Linfocitos estromales intratumorales (TILs) como factor pronóstico y predictivo en Tumores Triple Negativos y Her2 +.

Melisa Calvo, Carlos Molina**, José Retamozo*, Guillermina Améstica*, Ángela Avegno*, Linda Collell*, Jorge Bustos*, Nicolás Marcaida**, Liliana Gagliardi**, Oscar Daniel Duarte****, Aldo Perfetti****, Sebastián Marciano(+)*

Resumen

Introducción

Elevadas concentraciones de linfocitos estromales intratumorales (TILs) en la biopsia core de tumores de mama se asocian con mayor respuesta a la quimioterapia neoadyuvante. Nuestro objetivo principal fue demostrar la asociación entre TILs y respuesta patológica completa (RPC) en tumores Triple Negativos y Her2 positivos tratados con neoadyuvancia. Como objetivo secundario se evaluó el acuerdo interobservador para la cuantificación de TILs.

Material y método

Estudio de cohorte retrospectivo observacional transversal de mujeres con cáncer de mama que realizaron neoadyuvancia en el Hospital de Agudos Donación Francisco Santojanni en el periodo 2014- 2019. Se incluyeron tumores Triples Negativos y Her2 positivos. Los TILs fueron evaluados como variable continua (de 0% a 100%) y dicotómica (TILs altos ≥ 50% y TILs Bajos < 50%).

(*)Unidad de Mastología Hospital Donación F. Santojanni . Ciudad Autónoma de Buenos Aires
(**) Unidad de Mastología Hospital Piñero. Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
(***)Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Donación F. Santojanni . Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
(****) Servicio de Oncología. Hospital Donación F. Santojanni . Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
(+)Departamento de Investigación del Hospital Italiano Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Correo electrónico: mel.calvo@hotmail.com

Resultados

Se incluyeron un total de 27 pacientes. Un 33,3% (9/27) obtuvo RPC. Del grupo de pacientes con TILs altos, el 50% de los pacientes lograron RPC y en el grupo de los pacientes con TILs bajos un 28.5% de los pacientes logró RPC (p =0,305). La mediana de TILs en el grupo de mujeres con RPC fue de 20% (RIC 15%-50%) y la mediana de TILS en el grupo de mujeres sin RPC fue de 10% (RIC 5%-35%) p = 0.0673. El acuerdo interobservador en el diagnóstico de TILs altos y TILs bajos fue del 92.59% (kappa de 0.7568, p < 0,0001).

Conclusiones

Si bien se necesitaría un estudio con mayor número de pacientes, la cantidad de TILs en la biopsia core de mama presenta asociación con RPC. Adicionalmente, la evaluación de los TILs es aplicable en la práctica dado el elevado acuerdo interobservador para su cuantificación.

Palabras Clave

Cáncer de Mama. Tumores Triple Negativos. Tumores Her2 +. Linfocitos estromales intratumorales (TILs). Respuesta Patológica. Quimioterapia neoadyuvante.

Abstract

Introduction

The high concentration of intratumoral lymphocyte infiltration (TILs) in the core biopsy of breast tumors is related to high response to neoadjuvant chemotherapy. Our primary objective was to demonstrate the association between TILs and pathological complete response (RPC) in Triple Negative Breast Cancer and Her2 positive breast cancers who underwent neoadjuvant chemotherapy. Our secondary objective was to evaluate the interobserver agreement in the assessment of TILs between pathologists.

Material and method

Cross-sectional observational retrospective cohort study of women with breast cancer who underwent neoadjuvant chemotherapy at The Donación Francisco Santojanni Hospital between the years 2014-2019. Triple negative and Her2 positive breast tumors were included. TILs were analyzed as a continuous variable (from 0% to 100%) and as a dichotomous variable (High TILs ≥ 50% and Low TILs < 50%).

Results

Out of a total of 27 patients included, 33,3% (9/27) achieved PCR. In the group of patients with high TILs tumors, 50% of them achieved PCR and in the group of patients with low TILs tumors, 28.5% of them achieved PCR (p =0,305). The median of TILs for the group of women with PCR was 20% (IQR 15%-50%) and the median of TILs for the group of women without PCR was 10% (IQR 5%-35%), p = 0.0673. Inter-observer agreement on the scoring of high and low TILs was 92.59% (kappa 0.7568, p < 0,0001).

Conclusions

Despite a bigger study cohort is needed, there is a relationship between the percentage of TILs and pathological complete response. In addition, the high interobserver agreement on TILs scoring makes it an applicable practice in daily work.

Key words

Breast cancer. Triple Negative Breast Cancer (TNBC). Her2+ Tumors. intratumoral lymphocyte infiltration (TILs). Pathological Response. Neoadjuvant chemotherapy.

Introducción

El cáncer de mama es el tumor más frecuente en la mujer, representando el 31% de todos los tumores de la población femenina. La incidencia se ha incrementado en los últimos años y hoy ocupa el primer lugar entre las causas de muerte por cáncer en la mujer adulta en Argentina.[1] Es en la gran incidencia que posee esta patología donde radica la importancia de su estudio para conocer nuevos blancos en su tratamiento. Si bien a lo largo de la historia del cáncer mamario, su estudio estuvo centrado en la biología de las células tumorales, hoy en día se sabe que el crecimiento de tumores malignos se halla controlado por un complejo sistema biológico que depende de factores genéticos y de la interacción entre células tumorales, células estromales y aquellas que intervienen en la respuesta inflamatoria del huésped. Es por ello que actualmente el microambiente tumoral toma relevancia en el conocimiento del desarrollo y la progresión del cáncer de mama.[1-2-3-4] Uno de los componentes a destacar en este entorno celular que rodea al tumor, son los linfocitos estromales intratumorales (TILs). Los mismos, se propusieron como marcadores de la respuesta inmune adaptativa del huésped.[5]

