

Los linfocitos estromales intratumorales (TILs) como factor pronóstico en tumores primarios de mama Triple Negativos

Mora Amat, Pablo Mandó,*
Alexis Ostinelli,* Manglio Rizzo,*
Constanza Pérez de la Puente,*
María Victoria Costanzo,*
Adrián Nervo,* Jorge Nadal,*
Silvia Ximena B. García,* María
Florencia Cappuccio,* Federico
Coló,* Martín Loza,* José Loza,*
Verónica Fabiano,* Carolina
Ponce,*Reinaldo Chacón**

RESUMEN

Introducción

Los tumores de mama se encuentran frecuentemente rodeados por células inflamatorias como signo de interacción entre el tumor y el huésped, siendo esta crítica para el desarrollo y progresión del cáncer. Algunas observaciones sugieren el valor pronóstico de los linfocitos estromales intratumorales (TILs). Sin embargo, su evaluación no es rutinaria ya que su relevancia clínica aún no se encuentra consolidada.

Objetivos

Los objetivos de este trabajo son:

- la evaluación de la concordancia interobservador de los linfocitos intratumorales (TILs);
- su relación con la sobrevida libre de enfermedad (SLE);
- su valoración como factor pronóstico en cáncer de mama Triple Negativo.

* Instituto Alexander Fleming
Correo electrónico de contacto:
moraamat@gmail.com

Material y método

Se seleccionaron retrospectivamente pacientes con tumores de mama Triple Negativos operados en el Instituto Alexander Fleming entre 2010-2016 sin tratamiento neoadyuvante, alcanzando una muestra de 65 pacientes.

Resultados

El porcentaje mediano de TILs fue de 30% (12,5-50), y se consideraron como “Tumores ricos en linfocitos” (Lymphocyte Predominant Breast Cancer-LPBC) a los de 19 pacientes (29,2%).

Tanto la presencia de TILs ($p>0,01$) como la definición del subtipo de LPBC ($p=0,03$) presentaron asociación estadísticamente significativa con la recurrencia de enfermedad.

En el análisis multivariado, presentaron asociación la histología ductal y el valor de TILs. Por cada 10% de aumento, disminuye 31% el riesgo de recaída.

El valor de TILs estratificado en 3 subgrupos (≤ 20 ; 30-40; $\geq 50\%$) presentó asociación estadísticamente significativa con la Sobrevida Libre de Enfermedad (Log Rank $<0,01$).

Conclusiones

En este trabajo se logró describir una característica tumoral y del huésped reproducible, cuya instrumentación podría generalizarse por el potencial valor pronóstico.

Palabras clave

Cáncer de Mama. Tumores Triple Negativos. Linfocitos intratumorales

SUMMARY

Introduction

Breast tumors are frequently surrounded by inflammatory cells as a sign of interaction between the tumor and host, being this relationship critical for cancer development and progression. Present evidence suggests that tumor infiltrating lymphocytes (TILs) may provide prognostic information. Nevertheless, TILs description is not generalized as its clinical relevance is not consolidated.

Objectives

- evaluation of interobserver concordance of intratumoral lymphocytes (TILs);
- its relationship with Disease Free Survival;
- its assessment as a prognostic factor in Triple Negative breast cancer.

Materials and method

Triple Negative breast cancer patients with surgery in Instituto Alexander Fleming, between 2010-2016, without neoadjuvant treatment, were selected retrospectively. 65 patients were selected.

Results

In the 65 patients selected, TILs median percentage was 30% (12.5-50), and 19 (29.2%) were considered Lymphocyte Predominant Breast Cancer (LPBC).

TILs percentage ($p > 0.01$) and LPBC subtype ($p = 0.03$) presented significant association with disease recurrence. Multivariate analysis showed that ductal histology and TILs percentage are associated with disease recurrence. For every 10% increment in TILs, there was a 31% reduction of risk of recurrence.

High TILs value stratified in 3 subgroups (≤ 20 ; 30-40; $\geq 50\%$) was associated with better Disease Free Survival (Log Rank 0.01).

Conclusions

Due to its potential prognostic value and its technical reproducibility, we believe that this tumoral and host characteristic must be generalized.

