





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE MEDICINA  
HOSPITAL CENTRAL "DR. IGNACIO MORONES PRIETO"

TESIS PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE  
MEDICINA INTERNA

**"LINFOCITOS T CITOTÓXICOS CD8+ INFILTRANTES DEL TUMOR  
COMO FACTOR PRONÓSTICO EN CÁNCER DE MAMA"**

**JAIME ALBERTO LÓPEZ DE LARA MONTALVO**

DIRECTOR DE TESIS: JAIME ARTURO GUEL PAÑOLA

CO-ASESOR: M.E. MARY CARMEN GUTIÉRREZ GIL

DIRECTOR METODOLÓGICO: M.C. MARCO ULISES MARTÍNEZ  
MARTÍNEZ

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESPECIALIDAD EN MEDICINA INTERNA

TÍTULO DE TESIS:

“Linfocitos T citotóxicos CD8+ infiltrantes del tumor como factor pronóstico  
en cáncer de mama”

PRESENTA:

Jaime Alberto López De Lara Montalvo

<b>ASESOR</b>	<b>FIRMA</b>
DIRECTOR DE TESIS: Jaime Arturo Guel Pañola Oncología Médica	
CO-ASESOR: M.E. Mary Carmen Gutiérrez Gil Anatomía Patológica	
DIRECTOR METODOLÓGICO: M.C. Marco Ulises Martínez Martínez Reumatología	

<b>SINODAL</b>	<b>FIRMA</b>
PRESIDENTE: M.C. Oscar de Jesús Pérez Ramírez Hematología	
Cuauhtémoc Oros Ovalle Anatomía Patológica	
Willy Tonatiuh Escalante Silva Oncología Ginecológica	

<p><b>M.C. Ma. del Pilar Fonseca Leal</b> Jefe de Investigación y Posgrado Clínico de la Facultad de Medicina</p>	<p><b>Ana Luisa Molina González</b> Coordinadora del Posgrado de Medicina Interna</p>
---	---



El cáncer como enfermedad global representa hoy en día una de las principales causas de muerte a nivel mundial, aumentando su incidencia y prevalencia año con año, e incluso logrando posicionarse como segunda causa de muerte, solo por debajo de las enfermedades cardiovasculares en algunos países desarrollados. En el cáncer de mama, a pesar de las terapias *novel* que se han desarrollado para combatir esta enfermedad, aunque se ha logrado disminuir la mortalidad, sigue representando un problema de salud pública mundial. Las neoplasias tanto sólidas como hematológicas tienen un origen multifactorial, y el sistema inmune tanto *innato* como adaptativo se encargan de eliminar a las células neoplásicas que han logrado escapar del proceso de auto-eliminación, y cuyos principales efectores son las células dendríticas, los linfocitos T CD4+ (principalmente Th1), así como linfocitos T CD8+, y en menor medida linfocitos NK. En las últimas tres décadas se ha dilucidado poco a poco el papel fundamental que juegan los linfocitos T CD8+ en la respuesta inmune anti-tumoral. En el cáncer de mama se ha visto que en aquellas pacientes en las que se documenta un porcentaje de infiltración de linfocitos T en el tejido neoplásico >20%, tanto en estroma tumoral como intra-tumoral, y principalmente de predominio CD8+, tienen una mayor respuesta patológica a la terapia neo-adyuvante, así como mayor período libre de enfermedad y mayor sobrevida global. En el presente estudio se evaluará el valor pronóstico que tienen los linfocitos T citotóxicos CD8+ infiltrantes del tumor en las pacientes con cáncer de mama de nuestra población. Objetivo principal: Evaluar la respuesta anti-tumoral de los linfocitos T citotóxicos CD8+ infiltrantes del tumor como valor pronóstico en las pacientes con cáncer de mama invasor de nuestra población. Diseño del estudio: cohorte retrospectiva analítica, n=134; se realizará un análisis de sobrevida. Resultados: se encontró una asociación favorable estadísticamente no significativa entre un porcentaje de LITs CD8+ >40% y sobrevida global, no así en el caso de sobrevida libre de enfermedad, donde un porcentaje de LITs CD8+ >25% fue deletéreo. Conclusiones: es necesaria una muestra más grande, de carácter prospectivo, para poder extrapolar los resultados a nuestra población; ya que sin duda los LITs CD8+ juegan un papel fundamental en la sobrevida de éstas pacientes, independientemente de otros factores pronósticos ya establecidos.

