



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

ASOCIACIÓN ENTRE LA VARIABILIDAD DEL PORCENTAJE DE LINFOCITOS INFILTRANTES DEL ESTROMA TUMORAL COMO FACTOR PRONÓSTICO EN EL CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO Y LA RESPUESTA PATOLÓGICA A LA QUIMIOTERAPIA NEOADYUVANTE EN PACIENTES DEL HOSPITAL CAYETANO HEREDIA DEL AÑO 2017 AL AÑO 2020

THE ASSOCIATION BETWEEN THE VARIABILITY OF THE PERCENTAGE OF INFILTRATING LYMPHOCYTES OF THE TUMOR STROMA AS A PROGNOSTIC FACTOR IN TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER AND THE PATHOLOGICAL RESPONSE TO NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY IN PATIENTS FROM THE CAYETANO HEREDIA HOSPITAL FROM 2017 TO 2020

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR POR EL
TÍTULO DE ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA Y
LABORATORIO CLÍNICO

AUTOR

JACKELINE LIZBETH NAVARRO RIVAS

ASESOR

JAIME COK GARCIA

LIMA – PERÚ

2022

RESUMEN

Introducción: El cáncer de mama es el tipo de cáncer más común que se presenta entre las mujeres, en el año 2020 se presentó más de 2,2 millones de casos de cáncer de mama en todo el mundo, esta enfermedad sigue siendo la principal causa de muerte a nivel mundial y en nuestro país. El cáncer de mama Triple Negativo es un cáncer poco frecuente, en este subtipo de cáncer hay ausencia de receptores hormonales de estrógeno, progesterona y receptores para el factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2 (HER2). Los linfocitos infiltrantes del estroma tumoral (TILs) están dentro del componente tumoral y hoy en día se han propuesto como marcadores de la respuesta inmune del huésped, sugiriendo que este influye y son de mucha importancia debido a su potencial predictivo y pronóstico en el cáncer de mama. Los TILs estromales van a estar cerca del estroma peritumoral, siendo mejor considerados como parámetro estándar, debido a que se van a asociar mejor a la respuesta al tratamiento neoadyuvante. **Objetivo:** Determinar la asociación entre la variabilidad del porcentaje de linfocitos infiltrantes del estroma tumoral como factor pronóstico en el cáncer de mama triple negativo y la respuesta patológica a la quimioterapia neoadyuvante en pacientes del hospital Cayetano Heredia del año 2017 al año 2020. **Material y métodos:** Diseño observacional, analítico y transversal. El estudio se realizará con todas las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama Triple negativo que recibieron quimioterapia neoadyuvante en el Hospital Cayetano Heredia del año 2017 al año 2020.

Palabras Clave: TILs, Cáncer de mama Triple Negativo, terapia neoadyuvante, respuesta patológica.

INTRODUCCION

El cáncer de mama es el tipo de cáncer más común que se presenta entre las mujeres, con más de 2,2 millones de casos de cáncer de mama en el 2020 en todo el mundo, sigue siendo la principal causa de muerte ocupando el segundo lugar en el mundo y en nuestro país. En Lima el cáncer de mama sigue siendo una de las causas más frecuente de muerte según el Registro de cáncer de base poblacional de Lima Metropolitana. La incidencia anual de este cáncer de mama en el Perú es de 28 casos por 100,000 habitantes, la tasa de mortalidad anual es de 8.5 casos por 100,000 habitantes (IARC, 2015). (1, 2).

Actualmente, los cánceres de mama se clasifican en 4 subtipos según la WHO tenemos: Luminales A y B, HER 2 y triple negativo.