Key words

Breast Cancer. Triple Negative Breast Neoplasms. Tumor Infiltrating Lymphocytes.

INTRODUCCIÓN

El estudio de los carcinomas mamarios se centraba en el componente epitelial. Actualmente, toma relevancia el microambiente tumoral compuesto por fibroblastos e infiltrado inflamatorio y su interrelación con las células tumorales. Si bien esta interrelación es compleja, parece ser crítica para el desarrollo y progresión del cáncer.

Los TILs (linfocitos estromales intratumorales) se han propuesto recientemente como marcadores de la respuesta inmune adaptativa del huésped. La evidencia sugiere que el sistema inmune influye en el pronóstico del cáncer de mama,¹⁶ y algunas observaciones sugieren valor pronóstico de los TILs altos. Resultados recientes de grandes cohortes han indicado la asociación entre la presencia de TILs altos en estadios tempranos con mejor pronóstico y mayores tasas de respuesta a la neoadyuvancia. Los carcinomas Triple Negativos tienen mayor incidencia de TILs altos. En este tipo de tumores se ha demostrado una asociación más fuerte entre TILs altos y resultados de sobrevida.

La evaluación del rol independiente del infiltrado linfocitario requiere de estadísticas multivariadas o de la clasificación de los tumores de mama en grupos comparables en relación con otros factores pronósticos, ya que se ha observado que su presencia se asocia a tumores con mayor tasa de proliferación y con mayor agresividad clínica.^{1, 2, 17, 24}

La magnitud del efecto pronóstico de los TILs es similar en los diversos trabajos publicados. A la fecha, se ha demostrado la asociación más fuerte entre TILs y resultados de sobrevida en tumores Triple Negativos.^{19, 21} Esta mayor incidencia de TILs elevados podría indicar una respuesta tumoral inmune en acción que contribuye a mejorar los resultados del tratamiento. Sin embargo, su evaluación no es rutinaria ya que su relevancia clínica aún no se encuentra consolidada.

OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo son:

- la evaluación de la concordancia interobservador de los linfocitos intratumorales (TILs);
- su relación con la sobrevida libre de enfermedad (SLE);
- su valoración como factor pronóstico en cáncer de mama Triple Negativo.

MATERIAL Y MÉTODO

Selección de pacientes

De las 1.325 pacientes operadas en el Instituto Alexander Fleming en el período 2010-2015, se seleccionaron retrospectivamente 65 pacientes. Se incluyeron pacientes mayores de 18 años que en la evaluación patológica e inmunohistoquímica no presentaban expresión de receptores de estrógenos ni de progesterona y que tenían HER2 negativo ya fuera por inmunohistoquímica o por FISH.

Todas las pacientes firmaron el consentimiento informado pre quirúrgico institucional (Aprobación Comité de Ética Número 725).

Se excluyeron las pacientes con enfermedad metastásica al diagnóstico, aquellas sin datos clínicos posteriores a la cirugía y las pacientes que realizaron neoadyuvancia previa.

Evaluación patológica

Se seleccionó un preparado histológico coloreado con hematoxilina-eosina del tumor primario de cada paciente del archivo del Instituto Alexander Fleming. Los preparados debían contener al menos 200 células y/o una extensión no menor a 2 mm. Se evitaron áreas de necrosis y focos de Carcinoma *in situ* interpuesto.

Los preparados histológicos fueron estudiados por dos patólogos de forma separada, realizándose posteriormente análisis de concordancia interobservador.

La lectura se realizó sobre 10 campos de gran aumento, cuantificando el infiltrado inflamatorio del estroma tumoral. Los resultados se expresan de 10 en 10, entre 10 y 100%, tomando como referencia las guías de la OMS 2014.

Análisis estadístico

Inicialmente, para describir la validez analítica del método, se realizó un análisis de concordancia interobservador mediante Test ajustado de Kappa de Cohen, clasificando a la misma en: “Pobre” si Kappa era $\leq 0,20$; “Regular” si era de $0,21-0,40$; “Moderada” si era de $0,41-0,60$; “Buena” de resultaba de $0,61-0,80$; “Muy buena” cuando era de $0,81-1,0$. Las variables continuas fueron expresadas como medias (DS) o medianas (rango intercuartiles) dependiendo de la distribución. Las variables discretas fueron expresadas de forma binomial o mediante porcentajes.