## ÍNDICE

Resumen .....	1
Índice .....	2
Lista de tablas .....	3
Lista de figuras .....	4
Abreviaturas .....	5
Antecedentes .....	6
Justificación .....	11
Hipótesis .....	12
Objetivos .....	12
Metodología .....	13
Análisis estadístico .....	17
Aspectos éticos .....	18
Resultados .....	19
Discusión .....	27
Limitaciones .....	31
Conclusiones .....	32
Referencias bibliográficas .....	34
Anexo .....	38

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1 (Características de la población en estudio) .....	18
Tabla 2 (Diferencias entre pacientes vivas vs fallecidas) .....	20
Tabla 3 (Diferencias entre pacientes libres de enfermedad vs recurrencia) ....	24



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 (Sobrevida global según el porcentaje de LITs CD8+) .....	21
Figura 2 (Sobrevida global según el sub-tipo molecular) .....	22
Figura 3 (Porcentaje de LITs CD8+ en sub-tipos moleculares) .....	23
Figura 4 (Sobrevida libre de enfermedad según sub-tipo molecular) .....	25

## ABREVIATURAS

Th1: Linfocitos T *helper* (colaboradores) tipo 1.

Th2: Linfocitos T *helper* (colaboradores) tipo 2.

NK: Linfocitos *natural killer* (asesino natural).

TNM: Tumor – Nódulos (ganglios linfáticos) – Metástasis.

LPBC: *Lymphocyte-predominant breast cancer* (cáncer de mama predominantemente linfocítico).

LITs: Linfocitos infiltrantes del tumor.

## 1. ANTECEDENTES.

Desde hace ya más de un siglo, se ha propuesto e identificado el papel que juega el sistema inmune en el desarrollo y progresión del cáncer. Hoy en día se conoce que el sistema inmune posee naturalmente la habilidad de identificar las células neoplásicas que han evadido los mecanismos intrínsecos de auto-eliminación, y montar así una respuesta en contra de éstas. Sin embargo, la célula neoplásica aún cuenta con mecanismos para escapar de la respuesta inmune que se monta en su contra, un proceso propuesto como “inmunoedición,” desencadenado por la fuerte presión inmunológica a la que ésta es sometida.<sup>1, 6, 7, 13</sup>

El microambiente tumoral, formado por células neoplásicas, fibroblastos, células endoteliales y células inmunes, además de citocinas, interleucinas y moléculas de adhesión celular producidas por todas éstas células; se encuentra en una balanza en constante movimiento, donde de un lado se encuentra el ambiente pro-inflamatorio y del otro lado el ambiente anti-inflamatorio.<sup>1, 6, 7, 13</sup>

Existe evidencia cada vez mayor que indica que el infiltrado de células inmunes en el microambiente tumoral tiene una asociación importante en cuanto al pronóstico de los pacientes con cáncer, cuyo valor pudiera ser incluso mayor que la actual clasificación de TNM (por sus siglas en inglés, T=tumor, N=nodes, M=metastasis), y que a su vez depende del tipo de células que componen éste infiltrado. Diversos estudios en diferentes neoplasias principalmente sólidas, han demostrado que la presencia de linfocitos T citotóxicos CD8+ en éste infiltrado se asocia con una mayor sobrevida en estos pacientes. *Denkert et al.* ha asociado no solo con una mayor sobrevida la presencia de linfocitos T infiltrantes del tumor, si no además con una mayor respuesta al tratamiento médico anti-cáncer (quimioterapia +/- terapia inmunológica).<sup>1, 2, 6, 7, 12</sup>

El reconocimiento de estas células neoplásicas por parte de los linfocitos T es un paso crucial en la activación de la respuesta inmune anti-tumoral, en donde las células dendríticas juegan un papel fundamental al reconocer los antígenos asociados al tumor para la consecuente activación de la respuesta inmune adaptativa, especialmente la de los linfocitos T CD4+ también llamados “*helper*” (Th). Los linfocitos T citotóxicos CD8+ sin duda alguna son las células protagonistas y principales efectoras de esta respuesta inmune anti-tumoral, sin embargo su activación depende de los linfocitos T CD4+, principalmente Th1.<sup>3</sup> Se ha demostrado en diferentes estudios que el infiltrado de células inmunes en el microambiente tumoral de las pacientes con cáncer de mama se caracteriza en mayor medida por linfocitos T citotóxicos CD8+ (>70%), seguidos de linfocitos T CD4+, y en menor medida por linfocitos B, monocitos/macrófagos y linfocitos NK. El tipo de linfocitos T CD4+ también determina el pronóstico en estos pacientes, al dictar el tipo de respuesta inmune a desencadenar (Th1=anti-tumoral vs Th2=pro-tumoral).<sup>1, 4, 6, 7</sup>

Diversos estudios han revelado que la presencia, localización y composición del infiltrado de células inmunes en el microambiente tumoral de las pacientes con cáncer de mama impacta de manera benéfica en la respuesta al tratamiento médico anti-cáncer, así como en la supervivencia libre de enfermedad y en algunos estudios, en la supervivencia global.<sup>5, 6, 7, 12, 14</sup> Aunque estudios en otras neoplasias sólidas han demostrado mayor importancia a los linfocitos T infiltrantes del tumor “intra-epiteliales” (intra-tumorales), en cáncer de mama se ha visto que tanto linfocitos T intra-tumorales como la presencia de linfocitos T en el estroma tumoral correlacionan con el mismo pronóstico, y son de mayor utilidad a la hora de ser evaluados por el patólogo estos últimos.<sup>6, 15, 20</sup>

