moleculares habitual, habiendo predominado en este caso pacientes con cáncer de mama triple negativo (37,14%) y luminal B (34,29%), con una muy baja representación de los subtipos luminal A (22,86%) y HER 2 enriquecido (5,71%), en contraste con las proporciones habituales reportadas en estudios donde evaluaron TIL en biopsias de aguja gruesa de pacientes que recibieron neoadyuvancia, como GeparTrio (21) donde hubo mayor representación de los subtipos luminales, sin embargo, estudios posteriores se han realizado en poblaciones más específicas, como NeoALTTO (22), GeparQuattro (23) y Cher-LOB (24) para enfermedad HER2 enriquecida, GeparQuinto (25) para cáncer luminal y triple negativo y GeparSixto (26) para cáncer HER2 enriquecido y triple negativo, siendo esos últimos subgrupos los más ampliamente estudiados en esta materia.

Aunque los estándares actuales incluyen regímenes de quimioterapia basados en antraciclinas y taxanos (27-30), sólo el 60% recibió estos últimos, siendo el protocolo más frecuente en el grupo restante la combinación de Fluorouracilo, Doxorrubicina y Ciclofosfamida (31), debido a que muchos de los casos correspondieron a pacientes tratadas entre los años 2000 y 2010.

En esta muestra de 35 pacientes, se alcanzó el 37,1% de sobrevida libre de enfermedad tras 5 años de seguimiento, con mediana de 46 meses, aclarando que

debido a la cantidad de datos censurados (13/35; 37,14% de pacientes que no recayeron durante los 5 años de seguimiento) muchas de las estimaciones de las medianas no pudieron ser calculadas, ya que en determinados grupos no recayeron el 50% o más de las pacientes. Se resalta que hubo relación estadísticamente significativa al 5% en sobrevida libre de enfermedad según los niveles de infiltración de TIL en enfermedad residual posneoadyuvancia (p=0,022) a favor de los grupos intermedio y alto, en comparación al grupo bajo. De forma similar, un metaanálisis de 22 estudios, que incluyeron 1569 pacientes con cáncer de mama temprano que recibieron una evaluación dinámica de TIL durante la quimioterapia neoadyuvante, demostró que un aumento en los TIL en el subtipo triple negativo se asoció con una mejor sobrevida libre de enfermedad en el análisis univariado (HR: 0,59; IC del 95 %: 0,37-0,95; p=0,03) (32). En este contexto, aunque el subtipo triple negativo representó poco más de un tercio de la muestra evaluada, la tendencia de mayor sobrevida libre de enfermedad en grupos con mayor infiltración de TIL se mantuvo.

Sin embargo, un estudio de Asano y colaboradores (18) demostró que la combinación de TIL en enfermedad residual con una clase de carga tumoral residual (RCB) predice la recurrencia de cáncer de mama en todos los subtipos. Dichos hallazgos no han sido evaluados en la población local, por lo que se requiere su validación para su uso general.

Por otro lado, se presentó 42,9% de sobrevida global a 5 años, con mediana de 58 meses. Del mismo modo que en el caso anterior, la cantidad de datos censurados (15/35; 42,86% de pacientes que no fallecieron durante los 5 años de

seguimiento) condicionó que algunas de las estimaciones de las medianas no pudieron ser calculadas, ya que en determinados grupos no fallecieron el 50% o más de las pacientes. Se encontró que hubo relación estadísticamente significativa al 5% en sobrevida libre de enfermedad según los niveles de infiltración de TIL en enfermedad residual posneoadyuvancia ($p<0,001$) a favor de los grupos intermedio y alto, en comparación al grupo bajo. Esto concuerda con un estudio de Luen y colaboradores (33), donde evaluaron los niveles de TIL en pacientes con cáncer de mama triple negativo que tenían enfermedad residual después de recibir quimioterapia neoadyuvante, y se descubrió una asociación con una mejor sobrevida libre de recurrencia y sobrevida global.