La asociación de las TILs fue evaluado como variable continua o a través de la definición de “Tumores ricos en linfocitos” (LPBC) (TILs > 50%). La asociación de TILs con otras variables se evaluó mediante Wilcoxon Rank Sum Test para variables categóricas, o mediante Correlación de Spearman para variables continuas.

LPBC se evaluó mediante Fisher Test o Chi cuadrado, según correspondiera, para variables categóricas y mediante Wilcoxon Rank Sum Test para variable continuas.

El análisis univariado de la asociación de factores pronósticos de recurrencia se realizó mediante la definición de Odds ratio para cada una de

las variables de manera independiente. Aquellas que presentaban una $p < 0,1$ en el análisis univariado pasaban a la conformación del modelo multivariado, cuyo análisis se realizó mediante una regresión logística.

Posteriormente se evaluó su relación con análisis de Sobrevida Libre de Enfermedad (SLE) mediante curvas de Kaplan-Meier y Log Rank test dividida en 3 grupos (TILs < 20 , $20-50$, > 50) o de manera dicotómica como subtipo LPBC. Se definió SLE como el intervalo de tiempo desde la fecha de la cirugía hasta la fecha del primer hallazgo de recurrencia de enfermedad. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas con una $p < 0,05$. Los datos fueron analizados en software informático Statistix 8.0.

RESULTADOS

Correlación interobservador

Se realizó valoración doble ciego de TILs por 2 patólogos del Instituto Alexander Fleming. Se observó concordancia exacta en el porcentaje de TILs en el 60,9% de las evaluaciones; y en el análisis ajustado de Cohen de variables ordinales el resultado de Kappa fue de 0,77, considerando a la misma como “Buena”.

Tabla I. Características clínicas

Características	Número	(%)
Número de pacientes	65	
Edad (años)*	54.0 ± 11.9	
Tamaño tumoral (cm) †	2,5	(1,5-3,35)
Estadio al diagnóstico		
I	23	(1,5-3,35)
II	37	(56,9)
III	5	(7,7)
Tipo de cirugía		
Conservadora	52	(80,0)
Mastectomía	13	(20,0)
Subtipo Histológico		
ductal	54	(83,0)
lobulillar	5	(6,9)
ductolobular	4	(6,1)
metaplásico	2	(3,1)
Ki67 (%) †	28	(15-42)
Grado Histológico		
1	4	(6,2)
2	13	(20,0)
3	48	(73,8)
Axila positiva	12	(18,5)
TILs (%) †	30	(12,5-50)
LPBC	19	(29,2%)

* Media ± Desvío estándar; † Mediana (rango intercuartiles)

Características clínicas

Se incluyeron 65 pacientes que cumplían los criterios de ingreso al análisis. En la Tabla I se presentan los datos clínicos.

Distribución de TILs y relación con otras variables

El porcentaje mediano de TILs fue de 30% (12,5-50), y se consideraron como LPBC 19 pacientes (29,2%).

El valor de TILs no se asoció significativamente con ninguna de las otras variables patológicas (histología ductal, Grado Histológico 3, compromiso ganglionar) ni presentó correlación con otras variables cuantitativas como la edad y el tamaño tumoral. Sin embargo, el subtipo definido como LPBC presenta asociación estadísticamente significativa con alto grado histológico (Fisher test, $p = 0,045$).

Asociación de TILs con Recurrencia y Sobrevida Libre de Enfermedad

En la Figura 1 se presenta en Box plot el valor de TILs agrupado según los pacientes recaídos y no recaídos.