La terapia neo-adyuvante en cáncer de mama hoy en día es considerada uno de los factores pronósticos más importantes en cuanto al nivel de respuesta patológica secundaria a ésta, con un efecto directamente proporcional. Se ha demostrado en

diversos estudios que un mayor infiltrado de linfocitos T principalmente citotóxicos CD8+ en el tejido tumoral pre-tratamiento anti-cáncer, correlaciona con una mayor respuesta patológica que incluso llega a ser completa secundaria al tratamiento neo-adyuvante, a diferencia de aquellas pacientes con menor infiltrado de linfocitos T y que se les administra la misma terapia neo-adyuvante.<sup>5, 6, 7, 12, 13, 14</sup> Esto se explica por la “muerte inmunogénica” que ocasionan principalmente las antraciclinas, con la consecuente liberación y presentación de antígenos asociados al tumor, y por ende activación de la respuesta inmune anti-tumoral.<sup>7, 13, 19</sup> De igual manera, se ha demostrado una correlación lineal entre mayor porcentaje de linfocitos T infiltrantes del tumor y menor riesgo de recaída y muerte, independientemente del tipo de esquema de quimioterapia administrada.<sup>8, 13, 20</sup>

El porcentaje de infiltración de linfocitos T en el tejido tumoral de las pacientes con cáncer de mama depende del tipo y sub-tipo histológico de éste, inmunorreacción a receptores hormonales y sobre-expresión de HER-2 neu, como se ha demostrado en múltiples estudios, donde suele ser mayor éste porcentaje de infiltración en los sub-tipos más agresivos, como lo son el HER2+ con receptores hormonales negativos, y el triple negativo (“*basal-like*”).<sup>5, 9, 10, 13, 14, 19</sup> Así también se ha visto mayor porcentaje de infiltración en aquellas neoplasias de mama con mayor grado histológico y mayor índice de proliferación tisular, como lo refleja la expresión del antígeno Ki67.<sup>6, 15, 17, 20</sup>

Tanto el sub-tipo HER2+ puro como el sub-tipo triple negativo, se asocian ambos con una menor respuesta patológica a la terapia neo-adyuvante, sin embargo en diversos estudios se ha evidenciado que aquellas neoplasias con mayor porcentaje de linfocitos T infiltrantes, a pesar de pertenecer a este sub-grupo de neoplasias agresivas, presentan una mayor respuesta patológica que incluso llega a ser completa tras la administración de la terapia neo-adyuvante, así como un mayor período libre de enfermedad y de supervivencia global.<sup>5, 6, 16, 17</sup>

Reducciones de hasta un 30% en el riesgo de recurrencia, 22% en riesgo de recaída a distancia y 34% en riesgo de muerte, se ha logrado documentar en aquellas pacientes con sub-tipo agresivo y con presencia de linfocitos T citotóxicos en >50% del tejido tumoral, independientemente del estado ganglionar.<sup>20</sup>

Igualmente se ha demostrado que por cada 10% de incremento en los linfocitos T en el tejido tumoral, hay una asociación significativa con menor recurrencia a distancia de hasta en un 14%, principalmente en estos sub-tipos agresivos.<sup>9, 11, 12, 14, 17, 20</sup> El llamado “cáncer de mama predominantemente linfocítico” (denominación clínica por sus siglas en inglés: *Lymphocyte-predominant Breast Cancer*), definido como un porcentaje de linfocitos T infiltrantes del tumor >50%, es el “tipo” de tumor infiltrado más asociado a mayor período libre de enfermedad, así como a menor recurrencia a distancia, y a mayor sobrevida global. Sin embargo se ha demostrado que con porcentajes de infiltración >5%, ya existe cierto beneficio en cuanto a estas variables en éstas pacientes. Incluso en algunos estudios se destaca una sobrevida global cercana al 96% a 10 años en el grupo de *LPBC*, posicionando a los linfocitos T infiltrantes del tumor como un importante factor pronóstico independiente. Una vez más destaca la presencia de linfocitos T citotóxicos CD8+ en mayor predominio en estos infiltrados.<sup>14, 15, 18, 20</sup>

En otros estudios a pesar de la presencia de ganglios positivos y de un tumor >2 cm, ambos factores de mal pronóstico en cáncer de mama; en aquellas pacientes con un porcentaje de infiltración de linfocitos T >20%, tienen ya un mayor período libre de enfermedad así como de sobrevida global, en comparación con aquellas pacientes de las mismas características pero con menor o nula infiltración de éstas células.<sup>5, 6,</sup>

<sup>18</sup> Esta asociación es más fuerte en los sub-tipos agresivos comentados previamente y que además recibieron neo-adyuvancia con antraciclina.<sup>19, 20</sup>

La mayoría de la evidencia actual demuestra un factor pronóstico favorable en pacientes con cáncer de mama con presencia de linfocitos T citotóxicos CD8+ infiltrantes del tumor, principalmente en aquellas con >50% de infiltración, sin embargo ya con porcentajes >20% hay un beneficio sustancial en cuanto a respuesta patológica a la terapia neo-adyuvante, así en la disminución del riesgo de recaída a distancia, aumento en el tiempo libre de enfermedad y aumento en la sobrevida global, principalmente en los sub-tipos HER2+ puro y triple negativo (“*basal-like*”).<sup>5, 6</sup>