El Luminal A expresa receptores de estrógeno (fuerte) y progesterona y no expresa HER2. El luminal B expresa receptores de estrógeno (débil a moderado) y negativo para receptores de progesterona, a veces HER2 positivo, además los subtipos luminales expresan citoqueratinas de bajo peso molecular como CK7, CK8, el subtipo HER 2 va a carecer de expresión de receptores de estrógeno, progesterona pero expresan HER2 y el Triple Negativo va a tener ausencia de receptores de estrógeno, progesterona y receptores para el factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2 (HER2/neu), Este subtipo de cáncer, en su gran mayoría son de alto grado. Hoy en día es importante saber qué tipo de cáncer de mama presenta cada paciente dicha clasificación es de importancia para la selección adecuada de las terapias posteriores, siendo este último subtipo de comportamiento más agresivo (3)(4)(5). A su vez este cáncer de mama triple negativo se clasifica según la expresión genética en seis subtipos moleculares, estos son: Basal-like 1 y 2 (bl1 y bl2), inmunomodulador, mesenquimático, mesenquimático stem-like y luminal receptor androgénico.

Los (TILs), se van a definir como los linfocitos que se encuentran de manera natural en los infiltrados inflamatorios de algunos tumores invasivos. El Sistema inmunológico junto a las células cancerosas tienen un papel fundamental en la progresión del tumor y su desarrollo posterior (4,5).

Actualmente toma importancia el microambiente tumoral que se va a componer del infiltrado inflamatorio, fibroblastos y su relación con las células tumorales. Dando esta interrelación como resultado el desarrollo y progresión del cáncer de mama. Los TILs están dentro del componente tumoral y hoy en día se han propuesto como marcadores de la respuesta inmune del huésped, sugiriendo que este influye y son de mucha importancia debido a su potencial predictivo y pronóstico en el cáncer de mama. Estos TILs se clasifican en dos tipos: los TILs estromales y los TILs intratumorales.

Los TILs estromales van a estar cerca del estroma peritumoral, siendo mejor considerados como parámetro estándar, debido a que se van a asociar mejor a la

respuesta al tratamiento neoadyuvante. Los TILs intratumorales se encuentran en contacto con el tumor, a pesar que reflejan el efecto antitumoral inmune no aportan respuesta al tratamiento ni pronóstico. (8, 9,10 ,11).

En el 2014, un grupo de investigadores de la internacional TILs (linfocitos infiltrantes del estroma tumoral) recomendó notificar en porcentajes. En la mayoría de estos estudios se evaluó tanto los linfocitos infiltrantes intratumorales como los estromales, determinando que la evaluación del componente estromal tiene mejor reproducibilidad entre los estudios para determinar el porcentaje de los linfocitos. El grado de los TILs se evalúa mediante un parámetro de evaluación por secciones tumorales teñidas con hematoxilina y eosina por porcentajes que presenta el estroma del tumor invasivo y que más adelante se detallara. (13).

Los TILs estromales dan información que parece depender de los subtipos de cáncer de mama, como en el cáncer de mama triple negativo y el HER 2 positivo. En estos 2 subtipos es que los TILs estromales parecen ser pronósticos. (12, 13) ya sea en el contexto con terapia adyuvante o neoadyuvante. (14).

Los estudios sugieren que la quimioterapia desencadena una respuesta frente al tumor causando la muerte celular, activando células citotóxicas y dendríticas específicas del tumor. (15)

Finalmente, los TILs estromales en el cáncer de mama residual después de una terapia neoadyuvante, son un factor de pronóstico positivo y están asociados a una mejor supervivencia. Las terapias neoadyuvantes, en un futuro, podrían enfocarse con especial atención al tumor residual (16).

Estudios de grandes cohortes indican esta asociación entre la presencia de tils altos en estadios tempranos del cancer de mama triple negativo con un mejor pronóstico y respuesta a la neoadyuvancia con mayor sobrevida. El efecto pronóstico de los tils es similar en los diversos trabajos publicados. Hasta la fecha han demostrado la asociación entre los Tils y la sobrevida en cancer de mama triple negativo.