Adicionalmente, otras variables que presentaron relaciones estadísticamente significativas al 5% con la sobrevida global correspondieron a los citostáticos recibidos como parte de la terapia neoadyuvante, a saber, la antraciclina utilizada ($p=0,013$) que favoreció a las pacientes que recibieron Doxorrubicina sobre Epirrubicina; y el uso de taxanos ($p=0,002$), teniendo mejor sobrevida global los casos que recibieron Docetaxel sobre el Paclitaxel. En relación a esto, West y colaboradores (34) concluyeron que una alta infiltración de TIL en muestras de biopsia por aguja gruesa de pacientes con cáncer de mama con receptores de estrógeno negativos no tratadas predice respuesta a la quimioterapia neoadyuvante basada en antraciclinas.

Una revisión sistemática de Angelico y colaboradores (35), concluye que los TIL mayores al 40% en pacientes no tratadas brindan información pronóstica y

predictiva de respuesta a la quimioterapia neoadyuvante y adyuvante para el cáncer de mama triple negativo y también aportan información pronóstica y predictiva para la quimioterapia en combinación con terapia dirigida para la enfermedad HER2 enriquecida, por lo que recomiendan su evaluación de forma rutinaria en estos subtipos moleculares. Sin embargo, para el cáncer de mama con receptores hormonales positivos, no está totalmente establecida su utilidad. Por otro lado, no dan recomendaciones con respecto a la evaluación de TIL en enfermedad residual posquimioterapia neoadyuvante.

En conclusión, el rol de los TIL en muestras de pacientes con cáncer de mama no tratadas ha sido ampliamente aceptado por su valor pronóstico y predictivo en los subtipos HER2 enriquecido y triple negativo; adicionalmente, la presencia de alta infiltración de TIL (mayor al 40%) en la enfermedad residual posneoadyuvancia parece representar un factor de buen pronóstico asociado a sobrevidas libres de enfermedad y sobrevidas globales más prolongadas.

Dados los hallazgos demostrados en esta muestra, se recomienda la realización de estudios prospectivos con mayor número de pacientes que realicen la evaluación de los TIL antes y después de la terapia neoadyuvante, bajo los métodos estandarizados, así como su combinación con otros parámetros como la carga tumoral residual (RCB), para optimizar el rendimiento pronóstico y predictivo, no sólo para la quimioterapia citotóxica sino también para las estrategias de inmunoterapia aprobadas y en desarrollo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Globocan 2020 - Home [Internet]. [citado el 09 de noviembre de 2023]. Disponible en: URL: http://globocan.iarc.fr/Default.aspx.
2. Sociedad Anticancerosa de Venezuela y HOMO DATA (2019). Informe de pronósticos de la mortalidad e incidencia de cáncer en Venezuela, año 2019.
3. Loibl S, Poortmans P, Morrow M, Denkert C, Curigliano G. Breast cancer. The Lancet. 2021 May;397(10286):1750–69.
4. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Breast Cancer. Version 4.2023.
5. Prowell TM, Pazdur R. Pathological complete response and accelerated drug approval in early breast cancer. N Engl J Med. 2012;366(26):2438-41.
6. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. Lancet 2014;384(9938):164-72.
7. Von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. J Clin Oncol. 2012;30(15):1796-804.
8. El Bairi K, Haynes HR, Blackley E, Fineberg S, Shear J, Turner S, et al. The tale of TILs in breast cancer: A report from The International Immuno-Oncology Biomarker Working Group. npj Breast Cancer. 2021 Dec;7(1).
9. Bianchini G, De Angelis C, Licata L, Gianni L. Treatment landscape of triple-negative breast cancer — expanded options, evolving needs. Nature Reviews Clinical Oncology. 2021 Nov 9;19(2):91–113.
10. Dieci MV, Radosevic-Robin N, Fineberg S, van den Eynden G, Ternes N, Penault-Llorca F, 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 Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. Seminars in Cancer Biology [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2023 Apr 7];52:16–25. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1044579X17302171
11. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Lederer B, Heppner BI, Weber KE, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. The Lancet Oncology [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2021 Feb 8];19(1):40–50. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29233559/
12. Andre F, Dieci MV, Dubsky P, Sotiriou C, Curigliano G, Denkert C, 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.
13. 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.
14. Demaria S, Volm MD, Shapiro RL, Yee HT, Oratz R, Formenti SC, et al. Development of tumorinfiltrating lymphocytes in breast cancer after neoadjuvant paclitaxel chemotherapy. Clin Cancer Res. 2001;7(10):3025-30.
15. Gennari R, Menard S, Fagnoni F, Ponchio L, Scelsi M, Tagliabue E, et al. Pilot study of the mechanism of action of preoperative trastuzumab in patients with