Los sub-tipos luminal, son los mejores diferenciados y por ende menos “inmunogénicos” y con menor infiltración por linfocitos T.<sup>5</sup>

En el escenario de enfermedad metastásica en las pacientes con cáncer de mama, se ha demostrado en diferentes estudios que en el sitio primario existe escasa o nula infiltración de linfocitos T, independientemente del sub-tipo molecular, así como en el sitio de metástasis.<sup>5, 6</sup>

## 2. JUSTIFICACIÓN.

Actualmente se conoce que la clasificación de TNM, así como el sub-tipo molecular y la respuesta patológica a la terapia neo-adyuvante, representan los principales factores pronósticos en las pacientes con cáncer de mama. El sistema inmune juega un papel fundamental en la eliminación y desarrollo-progresión de las neoplasias, y en base a esto se han desarrollado ciertas terapias inmunológicas como las llamadas "*Check-point inhibitors*" (inhibidores de punto de control), las cuales buscan reactivar el sistema inmune, a través de la célula efectora principal de la respuesta inmune anti-tumoral: el linfocito T citotóxico CD8+. En distintos estudios a nivel internacional se ha propuesto que estos linfocitos T citotóxicos CD8+ infiltrantes del tumor pudieran representar un factor pronóstico incluso más importante que los previamente mencionados, ya que se ha demostrado en estos estudios que la presencia de estas células inmunes correlacionan con una mejor respuesta patológica al tratamiento neo-adyuvante, así como con un mayor período libre de enfermedad y una mayor sobrevida global.

La identificación temprana de las pacientes mexicanas con cáncer de mama con un porcentaje significativo de linfocitos T citotóxicos CD8+ infiltrantes del tumor (>20%), arrojaría en que pacientes el tratamiento anti-cáncer debe ser más agresivo, así como un pronóstico más acertado independientemente de su estado TNM y sub-tipo molecular, en cuanto a período libre de enfermedad y sobrevida global.



### **3. HIPÓTESIS DE TRABAJO.**

El incremento en el porcentaje de linfocitos T citotóxicos CD8+ infiltrantes del tumor en el tejido neoplásico de las pacientes con cáncer de mama invasor, confiere mayor sobrevida.

### **4. OBJETIVOS.**

#### **4.1 Objetivo general.**

Evaluar si los linfocitos T citotóxicos CD8+ infiltrantes del tumor son un factor pronóstico en pacientes con cáncer de mama invasor.

#### **4.2 Objetivos específicos.**

- A) Evaluar el porcentaje de linfocitos T citotóxicos CD8+ en el tejido neoplásico de las pacientes con cáncer de mama invasor.
- B) Determinar la sobrevida de éstas pacientes de acuerdo al porcentaje de linfocitos T citotóxicos CD8+ infiltrantes del tumor.

#### **4.3 Objetivos secundarios.**

Determinar de que otra manera influye el porcentaje de linfocitos T citotóxicos CD8+ infiltrantes de tumor en la sobrevida de los pacientes con cáncer de mama invasor.

## **5. METODOLOGÍA.**

### **5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO:**

Cohorte retrospectiva analítica.

### **5.2 LUGAR DE REALIZACIÓN:**

Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, S.L.P.

### **5.3 MÉTODO DE MEDICIÓN DE LITs:**

Se medirá el porcentaje de linfocitos T infiltrantes del tumor CD8+ que se encuentran en el estroma tumoral, como marcan las recomendaciones del grupo de trabajo en LITs en cáncer de mama del 2014.<sup>21</sup>

### **5.4 UNIVERSO DE ESTUDIO:**

Tejido neoplásico de las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama invasor resguardado en el departamento de Anatomía Patológica, mismas que recibieron atención médica, tratamiento y concluyeron su seguimiento por parte de Oncología Médica en la misma institución.

## 5.5 CRITERIOS DE SELECCIÓN:

- **Inclusión:** pacientes con cáncer de mama invasor de dicha institución con diagnóstico a partir del 01 de enero del 2013 (ó antes si fuese posible), hasta el 31 de diciembre del 2017; mismas que recibieron atención médica, tratamiento y concluyeron su seguimiento por parte del servicio de Oncología Médica de esta institución. Será estrictamente necesario contar con el expediente físico correspondiente, así como con las muestras de tejido neoplásico correspondientes.
- **Exclusión:** no contar con las muestras de tejido neoplásico de las pacientes en el departamento de Anatomía Patológica, así como muestras de pacientes que ya hayan iniciado algún tipo de terapia médica anti-cáncer, la cual no se especifica adecuadamente el tipo ni el tiempo de la misma.
- **Eliminación:** muestras de las pacientes con tejido neoplásico insuficiente ó nulo.