Los TILs pueden ser intratumorales o estromales. Aquellos intratumorales son linfocitos que están presentes en nidos teniendo una relación célula-célula sin estroma entre ellos. Los TILs estromales que están dispersos en el estroma entre las células tumorales y no en contacto directo con ellas. La distinción entre ambos es meramente descriptiva y artificial; por el contrario, su constante actividad es la que genera el microambiente tumoral.[6]

Una vez descritos los TILs, se postularon distintos estudios que investigaron su implicancia en la biología del cáncer de mama. Es así que se llegó a establecer que su presencia se asocia con un mejor pronóstico.[7-8] Además se han demostrado subtipos tumorales que se conocen como ¨ricos en TILs¨, estos son los Triple Negativos y los Her2+.[9-10] en ellos se han visto mejores resultados en supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global, que en aquellos tumores pobres en TILs.[9-11-12-13] Como agregado, se observó en el infiltrado linfocitario estromal un valor predictivo de respuesta a la neoadyuvancia.[7]

Es en estos subtipos tumorales donde la quimioterapia neoadyuvante juega un rol preponderante en la terapéutica, ya que demostró tasas de respuesta clínica de hasta un 90% y de respuesta patológica completa (RPC) de mas del 60%, que implica la ausencia de tumor invasor residual.[14-15-16] En este contexto, el éxito de la neoadyuvancia

reflejó en numerosos estudios beneficios en supervivencia. Estos estudios fueron analizados por el grupo ´Collaborative Trials in Neoadjuvant Breast Cancer´ (CTNeoBC) quienes establecieron la respuesta patológica completa como un subrogante de supervivencia a largo plazo.[17-18-19-20]

Por lo tanto, hasta hoy sabemos que la RPC se asocia a un mejor pronóstico, y que la misma se presenta en subtipos tumorales que suelen poseer un rico infiltrado linfocitario. Entonces, proponemos que el estudio en la biopsia core pretratamiento, demuestre la cantidad de TILs en un número elevado, puede aportar un factor para predecir si los pacientes se beneficiarán del tratamiento quimioterápico. Sería de utilidad contar con esta herramienta adicional a la hora de tomar decisiones terapéuticas en cuanto a la realización o no de neoadyuvancia, evitando toxicidades y proponiendo un tratamiento quirúrgico en la instancia más apropiada. Sin embargo, la cuantificación de los TILs no se realiza de manera rutinaria, pues faltan estudios que consoliden su relevancia como factor pronóstico y predictivo. Por ello en este estudio nos propusimos como objetivo principal evaluar la asociación entre la cantidad de TILs y la respuesta patológica completa, específicamente en pacientes con cánceres de mama ricos en TILs, tumores Triple Negativos y con sobreexpresión de la proteína Her2.

Objetivo

Objetivo Primario

• Evaluar la asociación entre la cantidad de TILs y la respuesta patológica completa en pacientes con tumores Triple Negativos y Her2 positivos tratados con neoadyuvancia.

Objetivo Secundario

• Describir la proporción de pacientes que presentan RPC según los diferentes subtipos tumorales estudiados.

• Evaluar el acuerdo interobservador en la cuantificación de los TILs.

Material y método

Diseño del estudio, población y seguimiento.

Se realizó un estudio de cohorte retrospectivo observacional transversal de mujeres con cáncer de mama que realizaron quimioterapia neoadyuvante en el Hospital de Agudos Donación Francisco Santojanni, en la Unidad de Mastología, en el periodo comprendido entre enero del 2014 y enero del 2019. Colaboraron en el estudio miembros del servicio de Oncología y Anatomía Patológica.

Criterios de Inclusión:

- Mujeres mayores de 18 años.

- Biopsias core con resultado de cáncer Triple Negativo o con sobreexpresión del receptor Her2 y receptores hormonales positivos o Her2 positivos con receptores hormonales negativos.

-Pacientes que realizaron tratamiento neoadyuvante completo y fueron luego del mismo operadas.

Criterios de exclusión:

- Tumores luminales A y B, es decir con receptores hormonales positivos Her2 negativo.

- Pacientes Estadio IV de inicio.

- Pacientes cuyos lechos tumorales no eran evaluables: signos directos de carcinoma con escaso o nulo estroma tumoral para evaluar la respuesta inflamatoria y cuantificar TILs.

- Pacientes cuyas biopsias no fueron halladas en el archivo.

- Neoadyuvancia incompleta.

- Neoadyuvancia completa pero sin realización de cirugía.

Las muestras fueron analizadas por el servicio de Anatomía Patológica. Todas las pacientes fueron evaluadas por el servicio de Oncología que indicó la terapéutica neoadyuvante en evaluación conjunta con la Unidad de Mastología. El seguimiento posterior fue llevado a cabo por la unidad.

Evaluación patológica.

Para la evaluación de los TILs en los preparados histológicos se contó con observación de dos patólogos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital D. F. Santojanni. Los mismos llevaron a cabo la selección de aquellos preparados histológicos correspondientes a tumores triple negativos y Her2 positivos, que habían sido coloreados con hematoxilina-eosina.