Tanto la presencia de TILs ($p > 0,01$) como la definición del subtipo de LPBC ($p = 0,03$) presentaron asociación estadísticamente significativa con la recurrencia de enfermedad. Para evaluar

Figura 1. Box plot. Porcentaje de TILs en subgrupos de recaídos y no recaídos

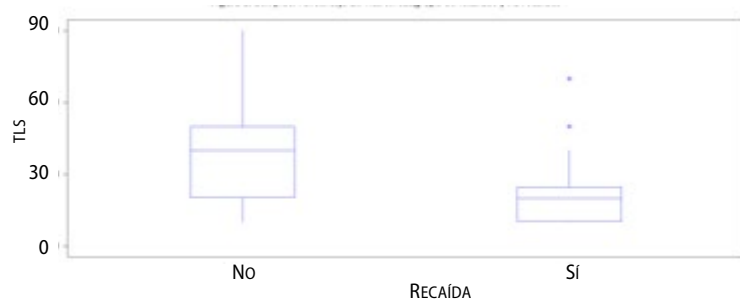


Tabla II. Factores asociados con recurrencia de enfermedad. Análisis uni y multivariado

Variables	OR	IC 95%	Valor de p
Análisis Univariado			
Alto Grado Histológico (Grado 3 vs 1-2)	1,44	0,44-4,76	0,55
Expresión de Ki67 (continuo, 1% cambio)	1,01	0,97-1,04	0,78
Edad (continuo)	1,01	0,97-1,05	0,69
Compromiso axilar (Sí vs No)	1,47	0,41-5,32	0,56
Estadio (2-3 vs 1)	1,93	0,63-5,88	0,25
Tamaño tumoral (continuo)	1,59	1,10-2,29	0,01
Histología ductal (ductal vs otra)	0,08	0,01-0,401	<0,01
TILs (Aumento 10%)	0,67	0,49-0,90	<0,01
Análisis Multivariado			
Tamaño tumoral (continuo)	1,47	0,95-2,26	0,08
Histología ductal (ductal vs otra)	0,11	0,02-0,62	0,01
TILs (Aumento 10%)	0,69	0,50-0,97	0,03

adecuadamente al valor de TILs como factor pronóstico de recurrencia, se realizó un análisis univariado y multivariado que confirma la asociación. Los resultados se describen en la Tabla II.

El tamaño tumoral, la histología ductal y el valor de TILs presentaron asociación en el análisis univariado. Las 3 variables pasaron al modelo multivariado, presentando asociación solamente la histología ductal y el valor de TILs como factores pronósticos positivos de riesgo de recurrencia. Por cada 10% de aumento del valor de TILs, disminuye un 31% el riesgo de recaída.

El impacto de las TILs en la SLE de los pacientes con tumores Triple Negativos se describe mediante curvas de supervivencia. El valor de TILs dividido en 3 subgrupos, de manera similar a lo expuesto en el trabajo de Loi *et al.*,¹⁹ presenta asociación estadísticamente significativa con la Supervivencia Libre de Enfermedad (Log Rank <0,01). En la Figura 2a se presenta la curva de Kaplan-Meier. La SLE media fue de 1,75 años cuando los TILs eran $\leq 20\%$, de 6,65 años cuando los TILs eran de 20-40% y no fue alcanzada cuando su valor era $\geq 50\%$. De la misma manera, el subtipo LPBC presenta impacto en la Supervivencia Libre de Enfermedad (Log Rank 0,02) (Figura 2b). La SLE media no fue alcanzada para LPBC y fue de 4,88 años para el grupo con TILs <50%.

DISCUSIÓN

Figura 2a. Curva de Kaplan-Meier de SLE: Grupos de TILs

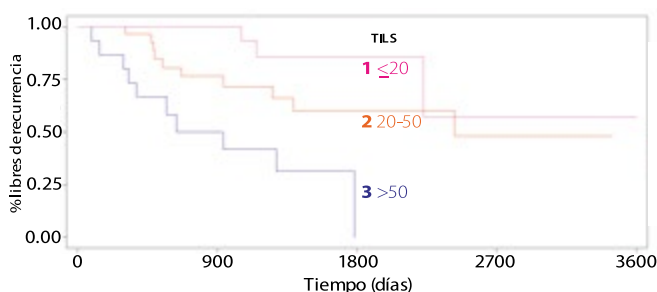
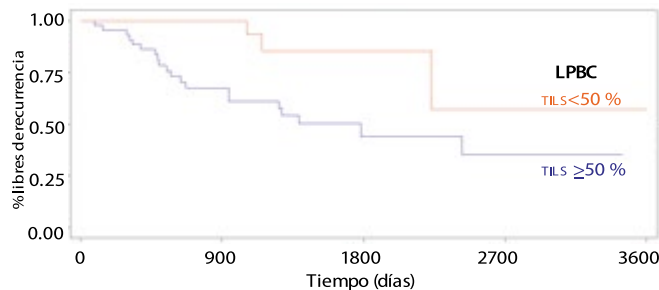