## 5.6 VARIABLES EN EL ESTUDIO:

<b>INDEPENDIENTE</b>				
<b>Variable</b>	<b>Definición Operacional</b>	<b>Valores posibles</b>	<b>Unidades</b>	<b>Tipo de variable</b>
Linfocitos T citotóxicos CD8+ infiltrantes del tumor.	Porcentaje de linfocitos T CD8+ que se encuentra infiltrando el estroma tumoral.	0-100	%	Continua
<b>DEPENDIENTE</b>				
Sobrevida.	Sobrevida en meses.	0-infinito	Meses	Continua
<b>CONFUSORAS</b>				
Período libre de enfermedad.	Tiempo que transcurre entre la eliminación medible del tumor y la reaparición de este una vez terminado el tratamiento anti-cáncer.	0-infinito	Meses	Continua
Comorbilidades.	Presencia de comorbilidades que impacten directamente en la mortalidad.	Sí=1  No=0	N/A	Dicótoma

## 5.7 TIPO DE MUESTREO.

No probabilístico por conveniencia.

## 5.8 CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Análisis de sobrevida o regresión de Cox.

$N=K \times EPV / P = (10 \text{ a } 20) (4) / 0.3 = 134 \text{ muestras.}$

Gordillo-Moscoso AA, Medina-Moreno UF, Pierdant-Pérez M. Manual de Investigación Clínica. 2012. 1ª Ed. Editorial El Manual Moderno.

Dattalo P. Determining Sample Size: Balncing Power, Precision, and Practicality. Pocket Guides to Social Work Research Methods. 2008. Oxford University Press, Inc.

## 5.9 MÉTODO DE ALEATORIZACIÓN.

No aplica.

## 5.10 PRUEBA PILOTO.

No se requiere y por tanto no se realizará prueba piloto.

**6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

<b>Variable</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Tipo de prueba estadística y de análisis a aplicar</b>
Sobrevida global	Continua	Regresión de Cox
Sobrevida libre de enfermedad	Continua	Regresión de Cox

## **7. ASPECTOS ÉTICOS.**

Investigación sin riesgo.

No se requiere de la participación activa de las pacientes, puesto que se revisarán muestras de tejido neoplásico y expedientes clínicos de las pacientes que ya hayan concluido el seguimiento por parte de Oncología Médica, por lo que el consentimiento dependerá de la institución como propietario de los recursos materiales, el cual no debería ser obstáculo ya que se pretende analizar uno de los factores pronóstico más importantes según la literatura actual en cuanto a cáncer de mama, mismo que podría establecer pautas en tratamiento, seguimiento y sobrevida. El uso del expediente clínico no tendrá otro fin más que correlacionar la respuesta al tratamiento médico anti-cáncer, así como la sobrevida con los resultados obtenidos de las muestras de tejido neoplásico; en ningún momento se hará mal uso de los datos personales, como marcan el acuerdo de confidencialidad y la ley de protección de datos personales. El co-investigador por parte de patología no tendrá contacto con los expedientes clínicos, así como el investigador principal, director de tesis y director metodológico no tendrán contacto con las muestras de tejido neoplásico de las pacientes en estudio. Las pacientes no serán informadas acerca de los resultados. Los resultados obtenidos serán de carácter académico y en ningún momento se hará mal uso de ellos ni mucho menos se lucrara con los mismos. No hay ningún beneficio económico entre los investigadores participantes.

Se anexa carta de aceptación por el comité de ética (ver Anexo).

## 8. RESULTADOS.

Se realizó una búsqueda entre 529 expedientes de pacientes con diagnóstico confirmado por histopatología de cáncer de mama invasor, quienes acudieron a manejo por parte del servicio de Oncología del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto;” de entre las cuales 260 pacientes cumplieron los criterios de inclusión para hacer la búsqueda de los linfocitos infiltrantes del tumor en el tejido neoplásico de dichas pacientes, sin embargo, sólo de 85 pacientes fue posible encontrar muestra suficiente y adecuada de tejido neoplásico para la realización de la inmunohistoquímica para LITs CD8+.

Tabla 1. Características de la población en estudio.

<b>CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO</b>	
n	85
Edad media (DE)	57.08 (13.12)
Con vida (%)	80 (94.11)
Etapa clínica (%)	
I	8 (9.4)
IIA	27 (31.8)
IIB	19 (22.4)
IIIA	17 (20)
IIIB	8 (9.4)
IIIC	3 (3.5)
IV	3 (3.5)
Tipo histológico (%)	
Ductal invasor	49 (57.6)
Lobulillar invasor	29 (34.1)
Otro	7 (8.2)
Sub-tipo molecular (%)	
Receptores hormonales	47 (58)



HER2+	11 (13.6)
Triple positivo	16 (19.8)
Triple negativo	7 (8.6)
Ganglios axilares positivos (%)	48 (57.1)
Quimioterapia neo-adyuvante (%)	28 (32.9)
Meses con vida media (DE)	53.34 (12.72)
Meses libre de enfermedad media (DE)	46.61 (16.53)
LITs CD8+ media (DE)	20% (22%)
Recurrencia (%)	10 (11.8)
Co-morbilidad (%)	42 (49.4)

DE= desviación estándar.