En el estudio de las muestras se siguieron las recomendaciones de la guía de procedimiento realizada por R. Salgado y col. en 2014 (TILs Working Group)[21]:

- El porcentaje de TILs del estroma se midió tomando el área de tejido estromal (área ocupada por las células inflamatorias mononucleares sobre el total del área intratumoral), no el número de células estromales. Los TILs fueron cuantificados dentro de los bordes del tumor invasor, excluyendo aquellos que estaban fuera del borde tumoral y los de alrededor del CDIS y de los lóbulos mamarios normales. Se excluyeron TILs ubicados dentro de zonas con artefactos de técnica, necrosis y zonas de hialinización. Se cuantificaron todos los leucocitos mononucleares (incluidos linfocitos y células plasmáticas) excluyendo leucocitos polimorfonucleares.

- Se realizó la revisión de las muestras, estudiando aquellos que contaran con al menos 200 células. Se tomó una sección por paciente, con una magnificación de ×200–400 (ocular ×10, con un objetivo de ×20–×40) según lo recomendado por Salgado y col.[21] El grosor que se utilizó fue el estándar de 4–5 µm, considerado óptimo. Se evaluaron al menos 10 campos en cada cilindro cuantificando el infiltrado linfocitario del estroma tumoral. Se realizó un promedio de las observaciones, que se informó como porcentaje. Cada patólogo realizó una observación individual estando ciego las características basales de las pacientes, a la presencia o no de RPC y al informe realizado por el otro patólogo.[22]

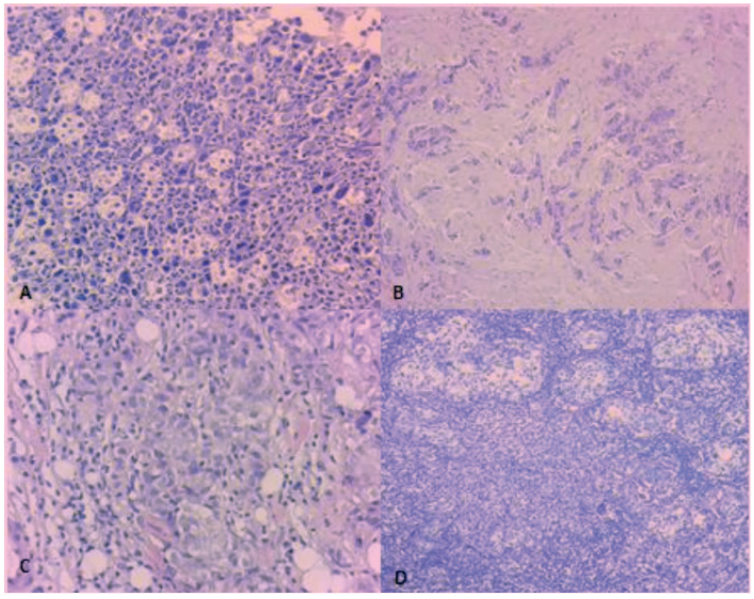
En cuanto a la respuesta patológica, ésta se evaluó determinando en las piezas quirúrgicas de la mama operada y en los ganglios linfáticos resecados el grado de respuesta alcanzado luego del efecto de la neoadyuvancia.

Variables y definiciones.

Los datos para este estudio fueron extraídos de los registros clínicos recopilados en el consultorio de la Unidad de Mastología. Para estadificar las pacientes se utilizo el TNM de la AJCC 8va edición.[23]

Los TILs se midieron como porcentaje (de 0% a 100%) siguiendo las recomendaciones internacionales. Luego se clasificaron como TILs altos en los casos que presentaban ≥ 50% o como TILs Bajos cuando se observaban < 50%, en acuerdo con lo postulado por Loy et al.[24] En la Figura 1 se muestran ejemplos de cómo se cuantifican los TILs.

Figura 1. Biopsias que ejemplifican la cuantificación de TILs. A- 1%; B- 5%; C- 30%; D- 90%



Se definió respuesta patológica completa como: ausencia de componente invasor tanto en la mama operada como en los ganglios axilares resecados durante la cirugía, acorde a la definición del National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18 (NSABP B-18).[25] Toda aquella enfermedad invasora remanente se consideró como respuesta incompleta.

Se categorizó los subtipos tumorales en dos grupos: Triple negativos y Her2 positivos. Dentro de esta última categoría se realizó la subdivisión en Luminales Her2+ y Her2 + Puros, de acuerdo a la positividad o no de los receptores hormonales respectivamente.

El estudio fue realizado de acuerdo con la declaración de Helsinki, y el artículo fue estructurado de acuerdo con las guías de reporte STROBE.[26]

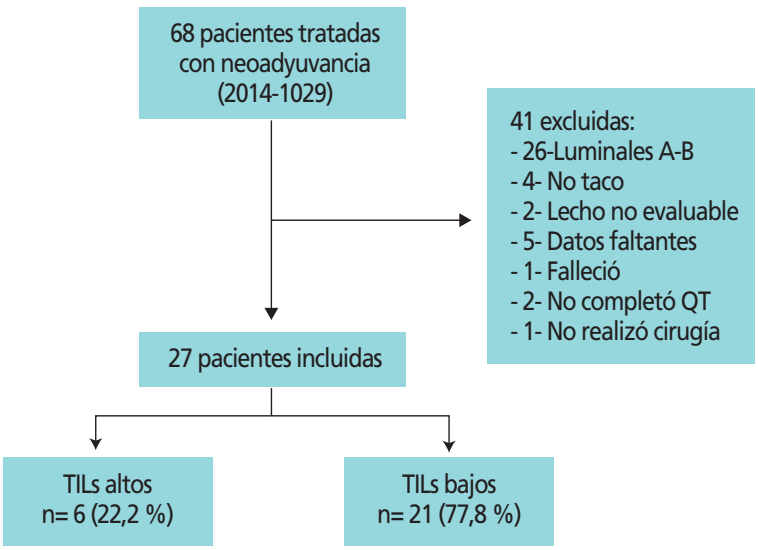
Análisis estadístico.