primary operable breast tumors overexpressing HER2. Clin Cancer Res. 2004;10(17):5650-5.
16. Bianchini G, Gianni L. The immune system and response to HER2-targeted treatment in breast cancer. Lancet Oncol. 2014;15(2):e58-68.
17. Loibl S, de la Pena L, Nekljudova V, Zardavas D, Michiels S, Denkert C, et al. Phase II, randomized, parallel-cohort study of neoadjuvant buparlisib (BKM120) in combination with trastuzumab and paclitaxel in women with HER2-positive, PIK3CA mutant and PIK3CA wild-type primary breast cancer – NeoPHOEBE. [abstract]. Cancer Res. 2016;76(4 Suppl):Abstract nr P1-14-01.
18. Asano Y, Kashiwagi S, Goto W, Takada M, Takashima T, Morisaki T, et al. Prediction of survival after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer by evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) and residual cancer burden (RCB). [abstract]. Cancer Research. 2016;77(4 Suppl):Abstract nr P2-05-.
19. Dieci MV, Criscitiello C, Goubar A, Viale G, Conte P, Guarneri V, et al. Prognostic value of tumorinfiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: a retrospective multicenter study. Ann Oncol. 2014;25(3):611-8.
20. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. Annals of Oncology [Internet]. 2015 Feb 1 [cited 2020 Aug 23];26(2):259–71. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6267863/
21. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Müller BM, Komor M, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology [Internet]. 2010 Jan 1;28(1):105–13. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19917869/
22. Salgado R, Denkert C, Campbell C, Savas P, Nuciforo P, Aura C, et al. Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Associations With Pathological Complete Response and Event-Free Survival in HER2-Positive Early-Stage Breast Cancer Treated With Lapatinib and Trastuzumab. JAMA Oncology. 2015 Jul 1;1(4):448.
23. Loi S, Michiels S, Salgado R, Sirtaine N, Vinu José, Fumagalli D, et al. Abstract S1-05: Tumor infiltrating lymphocytes (TILs) indicate trastuzumab benefit in early-stage HER2-positive breast cancer (HER2+ BC). Cancer Research. 2013 Dec 15;73(24_Supplement):S1-05.
24. Dieci MV, Bisagni G, Cagossi K, Bottini A, Sarti S, Piacentini F, et al. Abstract PD1-1: Tumor infiltrating lymphocytes and correlation with outcome in the Cher-LOB study. Cancer Research. 2015 May 1;75(9_Supplement):PD1-1PD1-1.
25. Issa-Nummer Y, Darb-Esfahani S, Loibl S, Kunz G, Nekljudova V, Schrader I, et al. Prospective Validation of Immunological Infiltrate for Prediction of Response to Neoadjuvant Chemotherapy in HER2-Negative Breast Cancer – A Substudy of the Neoadjuvant GeparQuinto Trial. PLOS ONE. 2013 Dec 2;8(12):e79775–5.
26. Carsten Denkert, Gunter von Minckwitz, Brase JC, Bruno Valentin Sinn, Gade S, Ralf Kronenwett, et al. Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Response to Neoadjuvant Chemotherapy With or Without Carboplatin in Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Positive and Triple-Negative Primary Breast Cancers. Journal of Clinical Oncology. 2015 Mar 20;33(9):983–91.
27. Citron ML, Berry DA, Cirrincione C, Hudis C, Winer EP, Gradishar WJ, et al. Randomized trial of dose-dense versus conventionally scheduled and sequential

versus concurrent combination chemotherapy as postoperative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer: first report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trial 9741. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology [Internet]. 2003 [cited 2019 Jun 16];21(8):1431–9. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12668651