De estas 85 pacientes, al momento del término del estudio (Octubre 2018) 80 seguían con vida (grupo A) y 5 ya habían fallecido por causa directa atribuible a la neoplasia en estudio (grupo B). La edad media fue de 57 años en el grupo A vs 50 años en el grupo B. El promedio de meses con vida fue de 58 meses (48-63 meses, IC 95%) en el grupo A vs 24 meses (20-29 meses, IC 95%) en el grupo B; y en cuanto al período libre de enfermedad fue de 51.5 meses (42-59 meses, IC 95%) vs 14 meses (4-15 meses, IC 95%) respectivamente. El porcentaje medio de infiltración por LITs CD8+ fue de 10% (1-32%, IC 95%,  $p=0.046$ ) en el grupo A vs 40% (20-60%, IC 95%,  $p=0.046$ ) en el grupo B. En cuanto a recurrencia, 7.5% la presentó del grupo A vs 80% del grupo B ( $p<0.001$ ).

Las etapas clínicas que predominaron fueron IIA (32.5%), IIB (23.8%), IIIA (18.8%) y IIIB (10%) en el grupo A, y IIIA (40%), IIIC (20%), IV (20%) y IIA (20%) en el grupo B. Carcinoma ductal invasor correspondió al 58.8%, y carcinoma lobulillar invasor 32.5% en el grupo A, mientras que carcinoma lobulillar invasor predominó en un 60% en el grupo B, y carcinoma ductal invasor representó el 40%. El sub-tipo de receptores hormonales positivos fue el de mayor prevalencia en el grupo A, con un 60.5%, seguido del triple positivo (21.1%), HER2+ (11.8%) y triple negativo (6.6.); en tanto que los sub-tipos triple negativo y HER2+

fueron los más prevalentes en el grupo B, con 40% cada uno, seguidos del receptores hormonales positivos (20%). Se encontraron ganglios axilares positivos en el 57% de las pacientes del grupo A, y en el 60% de las pacientes del grupo B. Solamente el 31.2% de las pacientes del grupo A recibió quimioterapia neo-adyuvante, mientras que por el contrario 60% de las pacientes del grupo B recibió esta intervención. En cuanto a la presencia de comorbilidades que impactan directamente en la mortalidad de las pacientes, 50% las presentaron en el grupo A, y 40% en el grupo B.

Tabla 2. Diferencias entre pacientes vivas vs fallecidas.

<b>CARACTERÍSTICAS ENTRE EL GRUPO CON VIDA (A) VS SIN VIDA (B)</b>			
	A	B	p
n	80	5	
Edad media (DE)	57.49 (13.36)	50.60 (5.77)	0.257
Con vida (%)	80 (100)	0 (0)	<0.001
Etapa clínica (%)			0.07
I	8 (10)	0 (0)	
IIA	26 (32.5)	1 (20)	
IIB	19 (23.8)	0 (0)	
IIIA	15 (18.8)	2 (40)	
IIIB	8 (10)	0 (0)	
IIIC	2 (2.5)	1 (20)	
IV	2 (2.5)	1 (20)	
Tipo histológico (%)			0.413
Ductal invasor	47 (58.8)	2 (40)	
Lobulillar invasor	26 (32.5)	3 (60)	
Otro	7 (8.8)	0 (0)	
Sub-tipo molecular (%)			0.011
Receptores hormonales	46 (60.5)	1 (20)	
HER2+	9 (11.8)	2 (40)	