El muestreo fue consecutivo. Las variables cualitativas se presentan como frecuencias absolutas y relativas (porcentajes). Las variables cuantitativas se muestran como mediana y rango intercuartil (RIC) 25%-75%. Para comparar las características entre las pacientes con TILs bajos y TILs altos se realizó test de Chi2, Fischer o Mann Witney, según correspondía. La asociación entre la cantidad de TILs y RPC fue evaluada tanto con la variable TILs dicotómica, como con la variable TILs continua.

Para evaluar el acuerdo en la evaluación de los TILs entre los dos patólogos se consideró la variable TILs dicotómica: TILs altos (≥50%) vs TILs bajos (<50%). El acuerdo fue evaluado mediante el estadístico kappa. De manera resumida, el estadístico kappa varía de entre −1 (desacuerdo perfecto) y 1 (acuerdo perfecto). Un kappa de 0 indica que la cantidad de acuerdo fue exactamente lo esperado por azar. Los valores de kappa superiores a 0,8 generalmente se consideran muy buenos y valores entre 0,6 y 0,8 son considerados buenos.[27] Adicionalmente se reporta el porcentaje de acuerdo.

Todos los tests fueron a 2 colas. Se consideró estadísticamente significativo un p valor < 0,05. Para el análisis se usó el software STATA v14.

Figura 2. Cohorte de estudio.



RESULTADOS

Durante el período de estudio se identificaron un total de 68 mujeres con cáncer de mama tratadas con neoadyuvancia en nuestra institución, de las cuales 41 fueron excluidas por diversos motivos, tal como se muestra en la Figura 2. Por lo tanto, 27 pacientes fueron incluidas en el estudio.

La cohorte estuvo representada por mujeres de mediana edad en su mayoría. Los estadíos tumorales fueron a predominio de los estadios IIA y IIB de cáncer de mama. Aproximadamente la mitad de las pacientes presentaban antecedentes de uso de anticonceptivos orales y eran menopáusicas al momento del diagnóstico. Un 70% reportó antecedentes de lactancia. Desde el punto de vista del inmunofenotipo, de las 27 pacientes incluidas, 16 (59,3%) tenían tumores Triple Negativos y, 11 (40,7%) tenían sobreexpresión del receptor Her2+. Dentro de este grupo, 6 fueron Luminales Her2 y 5 Her2+ puros (Her2+ enriched).

Considerando toda la población, un total de 6 (22%) pacientes presentaron TILs altos en la biopsia. Al evaluar la cantidad de mujeres de acuerdo a su expresión de receptores, 4 de las 16 (25%) con tumores triple negativos y 2 de las 11 (18%) Her2+ presentaron TILs altos.

Tabla 1. Características de toda la poblaión de estudio y comparación entre las pacientes con TILS altos y TILS bajos (N=27).

	Total N=27	TILs≥50% N=6	TILs<50% N=21	p
Edad – años (mediana) RIC	50.0 (36- 64)	40.5 (30-46)	54 (41-65)	0.0471
Menopausia, num (%)	14 (51.8)	1 (16.6)	13 (61.9)	0.067
ACO, num (%)	15 (55.5)	4 (66.6)	11 (52.3)	0.443
Lactancia num (%)	19 (70.3)	5 (83.33)	14 (66.6)	0.406
Paridad num (%)	23 (85.1)	5 (83.3)	18 (85.7)	0.659
Evolución, meses (mediana) RIC	2 (2-6)	4 (2-12)	2 (2-5)	0.5108
Estadio num (%)				
1a	2 (7.4)	1 (16.6)	1 (4.7)	
2a	12 (44.4)	1 (16.6)	11 (52.3)	
2b	8 (29.6)	3 (50)	5 (23.8)	0.295
3a	3 (11.1)	1 (16.6)	2 (9.5)	
3b	2 (7.4)	0	2 (9.5)	
MIB-1 (%) (mediana) RIC	66 (26-80)	58 (30-92)	70 (26-76)	0.8839
Subtipos tumorales				
-Triple Negativo num (%)	16 (59.2)	4 (66.6)	12 (57.1)	0.528
-Her2 +, num (%)	11 (40.8)	2 (18.1)	9 (81.8)	0.537

Referencias: RIC (Rango intercuartil), ACO =Anticonceptivos orales.

Las características de toda la cohorte, y la comparación de las variables entre las pacientes con TILs altos y TILs bajos se muestran en la Tabla 1.

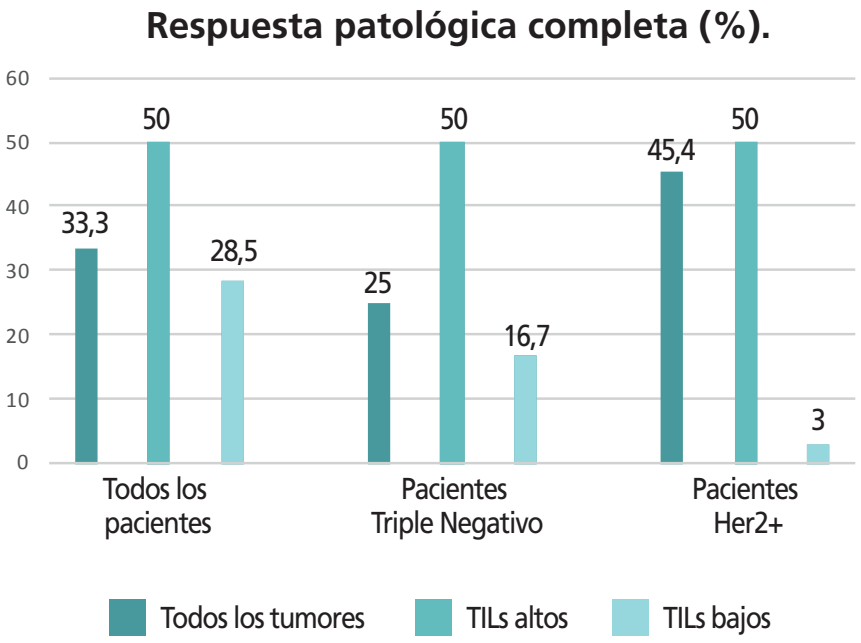
Las mujeres con TILs altos eran menores que las mujeres con TILs bajos, en su mayoría premenopáusicas y con antecedente de lactancia.