Por lo tanto, es de vital importancia considerar en nuestro día a día la presencia de este porcentaje de TILs estromales en este tipo de cáncer de mama triple negativo por ser tan agresivo y así poder considerarlo como un nuevo marcador el cual nos indicaría mejor respuesta a la terapia neoadyuvante con mejor respuesta patológica completa y tener las herramientas para tratar este tipo de cáncer. La variedad de estudios no considera estudios en nuestro ambito, la evaluación no es rutinaria ya que su relevancia clínica en nuestro país no ha sido consolidada en algún estudio de este tipo específico de cancer de mama triple negativo y la asociación entre la variabilidad del porcentaje de Tils como un estandar en los pacientes y como factor pronóstico junto a la quimioterapia.

OBJETIVOS

Objetivo principal:

Determinar la asociación entre la variabilidad del porcentaje de linfocitos infiltrantes del estroma tumoral como factor pronóstico en el cáncer de mama triple negativo y la respuesta patológica a la quimioterapia.

Objetivos específicos:

Determinar el grado histológico de las biopsias de mama.

Determinar el porcentaje de linfocitos infiltrantes del estroma tumoral en pacientes post quimioterapia y el grado histológico.

Establecer la asociación entre el porcentaje de infiltración linfocitaria y el grado de respuesta a la quimioterapia.

MATERIAL Y METODOS

Diseño del estudio:

Diseño analítico, observacional, transversal.

Población y muestra:

El estudio se realizará con el archivo de láminas de anatomía patológica de las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama triple negativo que recibieron quimioterapia neoadyuvante en el Hospital Cayetano Heredia del año 2017 al año 2020.

Criterios de inclusión:

- Mujeres entre los 18 y 60 años de edad.
- Diagnóstico de cáncer de mama Triple Negativo por biopsia de mama con resultados de inmunohistoquímica.
- Pacientes con quimioterapia neoadyuvante.

Criterios de exclusión:

- Otro subtipo de cáncer de mama.

- Terapia neoadyuvante incompleta.

Muestra:

Se realizara un muestreo no probabilistico intencional correspondiente a todas las pacientes con biopsia prequimioterapia y post quimioterapia en el hospital Cayetano Heredia entre el año 2017 y 2020.

Definición operacional y variables

Variable	Definición conceptual	Tipo de variable	Escala de medición	Indicadores	Instrumento de medición
Grado histológico de biopsia diagnóstica	Es una combinación de grado nuclear, tasa mitótica y formación de túbulos, que describe el aspecto de las células tumorales bajo un microscopio.	Cualitativa	Ordinal	Bajo Grado 1 Grado intermedio 2 Alto Grado 3 según sistema modificado de Elston / Nottingham del sistema Bloom-Richardson	Informe de anatomía patológica
TILS (Independiente)	Porcentaje de linfocitos del estroma tumoral que se encuentran en la biopsia al momento	Razon	Porcentaje	TILS 0 - 10% = 1 TILS 20 - 40% = 2 TILS 50 - 90% = 3 TILS 100% = 4	Reporte del % por anatomopatólogo según las recomendaciones de International

	del diagnostico				TILs Working Group 2014
Respuesta patológica completa (Dependiente)	Sin invasión tumoral en la biopsia. Post quimioterapia neoadyuvante a los 6 meses.	Cualitativa dicotomic a	Nominal	Presente Ausente sin invasión tumoral	Reporte de linfocitos por anatomopatólogo.
Edad (Covariable)	Años cumplidos al momento del diagnostico de Ca de mama.	Cuantitati va	Razon	>18 años y <60 años	Registro en Historia clínica
Sexo (Covariable)	Fenotipo y genotipo	Cualitativa	Nominal	Femenino Masculino	Registro en Historia clínica
Grado Histológico (Covariable)	Grado de diferenciación del tejido tumoral de la segunda biopsia post quimioterapia	Cualitativa	Ordinal	Bajo Grado 1 Grado intermedio 2 Alto Grado 3 según sistema modificado de Elston / Nottingham del sistema Bloom- Richardson	Informe de Anatomía Patológica
Subtipo molecular de Cáncer Triple negativo (Covariable)	Clasificación molecular del cáncer	Cualitativa	Nominal	BL1 BL2 IM M MSL LAR	Informe de Anatomía Patológica

Procedimientos y técnicas

Se solicitará información del registro de historia clínicas de pacientes con cáncer de mama triple negativo post quimioterapia neoadyuvante del hospital Cayetano Heredia

del año 2017 al año 2020 y se procederá a realizar la selección según los criterios de inclusión y exclusión.