Figura 2b. Curva de Kaplan-Meier de SLE: LPBC



Los resultados de la presente evaluación retrospectiva monoinstitucional muestran el valor pronóstico de los TILs en tumores de mama Triple Negativos. *Loi et al.*,¹⁹ utilizando más de 2.000 muestras tomadas prospectivamente de un estudio Fase III de quimioterapia adyuvante, establecieron que el aumento de infiltración linfocitaria del tumor y del estroma se asocia significativamente con buen pronóstico en tumores Triple Negativos sin importar el tipo de quimioterapia recibido. De la misma manera, *Denkert et al.*,¹⁸ demostraron que es posible identificar un subgrupo de tumores de mama que se caracteriza por presentar infiltrados linfocitarios en el tejido tumoral y, particularmente, con importantes tasas de respuesta a la quimioterapia. Similarmente, en ambos trabajos se demostró que el efecto entre el pronóstico y la infiltración linfocitaria estromal e intratumoral era lineal. En otras palabras, el aumento del 10% en el número de TILs se asocia con mejor pronóstico en tumores Triple Negativos.

Posteriormente, *Adams et al.*²⁵ confirmaron que la infiltración estromal por linfocitos constituye un marcador pronóstico robusto e independiente en los tumores Triple Negativos tratados con quimioterapia adyuvante, siendo un valor creciente de TILs predictivo de menor riesgo de muerte, recurrencia a distancia y mortalidad.

*Denkert et al.*¹⁸ utilizan el término LPBC para aquellos tumores con gran infiltrado linfocitario, refiriéndolo de manera arbitraria a aquellos con porcentaje mayor al 60%. Contrariamente, *Loi et al.*¹⁹ definieron el fenotipo LPBC utilizando un valor de corte de 50% y no de 60% con el objetivo de remarcar los buenos resultados del grupo extensamente infiltrado y no con el fin de establecer un valor de corte para toma de decisiones terapéuticas ni para sugerir un subgrupo biológicamente distinto. Los datos de nuestro trabajo muestran un 29% de los tumores como LPBC según la definición de *Loi et al.*,¹⁹ porcentaje claramente mayor al 11% de los tumores Triple Negativos clasificados como tal en esa cohorte.

Desde el punto de vista metodológico, pudimos, al igual que el estudio de *Adams et al.*,²⁵ demostrar la validez analítica de la técnica. Mediante el análisis independiente y ciego de dos patólogas especializadas en cáncer de mama, se pudo evidenciar una “Buena” correlación interobservador con una Kappa ajustada de Cohen de 0,77.

Es importante destacar que, en los datos presentados, el estadio tumoral y el compromiso axilar no pueden establecerse como factor pronósticos en esta población. Este fenómeno parecería estar relacionado con el tamaño muestral ya que solo el 7% de los casos eran Estadio 3 y solamente el 18% tenía compromiso axilar. Esta selección se encuentra sujeta principalmente a la exclusión de los pacientes que realizan neoadyuvancia. Sin embargo, esta situación puede denotar un subtipo biológico en el cual

los factores anatómicos no parecen ser los únicos determinantes de la conducta tumoral de los carcinomas Triple Negativos.

CONCLUSIONES

En este trabajo se describe una característica tumoral y del huésped, que es reproducible y cuya instrumentación podría generalizarse por su potencial valor pronóstico en el fenotipo Triple Negativo.

Es importante validar y estandarizar la metodología utilizada para la evaluación de TILs ya que puede constituir una herramienta pronóstica importante.