Evaluación de respuesta patológica completa.

Un total de 9 (33,3%) pacientes lograron RPC, 3 (50%) en el grupo de TILs altos y 6 (28,5%) en el grupo de TILs bajos (p =0,305). Utilizando la variable TILs como continua en lugar de dicotómica, la mediana de TILs en el grupo de mujeres con respuesta RPC fue de 20% (RIC 15%-50%) y la mediana de TILs en el grupo de mujeres sin respuesta patológica completa fue de 10% (RIC 5%-35%), p = 0.0673 .

La RPC fue lograda en 4 de las 16 (25%) pacientes con tumores Triples Negativos y en 5 de las 11 (45%) pacientes con tumores Her2+ puros. Por otro lado, en el subgrupo de 6 pacientes Her2+ luminal, 3 (50%) mujeres presentaron RPC. Finalmente en el subgrupo de 5 pacientes Her2+ puros, 2 (40%) mujeres presentaron RPC. (Figura 3)

Figura 3. Respuesta patológica completa según cantidad de TILs en cada subtipo tumoral.



Evaluación del acuerdo interobservador en la clasificación de TILs.

El acuerdo en el diagnóstico de TILs altos y TILs bajos entre los dos patólogos que participaron en el estudio fue evaluado en los 27 pares de observaciones, obteniéndose un resultado del 92,59% (kappa de 0.7568, $p < 0,0001$).

DISCUSIÓN

En nuestro estudio se observaron dos hallazgos principales en concordancia con nuestros objetivos: En primer lugar, la tendencia estadísticamente significativa entre la cantidad de TILs y la RPC. En segundo lugar se halló un buen acuerdo interobservador en la cuantificación de TILs entre los dos patólogos que evaluaron las muestras.

En referencia a estudios internacionales, en el Gepard Sixto Denkert y col., analizaron una cohorte de 580 pacientes, con tumores Triple Negativos y Her2+. En la misma, se definió un fenotipo de tumores llamados LPBC (Breast carcinoma with predominant lymphocytic infiltrate) para aquellos tumores con un porcentaje de TILs alto, mayor al 60%. Un 24,5% de la población en el estudio presentó este fenotipo.[13] Sin embargo, otros autores, como Loi Et. Al. definieron este fenotipo con un valor de corte menor, 50% ya que se consideró un valor numérico de un manejo más sencillo.[24] Este punto de corte fue aplicado en nuestro estudio, y se demostró que en nuestra población un 22% de las pacientes presentaba características de tumores LPBC, si bien Loi tuvo un 5,4%. En el Gepard Sixto, como se mencionó, utilizaron un punto de corte del 60% y obtuvieron un porcentaje similar a nuestro estudio (24,5%).

En comparación con estudios nacionales, que centraron su estudio en tumores Triple Negativos, en aquel llevado a cabo por el Instituto Alexander Fleming por la Dra. Amat y col. se halló un 29,2% de tumores LPBC.[2] Mientras tanto en el estudio que realizó la Dra. Vivacqua y col. en la Clínica Breast de La Plata, se hallaron TILs en un porcentaje mayor o igual al 50% en 12 de 36 pacientes (33,3%).[6]

Denkert y colaboradores, en un posterior estudio, incluyeron 6 trials randomizados del German Breast Cancer Group, con un N de 3771 Demostraron TILs altos en un 19% de los casos.[28] Divididos por subtipos tumorales, aquellos tumores con un alto infiltrado linfocitario eran en su mayoría Triples Negativos 30% de 906 y Her2 positivos 19% de 1379. Nuestra distribución para tumores altos en TILs, fue similar a la descrita en la bibliografía, siendo un 25% de los tumores ricos en TILs Triple Negativos y un 18% Her2 positivos. Este hecho demuestra que existe un cierto grupo cánceres mamarios con un fenotipo inmunológico, tal como también fuera demostrado en los análisis de Denkert et al.[13] Este conocimiento brinda un interesante campo en el cual evaluar agentes inmunomoduladores que incrementen el efecto beneficioso que representa la respuesta inmune en estos tumores, para mejorar los resultados de la quimioterapia y, por consiguiente, poder obtener mejor supervivencia.

La asociación de tumores ricos en infiltrado linfocitario y buena respuesta a la quimioterapia se demostró primeramente en el escenario de la adyuvancia.[9] Luego, estudios de grandes cohortes lograron demostrarlo en el contexto de la quimioterapia neoadyuvante.[29] En su estudio con pacientes de trial del German Breast Cancer Group, Denkert et al. evidenciaron una RPC en el grupo de los tumores ricos en TILs del 44%, mientras que para el grupo pobre en TILs, ésta fue del 20%.[30] En nuestra cohorte, los resultados coinciden con la bibliografía ya que la RPC fue alcanzada por un 50% de la población con tumores altos en TILs. No obstante, solo un 28,5% logró alcanzarla en el grupo de pacientes con TILs bajos. En el grupo nacional de la Clínica Breast, el porcentaje de RPC en el grupo de tumores con TILs altos fue también del 50%.[6]

Si se analiza el porcentaje de RPC de acuerdo a la cantidad de TILs en cada subtipo tumoral, se observa que: en pacientes con tumores Her2 positivos y TILs bajos, alcanzaron la respuesta patológica completa solo un 3%. Mientras que en el subgrupo de Tils altos la respuesta patológica completa fue del 50%.