Seguidamente se revisará el archivo y la lectura de láminas por parte del investigador con la presencia de los linfocitos infiltrantes del estroma tumoral (TILs), los hallazgos a la respuesta patológica post quimioterapia.

Seleccionadas las láminas de las pacientes previamente coloreadas con hematoxilina y eosina, se procederá a medir el porcentaje de TILs en el compartimiento estromal, eligiendo el área que ocupan las células inflamatorias en el estroma tumoral invasivo, no deben considerarse los TILs fuera del borde del tumor ni los que están alrededor de las glándulas mamarias.

Excluir las zonas con artefactos, focos de necrosis, áreas de carcinoma in situ, lecho cicatricial (biopsias previas).

Se debe cuantificar todas las células mononucleares (incluidos linfocitos y células plasmáticas), los leucocitos polimorfonucleares deben ser excluidos.

La evaluación de la sección histológica debe considerarse un grosor de 4 a 5 micras, recomendando la valoración con objetivos de x20, x40.

Es preferible tomar las secciones completas del tumor.

Por lo tanto, la lectura se realizará cuantificando el infiltrado inflamatorio mononuclear (linfocitos y células plasmáticas) del estroma tumoral, se realizará sobre 10 campos de gran aumento, dicha evaluación debe realizarse dentro del área del estroma tumoral e informar una media de los TILs dentro del área, sin concentrarse en las zonas de mayor actividad o más calientes.

Los resultados se expresan en múltiplos de 10 entre 10% y 100%, tomando como referencia las guías de la OMS 2014.

La recolección de datos de historias clínicas y reportes histopatológicos se realizará mediante una ficha de recolección de datos para luego ser procesados en un paquete estadístico SPSS 23.

Posteriormente del llenado de la base de datos se realizará el análisis estadístico de las variables en estudio.

Aspectos éticos:

La información y recolección de los datos (revisión de base de datos e historias clínicas y revisión de biopsias) se hará posterior a la aprobación del proyecto por el comité de

ética, dicha información será de uso exclusivo para el trabajo de investigación, el cual no producirá riesgo en el paciente, se respetará la confidencialidad de los datos obtenidos, manteniendo el anonimato de los pacientes y mantener la confidencialidad mediante siglas y códigos de historias clínicas.

Plan de análisis:

Las variables de tipo categórica se expresarán en frecuencias absolutas y relativas; mientras, las variables numéricas serán resumidas por estadística descriptiva como: promedio \pm desviación estándar o mediana (p25 – p75), sin embargo, esto va depender de la distribución de la variable numérica que va ser evaluado mediante un histograma.

El análisis bivariado entre la variable dependiente e independiente se utilizará la prueba paramétrica T Student previa evaluación de los supuestos de: observaciones independientes, normalidad y homocedasticidad; caso contrario no se cumpla el supuesto de normalidad se utilizará la prueba no paramétrica U de Mann Whitney. En el caso de evaluar alguna asociación entre las covariables categóricas y la variable dependiente la prueba a utilizar será Chi cuadrado de independencia o prueba exacta de Fisher, previamente evaluado por las reglas Cochran basado en las frecuencias esperadas. Se considerará un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo. El software que se utilizará es el Stata versión 14