REFERENCIAS

1. Syrjänen KJ and Hjelt LH. Tumor-host interrelationships in carcinoma of the female breast. *Surgery, Gynecology & Obstetrics* 1978; 147(1): 43-48.
2. Naukkarinen A and Syrjänen K J. Quantitative immunohistochemical analysis of mononuclear infiltrates in breast carcinomas—correlation with tumour differentiation. *The Journal of Pathology* 1990; 160 (3): 217-222.
3. Wintzer HO, Bohle W and von Kleist S. Study of the relationship between immunohistologically demonstrated lymphocytes infiltrating human breast carcinomas and patients' survival. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 1991; 117(2): 163-167.
4. Syrjänen KJ and Kosma VM. Hormone receptor levels related to histological parameters of tumor-host relationships in female breast carcinoma. *Journal of Surgical Oncology* 1982; 21(1): 49-53.
5. Anichini A, Fossati G and Parmiani G. Clonal analysis of cytotoxic T-lymphocyte response to autologous human metastatic melanoma. *International Journal of Cancer* 1985; 35 (5): 683-689.
6. Arlen M, Flores L, Elguezabal A and Levowitz BS. Nodal response in medullary carcinoma of the breast. *The American Journal of Surgery* 1976; 131 (3): 263-266.
7. De Visser KE, Eichten A and Coussens L M. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nature Reviews Cancer* 2006; 6 (1): 24-37.
8. Schreiber RD, Old LJ and Smyth MJ. Cancer immunoeediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 2011; 331 (6024): 1565-1570.
9. Smyth MJ, Dunn GP and Schreiber RD. Cancer immunosurveillance and immunoeediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity. *Advances in Immunology* 2006; 90: 1-50.
10. Shankaran V, Ikeda H, Bruce AT, White JM, Swanson PE, Old LJ and Schreiber RD. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature* 2001; 410 (6832): 1107-1111.
11. Dunn GP, Old LJ and Schreiber RD. The three Es of cancer immunoeediting. *Annu. Rev. Immunol* 2004; 22: 329-360.
12. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ and Schreiber RD. Cancer immunoeediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nature Immunology* 2002; 3 (11): 991-998.
13. Whiteside TL, Miescher S, Hurlimann J, Moretta L. and Fliedner V. Clonal analysis and in situ characterization of lymphocytes infiltrating human breast carcinomas. *Cancer Immunology, Immunotherapy* 1986; 23 (3): 169-178.
14. Kripke, M L. Immunoregulation of Carcinogenesis: Past, Present, and Future. *Journal of the National Cancer Institute* 1988; 80 (10): 722-727.
15. Johnson JP, Riethmüller G, and Schirmacher V. Tumor immunology: Paul Ehrlich's heritage. *Immunology today* 1989; 10 (8): S35.

16. Demaria S, Pilonis KA and Adams S. Cross-talk of breast cancer cells with the immune system. 2011, INTECH Open Access Publisher.
17. Aaltomaa S, Lipponen P, Eskelinen M, Kosma VM, Marin S, Alhava E and Syrjänen K. Lymphocyte infiltrates as a prognostic variable in female breast cancer. *European Journal of Cancer* 1992; 28 (4-5): 859-864.
18. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Muller BM, Komor M and Budczies J, rb-Esfahani S, Kronenwett R, Hanusch C *et al*. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28 (1): 105-13.
19. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F and De Azambuja E. 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. *Journal of Clinical Oncology* 2013; 31(7): 860-867.
20. West NR, Milne K, Truong PT, Macpherson N, Nelson BH and Watson PH. Tumor-infiltrating lymphocytes predict response to anthracycline-based chemotherapy in estrogen receptor-negative breast cancer. *Breast Cancer Research* 2011;13 (6): R126.
21. Mahmoud SM, Paish EC, Powe DG, Macmillan RD, Grainge MJ, Lee AH and Green AR. Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2011; 1949-1955.
22. Zitvogel L, Kepp O and Kroemer G. Immune parameters affecting the efficacy of chemotherapeutic regimens. *Nature Reviews Clinical Oncology* 2011; 8 (3): 151-160.
23. Rakha EA, Aleskandarany M, El-Sayed ME, Blamey RW, Elston CW, Ellis IO and Lee AHS. The prognostic significance of inflammation and medullary histological type in invasive carcinoma of the breast. *European Journal of Cancer* 2009; 45 (10): 1780-1787.
24. Rosen PP, Saigo PE, Braun Jr DW, Weathers E and Depalo A. Predictors of recurrence in stage I (T1NoMo) breast carcinoma. *Annals of Surgery* 1981; 193 (1): 15.
25. Adams S, Gray RJ, Demaria S, Goldstein L, Perez EA, Shulman LN and Wolff AC. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. *Journal of Clinical Oncology* 2014; 32 (27): 2959-2966.