En pacientes con tumores Triple Negativos y TILs bajos alcanzaron la respuesta patológica completa el 16,7% de las pacientes. Mientras que en el subgrupo de TILs altos, la respuesta patológica completa fue del 50% (Figura 3).

Estos últimos resultados respecto a tumores Triple Negativos coinciden con los hallados por la Dra. Vivacqua y col. de la Clínica Breast, donde el 17% de los tumores con TILs bajos presentaron respuesta patológica completa a la neoadyuvancia y del grupo de tumores TN con TILs altos, el 50% la alcanzó (p<0,035).[6]

En comparación con la literatura internacional, nuestra cohorte mostró coincidencias con la serie del análisis multicéntrico de Denkert et al, en pacientes con tumores Her2 positivos y TILs altos, la respuesta patológica completa fue del 48% .

En el subgrupo de pacientes Triple Negativos con TILs altos la respuesta patológica completa fue del 50%.[28]

En referencia al estudio histopatológico, se tomaron como modelos estudios que estandarizaron la observación de las muestras por más de un patólogo. En la bibliografía internacional se reporta una correlación interobservador de hasta un 92% con esta metodología.[30-31] Respecto de la aplicación de una observación en forma de doble ciego, podemos citar el estudio de Adams et al. y el estudio nacional del grupo del Instituto Alexander Fleming en los cuales se mostró validez del método con buena correlación entre las observaciones.[1-2-7-9] En el presente estudio se objetivó que la cuantificación de TILs de manera independiente por dos patólogos avezados en la materia, fue factible y con un acuerdo entre ellos mayor del 90%.

Nuestro estudio demuestra puntos de fortaleza ya que aborda un factor clave de la biología tumoral y su interrelación con el huésped, como es la respuesta inmune. Conocerla brinda información útil para predecir el comportamiento tumoral. En segundo lugar, si bien se desarrollaron estudios que analizan la presencia de TILs en los diferentes subtipos tumorales, en este caso nos enfocamos en los subtipos de alto riesgo. Con lo cual todo aporte en estos casos es de gran valor para desplegar estrategias terapéuticas efectivas y es de interés para el desarrollo de nuevos estudios. Además, logramos implementar sin dificultades la cuantificación de TILs, y con un acuerdo muy elevado entre dos observadores independientes, lo cual evidencia que la técnica es aplicable en nuestro medio.

El estudio también tiene algunas limitaciones, como ser un número pequeño de pacientes y su diseño retrospectivo. Al tomar en cuenta subtipos tumorales menos frecuentes, el número de pacientes que se incluyeron se vio aún más limitado al ya escaso grupo que realiza neoadyuvancia. La mayoría de la población en estudio se encontró dentro de los estadios IIA y IIB, con lo cual ciertas características anatómicas, como el tamaño y/o el compromiso axilar, pudieron ejercer su influencia el comportamiento frente a la quimioterapia, más allá de las características inmunológicas de estos tumores (TILs). Además, nuestro estudio evaluó RPC y no supervivencia. Sin embargo, la RPC ha demostrado ser un marcador subrogante de supervivencia en varios estudios.[17-18-32-33]

La validación del método de cuantificación de TILs no fue uno de los objetivos del presente trabajo. Si bien se obtuvieron buenos resultados en la correlación con dos patólogos, no es posible establecer que en un escenario de múltiples observadores, en la práctica diaria, la correlación sea similar a la observada en nuestro estudio.

CONCLUSIÓN

Si bien no fue un factor predictivo independiente, la cantidad de TILs en la biopsia core de mama de tumores Triple Negativos y Her2 positivos tiene una relación con la RPC aunque se necesitaría un estudio con mayor número de pacientes para demostrar una asociación estadísticamente significativa . Con lo cual el estudio de los TILs aportaría una herramienta pronóstica y predictiva para el comportamiento tumoral frente a la neoadyuvancia. Adicionalmente, la cuantificación de los TILs es aplicable en la práctica dado el elevado acuerdo interobservador.

Referencias

1. Consenso Nacional Inter-Sociedades sobre Cáncer de Mama: Pautas para el Diagnóstico y Manejo de las Lesiones Mamarias Subclínicas. 2006; 3. ◄◄

2. M. Amat, P. Mandó, A. Ostinelli, M. Rizzo. Los linfocitos estromales intratumorales (TILs) como factor pronóstico en tumores primarios de mama Triple Negativos. Revista Argentina de Mastología. 2018;v37; Nº 134. 69-79. ◄◄◄

3. Savas P, Salgado R, Denkert C, et al. Clinical relevance of host immunity in breast cancer: from TILs to the clinic. Nature Reviews Clinical Oncology. 2016;13:228–241. ◄

4. Ahn SG, Jeong J, Hong S, Jung WH. Current Issues and Clinical Evidence in Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer. J Pathol Transl Med. 2015;49:355–363. ◄

5. Demaria S, A. K, Adams S. Cross-Talk of Breast Cancer Cells with the Immune System. Breast Cancer - Carcinogenesis, Cell Growth and Signalling Pathways. 2011. Chapter 22: 457-482. ◄