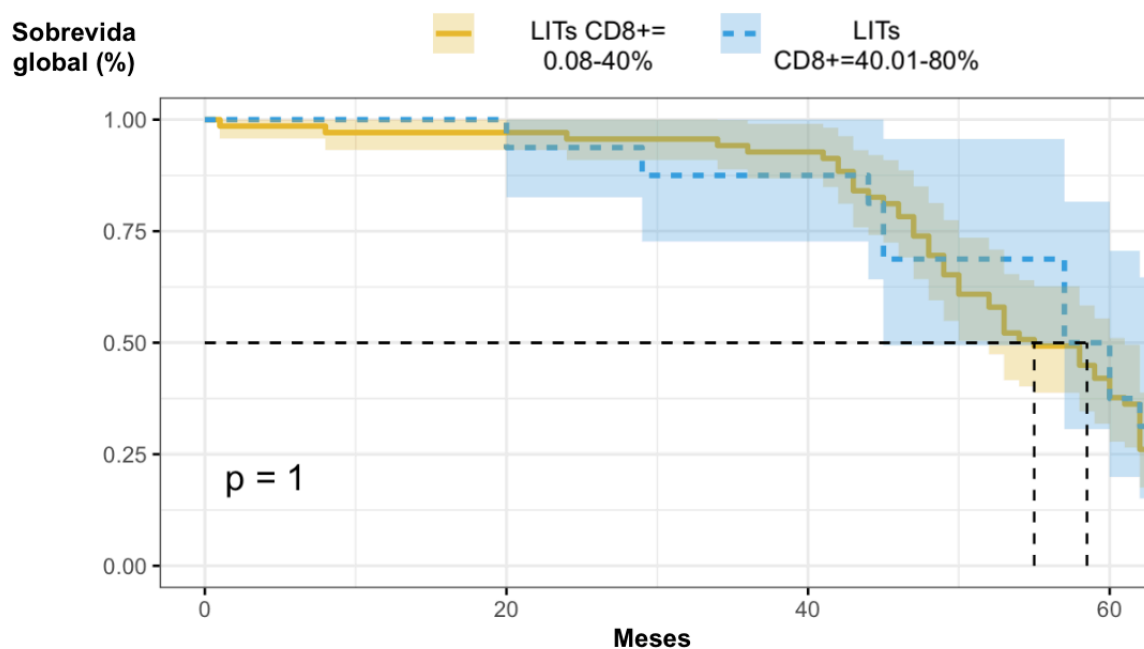
Triple positivo	16 (21.1)	0 (0)	
Triple negativo	5 (6.6)	2 (40)	
Ganglios axilares positivos (%)	45 (57)	3 (60)	0.894
Quimioterapia neo-adyuvante (%)	25 (31.2)	3 (60)	0.185
Meses con vida media (RIC)	58 (48-63)	24 (20-29)	<0.001
Meses libre de enfermedad media (RIC)	51.5 (42-59)	14 (4-15)	0.001
LITs CD8+ media (RIC)	10% (1-32%)	40% (20-60%)	0.046
Recurrencia (%)	6 (7.5)	4 (80)	<0.001
Co-morbilidad (%)	40 (50)	2 (40)	0.664

DE= desviación estándar.

RIC= rango intercuartil.

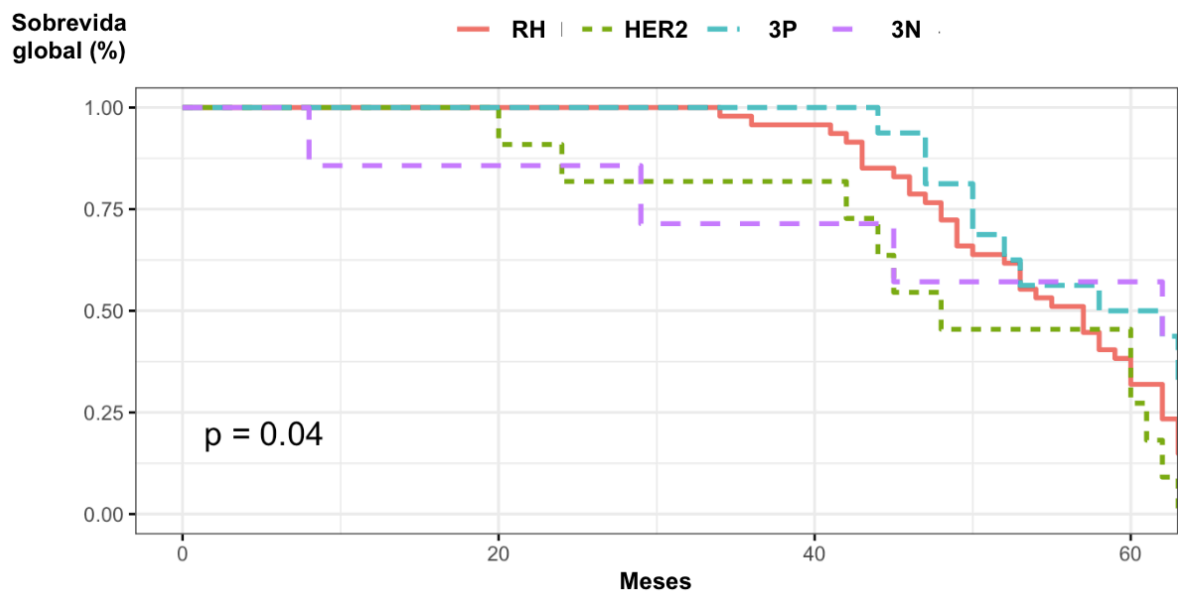
La sobrevida global relacionada a LITs CD8+, donde se tomo como mediana 40% de infiltración por LITs, en un seguimiento a 60 meses, en el grupo 1 (0.008-40% infiltración por LITs, IC 95%) de 69 pacientes al inicio del seguimiento, sobrevivieron 29 pacientes al termino de éste (42.02%,  $p=1$ ); mientras que en el grupo 2 (40.01-80.1% infiltración por LITs, IC 95%) de 16 pacientes al inicio, sobrevivieron 8 al término del seguimiento (50%,  $p=1$ ).

Figura 1. Sobrevida global según el porcentaje de LITs CD8+.