DEBATE

Dr. Coló: Muchas gracias. Queda a consideración el trabajo de la Dra. Mora Amat.

Dr. Frahm: Muy buen trabajo. Creo que es uno de los factores pronósticos que vamos a tener que empezar a evaluar y a considerar, por más que no los acepten en forma internacional. ¿Ustedes lo hacen de rutina, lo informan rutinariamente?

Dra. Amat: Nosotros lo informamos rutinariamente hace más o menos un año y medio en las piezas quirúrgicas, en todas. Como evaluamos posteriormente la inmunohistoquímica, lo que hacemos es que, viendo primero la morfología, ya evaluamos TILs; y, después, si son o no Triple Negativos o HER2 positivos es otro hallazgo. En

cambio, en las punciones –como, al principio, era más contradictorio si esto iba a servir o no– lo empezamos a informar hace un mes y medio.

Dr. Frahm: ¿Resultó difícil hacerlo?

Dra. Amat: Es algo que se puede hacer, no es conflictivo. Una vez que uno tiene un poquito de entrenamiento... La validación fue hace un tiempo; y la realidad es que, de a poquito, uno lo sigue haciendo rutinariamente.

Dr. Billingham: Muy lindo el trabajo. Quería preguntar si, como cirujanos, nosotros, de ahora en más, tendríamos que pedirles a los patólogos o insistir en agregarlo a los factores clásicos. Es

decir, podríamos tener esto como para, a veces, ayudarnos a decidir el tipo de terapia que tendrían que hacer. Mi pregunta es si esto sería exigible de parte de los cirujanos.

Dra. Amat: Todavía no es algo que sea imperativo, pero me parece que es bueno que pueda estar en nuestros informes, que se pueda pedir, justamente para tener práctica. Todavía no hay ninguna validación que diga que los TILs permiten cambiar una terapéutica. Pero la idea es que se empiece a hacer por si en algún momento tenemos una validación.

Dr. Coló: Lo mío es un comentario. Primero, te felicito por el trabajo; segundo, están apareciendo trabajos de TILs en pacientes HER2 positivas. Es decir, empieza a tener relevancia el estudio de los TILs no solamente en Triple Negativos. Y creo que en estos va a ser importante que las pacientes vayan a neoadyuvancia; porque nosotros no tenemos en ese subgrupo de pacientes cómo predecir la respuesta a la neoadyuvancia y pienso que va a ser importante tener TILs antes del momento del diagnóstico, en general en punción y luego en el estudio diferido, con el tumor remanente de lo que quedó por neoadyuvancia.

Dra. Amat: Sí, hay bastantes trabajos que lo que hacen es validar sobre todo en HER2 positivo y en Triple Negativo; en cambio, no están siendo validados en receptores hormonales positivos. Hace ya un tiempo que lo que se propone es realizar una punción previa porque realmente predice sobretodo en HER2; pero también se valida en Triple Negativo la mejor respuesta con los TILs altos; y siempre de manera creciente. Al principio, se creyó que solamente el punto de corte en 50 iba a ser útil; y lo que se está viendo es que la validación es de 10 en 10.

Dr. Coló: Además, lo interesante del trabajo es la caracterización interobservacional. Es la mayor dificultad que tiene el patólogo.

Dra. Amat: Sí, uno de los primeros trabajos sale con una validación de 0,43, que es regular. Después hay otro con una validación buena; y luego sí hay otro con un 0,81, que logró tener una muy buena. Creo que eso quiere decir que nosotros entre patólogos lo vamos a poder hacer bien.

Dr. Coló: Muchas gracias, doctora.