6. M. Vivacqua, N. Hobaica, V. Méndez Ortiz, E. Castelletto, F.Terrier, L. A. Barbera. La infiltración linfocitaria (TILs) como factor pronóstico en pacientes con cáncer de mama Triple Negativo que realizan quimioterapia neoadyuvante. Revista Argentina de Mastología. 2019 .v 38 ; Nº 140. 34-47. ◄◄◄

7. 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;28:105–113. ◄◄

8. Pagès F, Berger A, Camus M, et al. Effector Memory T Cells, Early Metastasis, and Survival in Colorectal Cancer. New England Journal of Medicine. 2005;353:2654–2666. ◄

9. Adams S, Gray RJ, Demaria S, et al. 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. J. Clin. Oncol. 2014;32:2959–2966. ◄◄◄

10. Loi S, Michiels S, Salgado R, et al. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. Annals of Oncology. 2014;25:1544–1550. ◄

11. Ignatiadis M, Singhal SK, Desmedt C, et al. Gene modules and response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer subtypes: a pooled analysis. J. Clin. Oncol. 2012;30:1996–2004. ◄

12. Bianchini G, Gianni L. The immune system and response to HER2-targeted treatment in breast cancer. Lancet Oncol. 2014;15:58–68. ◄

13. Denkert C, von Minckwitz G, Brase JC, 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;33:983–991. ◄◄◄

14. Gianni L, Pienkowski T, Im Y-H,et al. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. The Lancet Oncology. 2012;13:25–32. ◄

15. Baselga J, Bradbury I, Eidtmann H, et al. Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. Lancet. 2012;379:633–640. ◄

16. Schneeweiss A, Chia S, Hickish T, et al. Pertuzumab plus trastuzumab in combination with standard neoadjuvant anthracycline-containing and anthracycline-free chemotherapy regimens in patients with HER2-positive early breast cancer: a randomized phase II cardiac safety study (TRYPHAENA). Ann. Oncol. 2013;24:2278–2284. ◄

17. Mamounas EP, Cortazar P, Zhang L, et al. Locoregional recurrence (LRR) after neoadjuvant chemotherapy (NAC): Pooled-analysis results from the Collaborative Trials in Neoadjuvant Breast Cancer (CTNeoBC). Journal of Clinical Oncology. 2014;32:61–61. ◄◄

18. Cortazar P, Zhang L, Untch M, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis . The Lancet. 2014;384:164–172. ◄◄

19. Cortazar P, Zhang L, Untch M, et al. Abstract P5-17-01: A definition of a high-risk early-breast cancer population based on data from the collaborative trials in neoadjuvant

breast cancer (CTNeoBC) meta-analysis . Poster Session Abstracts. 2013. ◄

20. Bear HD, Anderson S, Brown A, et al. The effect on tumor response of adding sequential preoperative docetaxel to preoperative doxorubicin and cyclophosphamide: preliminary results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. J. Clin. Oncol. 2003;21:4165–4174. ◄

21. 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 . Annals of Oncology. 2015;26:259–271. ◄

22. Swisher SK, Wu Y, Castaneda CA, et al. Interobserver Agreement Between Pathologists Assessing Tumor-Infiltrating Lymphocytes (TILs) in Breast Cancer Using Methodology Proposed by the International TILs Working Group . Annals of Surgical Oncology. 2016;23:2242–2248. ◄

23. Giuliano AE, Edge SB, Hortobagyi GN. Eighth Edition of the AJCC Cancer Staging Manual: Breast Cancer. Annals of Surgical Oncology. 2018;25:1783–1785. ◄

24. Loi S, Sirtaine N, Piette F, et al. 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;31:860–867. ◄◄

25. Wolmark N, Wang J, Mamounas E, Bryant J, Fisher B. Preoperative 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;96–102. ◄

26. E. Elm von, D.G. Altman, M. Egger, et al., The strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies, Lancet 2007. 370:1453–1457. ◄

27. Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady DG, Newman TB. Designing Clinical Research. Lippincott Williams & Wilkins; 2011.Chapter 4: 123-147. ◄

28. 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. The Lancet Oncology. 2018;19:40–50. ◄◄◄

29. Carbognin L, Pilotto S, Nortilli R, et al. Predictive and Prognostic Role of Tumor-Infiltrating Lymphocytes for Early Breast Cancer According to Disease Subtypes: Sensitivity Analysis of Randomized Trials in Adjuvant and Neoadjuvant Setting. Oncologist. 2016;21:283–291. ◄◄

30. Denkert C, Wienert S, Poterie A, et al. Standardized evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer: results of the ring studies of the international immuno-oncology biomarker working group . Modern Pathology. 2016;29:1155–1164. ◄◄◄

31. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, et al. Assessing Tumor-infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method From the International Immunooncology Biomarkers Working Group: Part 1: Assessing the Host Immune Response, TILs in Invasive Breast Carcinoma and Ductal Carcinoma In Situ, Metastatic Tumor Deposits and Areas for Further Research. Adv. Anat. Pathol. 2017;24:235–251. ◄◄

32. Perfetti A., Sabatini l., Luque M., Vaccaro F., Bustos J., Duarte O. ¿Es la infiltración tumoral linfocitaria útil como predictor de respuesta al tratamiento neoadyuvante en carcinoma de mama Triple Negativo?" Revista argentina de Cancerología. 2014. Núm. 137. 88-93. ◄◄

33. Pennisi A, Kieber-Emmons T, Makhoul I, Hutchins L. Relevance of Pathological Complete Response after Neoadjuvant Therapy for Breast Cancer. Breast Cancer: Basic and Clinical Research. 2016;10:BCBCR.S33163. ◄◄

Debate

Dr. Uriburu: Muchas gracias Dra. Calvo y colaboradores por la presentación. Estamos de acuerdo, es muy interesante, ya lo venimos escuchando en reuniones anteriores. Un interesante factor pronóstico y predictivo de la respuesta al tratamiento, no solo en la adyuvancia sino, mejor aún, en las muestras de punción biopsia, como para ayudar a la toma de decisión en indicar el tratamiento neoadyuvante o no hacerlo. A pesar de la breve serie, es interesante y rescatable también de su trabajo, que sería fácilmente reproducible dado el acuerdo interobservador que usted ha demostrado, de repetirse en series mayores. El que sea un método reproducible es muy rescatable.