28. von Minckwitz G, Raab G, Caputo A, Schütte M, Hilfrich J, Blohmer JU, et al. Doxorubicin With Cyclophosphamide Followed by Docetaxel Every 21 Days Compared With Doxorubicin and Docetaxel Every 14 Days As Preoperative Treatment in Operable Breast Cancer: The GEPARDUO Study of the German Breast Group. Journal of Clinical Oncology. 2005 Apr 20;23(12):2676–85.
29. Martin M, Pienkowski T, Mackey J, Pawlicki M, Guastalla JP, Weaver C, et al. Adjuvant Docetaxel for Node-Positive Breast Cancer. New England Journal of Medicine. 2005 Jun 2;352(22):2302–13.
30. Sparano JA, Wang M, Martino S, Jones V, Perez EA, Saphner T, et al. Weekly Paclitaxel in the Adjuvant Treatment of Breast Cancer. New England Journal of Medicine. 2008 Apr 17;358(16):1663–71.
31. Martín M, Ruíz A, Ruíz-Borrego M, Agustí Barnadas, Sónia González, Calvo L, et al. Fluorouracil, Doxorubicin, and Cyclophosphamide (FAC) Versus FAC Followed by Weekly Paclitaxel As Adjuvant Therapy for High-Risk, Node-Negative Breast Cancer: Results From the GEICAM/2003-02 Study. Journal of Clinical Oncology. 2013 Jul 10;31(20):2593–9.
32. Ioannis Zerdes, Zhu Y, Evangelos Tzoras, Alexios Matikas, Bergh J, Antonios Valachis, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) dynamics in breast cancer patients receiving neoadjuvant therapy: A systematic review and meta-analysis. Journal of Clinical Oncology. 2022 Jun 1;40(16_suppl):e12620–0.
33. Luen SJ, Salgado R, Dieci MV, Vingiani A, Curigliano G, Gould RE, et al. Prognostic implications of residual disease tumor-infiltrating lymphocytes and residual cancer burden in triple-negative breast cancer patients after neoadjuvant chemotherapy. Annals of Oncology. 2019 Feb;30(2):236–42.
34. West NR, Milne K, Truong PT, Macpherson N, Nelson BH, Watson PH. Tumor-infiltrating lymphocytes predict response to anthracycline-based chemotherapy in estrogen receptor-negative breast cancer. Breast Cancer Research. 2011 Dec;13(6).
35. Angelico G, Broggi G, Tinnirello G, Puzzo L, Vecchio GM, Salvatorelli L, et al. Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILS) and PD-L1 Expression in Breast Cancer: A Review of Current Evidence and Prognostic Implications from Pathologist's Perspective. Cancers [Internet]. 2023 Jan 1 [cited 2023 Nov 11];15(18):4479. Available from: https://www.mdpi.com/2072-6694/15/18/4479

Cronograma de Actividades del Trabajo Especial de Grado:

"DETERMINACIÓN DEL VALOR PRONÓSTICO DE LOS LINFOCITOS INFILTRANTES DEL TUMOR EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA TRATADOS CON NEOADYUVANCIA".

	Enero 2021	Mayo 2021	Septiembre 2021	Enero 2022	Mayo 2022	Septiembre 2022	Enero 2023	Junio 2023	Noviembre 2023	Diciembre 2023
Elaboración del proyecto										
Recolección de los datos										
Análisis de la información										
Redacción del informe final										
Revisión final del tutor										
Correcciones informe final										
Obtención de bibliografía										
Presentación final										