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Gu Y, Wu G, Zou X, Huang P y Yi L: Prognostic Value of Site-Specific Metastases and Surgery in *De Novo* Stage IV Triple-Negative Breast Cancer: A Population-Based Analysis. Med Sci Monit. 2020; 26.
2. Plan nacional para la prevención y control de cáncer de mama en el Perú 2017- 2021 (R.M. N° 442-2017/MINSA) / Ministerio de Salud. Dirección General de Intervenciones Estratégicas en Salud Pública. Dirección de Prevención y Control de Cáncer - Lima: Ministerio de Salud; 2017.
3. Lakhani, S. Ellis, I. Schnitt, S. Tan, P. Van De Vijver, M : WHO Classification of Tumours : Breast tumors. 5th Edition. Volume 2.
4. Fresia et al. Triple-negative breast cancer: the importance of molecular and histologic subtyping, and recognition of low-grade variants. *npj Breast Cancer* 2016; 2: 16036. doi:10.1038/npjbcancer.2016.36; published online 16 November 2016
5. Clinicopathological features of nonspecific invasive breast cancer according to its molecular subtypes. *Exp Oncol* 2016 Jun; 38 (2): 122-7.
6. Astvatsaturyan K. Androgen receptor positive triple negative breast cancer: Clinicopathologic, prognostic, and predictive features. *PLoS One* 2018 Jun; 8; 13 (6): e0197827. doi: 10.1371/journal.pone.0197827. eCollection 2018
7. Adams S. Tumor infiltrating lymphocytes (tils) improve prognosis in patients with Triple Negative breast cancer (tnbc). *OncoImmunology* 2015 September; 4: 9, e985930; © 2015 Taylor & Francis Group, LLC.
8. Mittal D., Gubin M.M., Schreiber R.D, Smyth M.J. Insights into cancer immunoediting and its three component phases—elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol.* 2014; 27: 16-25
9. 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
10. 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. *J Clin Oncol.* 2013; 31: 860-867
11. 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. *Ann Oncol.* 2014; 25: 1544-1550

12. Adams S., Gray R.J., 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

13. 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. *Ann Oncol.* 2015;26:259–271

14. 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. *Ann Oncol* 2014; 25: pp. 1544-1550.

15. M V Dieci , M C Mathieu , V Guarneri , P Conte , S Delalogue , F Andre , A Goubar · Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in two phase III randomized adjuvant breast cancer trials. *Ann Oncol*, 2015 Aug;26(8):1698-704.

16. Loi, S, Dushyanthen, S, Beavis, PA. RAS/MAPK activation is associated with reduced tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer: therapeutic cooperation between MEK and PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors. *Clin Cancer Res* 2016; 22(6):1499–1509.

PRESUPUESTO Y CRONOGRAMA

Presupuesto

El investigador se estará a cargo de la correcta recolección de los datos desde las historias clínicas y los reportes de anatomía patológica de las pacientes con Cáncer de mama triple negativo post terapia neoadyuvante del Hospital Nacional Cayetano Heredia.

RECURSOS MATERIALES Y SERVICIO

- Materiales de escritorio	S/. 500.00
- Gastos de internet	S/. 200.00
- Movilidad local	S/. 250.00
- Telefonía celular	S/. 100.00
- Gastos de Luz	S/. 160.00

RECURSOS HUMANOS

- Asesor	S/.	0.00
- Investigador principal	S/.	0.00
- Estadístico	S/.	950.00

TOTAL S/. 2160.00

Cronograma

ACTIVIDADES	2021			
	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO
DISEÑO DEL PROYECTO				
REVISION DE LA BIBLIOGRAFIA				
MARCO TEORICO				
OBJETIVOS E HIPOTESIS				
VARIABLES Y OPERACIONALES				
METODOLOGIA				
TIPO DE ESTUDIO				
POBLACION Y MUESTRA				
PLAN DE RECOLECCION DE DATOS				
ANALISIS DE DATOS				
ELABORACION DEL INFORME				
PRESENTACION DEL INFORME				
PUBLICACION DEL INFORME				

ANEXOS

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PACIENTE	
HISTORIA CLÍNICA	
Nombre:	
Edad: años	
DNI	
Dx Clínico:	
Estadio Clínico:	
Codificación de paciente :	
ANATOMIA PATOLÓGICA	
TILs estromales (Porcentaje)	
Grado Histológico Bajo : 1 Intermedio : 2 Alto : 3	
DATOS DE TRATAMIENTO Y RESPUESTA	
Biopsia post quimioterapia	
Otros hallazgos Histológicos relevantes (más de una opción):	