Dr. Billinghurst: ¿Sería mandatorio que todos los informes de anatomía patológica informen los TILs? Porque uno ve informes de anatomía patológica que a veces lo tienen y a veces no. Por otro lado, esto lo relaciono a: ¿Si me cambia la conducta del tipo de quimioterapia que se va a hacer de acuerdo con los TILs? Porque, si bien sabemos que, a mayor porcentaje de TILs la respuesta patológica completa es mejor, el pronóstico es mejor, la respuesta es mejor, quiero saber si a mí me cambia el tipo de quimioterapia. Porque si no me cambia el tipo de tratamiento, no sé si, aparte de ser un dato cualitativo de que va a responder mejor, sea necesario.

Dra. Calvo: Como decía el Dr. Uriburu recién, es de fácil reproducción. Nosotros, de hecho, como trabajo, rescatar las muestras porque fue un análisis retrospectivo, lo hicieron dos patólogos pero fue de fácil reproducción y es un agregado que le aporta valor al estudio anatomopatológico de la biopsia pretratamiento. No va a cambiar la conducta en cuanto a lo que es la quimioterapia en sí, como usted dice. En los trabajos no se valora ese hecho, es decir, no se tiene en cuenta en sí el tipo de quimioterapia, fue más allá del tipo de quimioterapia aplicada. Pero sí le aporta un valor de calidad a lo que podemos esperar de la respuesta de la paciente a la neoadyuvancia.

Dr. Billinghurst: Es un dato más para poder informar al paciente cómo va a andar.

Dra. Calvo: Sí, tal cual. Quizás en algunas pacientes se hace un rescate quirúrgico antes de terminarlo porque vemos que no va a tener buena respuesta. Se pueden abrir vías de tratamiento distintas, más allá de que influya en la elección de la quimioterapia.

Dr. Billinghurst: Te felicito, muy completo además todo el trabajo.

Dr. Cassab: Te felicito por el trabajo. Yo solo quería preguntarte, así como el Dr. Billinghurst te preguntó si cambiaría la conducta sobre la quimioterapia, si cambiaría la conducta quirúrgica.

Dra. Calvo: Evaluándolo en estos casos, en pacientes que sabemos que los TILs son muy bajos, que tienen muy pocas chances de responder, quizás se puede probar, pero no completarla en casos en los que sabemos que no va a andar bien. Por otra parte tenemos un factor más, que si bien no está del todo validado, nos influye a la hora de tomar una decisión.

Dr. Cassab: ¿Pudieron hacer alguna asociación con la hormonoterapia, en las pacientes que no responden bien a la quimioterapia, responden al tratamiento hormonal? Es decir ¿Las pacientes con baja concentración de TILs tienen mejor respuesta a la hormonoterapia?

Dra. Calvo: Nosotros no lo evaluamos porque justamente eran pacientes triple negativos y HER2 positivos. Pero sí hay algunos de los estudios, sobre todo el de Denkert que incluyó tumores luminales, e intentó establecer, pero no era el objetivo primario, la evaluación de los TILs con la respuesta a la hormonoterapia. Pero ninguno de los trabajos tuvo ese objetivo. Siempre fue independiente del tratamiento que se le iba a hacer. De hecho con los luminales y los TILs hubo efectos contrarios, porque se observó que, a mayores TILs en los luminales disminuía la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global. Entonces eso era un punto pendiente de investigar. No fue nuestro objetivo

y en los trabajos con los cuales nos comparamos tampoco se evaluó, pero fue eso lo que se vio en cuanto a los luminales.

Dr. Fuleston: Te felicito, muy lindo el trabajo. Yo te quiero preguntar, no sé si los triple negativos y los HER2 positivos eran siempre estadios 3 o estás incluyendo algún tumor que no sea estadio 3, que le hicieron la neoadyuvancia con respuesta patológica completa.

Dra. Calvo: Sí, se incluyeron los estadios hasta el 3, pero en su mayoría, como mostramos, eran estadios 2a y 2b. Los que no completaron la neoadyuvancia no entraron en el estudio. Por eso también nuestra cohorte fue más pequeña. Tuvo varias limitantes para incluir pacientes.

Dr. Billinghurst: Así como los factores pronósticos hoy son un gold estándar y no es aceptable recibir un informe de anatomía patológica o de la punción sin ellos ¿Creés que tendría que ser un gold estándar que el dato de los TILs esté en todos los informes?

Dra. Calvo: Sí, yo creo que sí. De hecho, ya hay muchos estudios.

Dr. Billinghurst: Es decir ¿Debería ser una exigencia para todos los patólogos que siempre nos informen este dato? Porque no todos lo informan.

Dra. Calvo: Tal cual. De hecho en nuestro estudio se pidió al grupo de patólogos que, amablemente participaron, pero la realidad es que no se hace de rutina.

Dr. Uriburu: Muchas gracias Dra. Calvo y colaboradores. Gracias a todos los que hicieron las presentaciones y que trajeron un caso clínico también. Gracias a todos por sus preguntas y por apoyar estas sesiones científicas que enriquecen al intercambio de opiniones y discusión.