En cuanto a la sobrevida global relacionada al sub-tipo molecular, la mortalidad temprana (<12 meses) fue mayor en el sub-tipo triple negativo, seguido del HER2+; sin embargo en el seguimiento a 60 meses, el sub-tipo con mayor sobrevida fue el triple negativo (57%,  $p=0.04$ ), seguido del triple positivo (50%,  $p=0.04$ ), HER2+ (45%,  $p=0.04$ ), y por último el receptores hormonales positivos (38.29%,  $p=0.04$ ).

Figura 2. Sobrevida global según el sub-tipo molecular.



RH= receptores hormonales positivos.

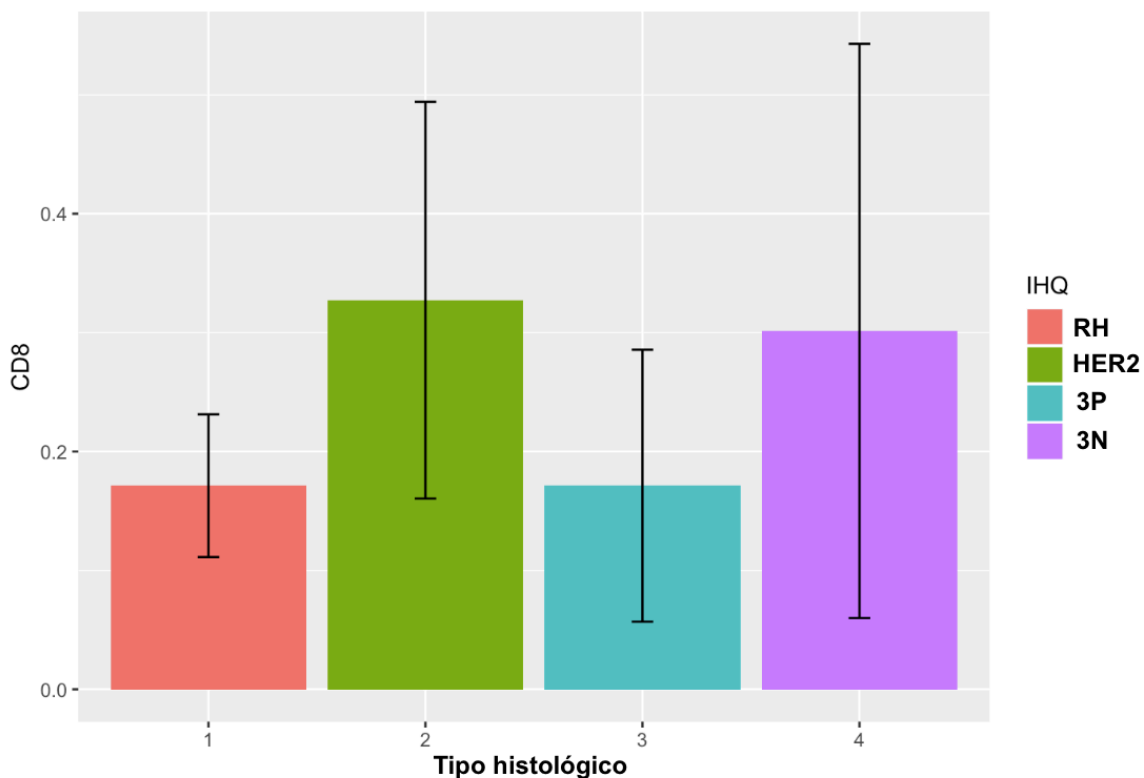
HER2= HER2 positivo.

3P= triple positivo.

3N= triple negativo.

El sub-tipo molecular con mayor grado de infiltración por LITs CD8+ fue el HER2+ con 32% (18-50%, IC 95%), seguido del triple negativo con 30% (6-54%, IC 95%), triple positivo con 18% (6-28%, IC 95%) y receptores hormonales positivo con 18% (12-24%, IC 95%).

Figura 3. Porcentaje de LITs CD8+ en sub-tipos moleculares.



RH= receptores hormonales positivos.

HER2= HER2 positivo.

3P= triple positivo.

3N= triple negativo.

La recurrencia de la enfermedad se documentó en el 11.76% (10 pacientes) de las pacientes que se incluyeron en el estudio, de las cuales 40% ya han fallecido. Entre este grupo de recaída, el porcentaje de infiltración por LITs CD8+ medio fue de 25% (10-40%, IC 95%,  $p=0.148$ ) vs 10% (0.01-35%, IC 95%,  $p=0.148$ ) de las pacientes sin recaída; la media de período libre de enfermedad fue de 18 meses (14-36.75 meses, IC 95%,  $p<0.001$ ) vs 52 meses (43-59.5 meses, IC 95%,  $p<0.001$ ) respectivamente. Las etapas clínicas que predominaron en estas pacientes fueron IIIA (40%) y IIB (30%); carcinoma lobulillar invasor representó el 60%, y el sub-tipo molecular más frecuente fue el triple positivo (40%,  $p=0.04$ ), seguido del triple negativo (30%,  $p=0.04$ ) y HER2+ (20%,  $p=0.04$ ). Ganglios axilares positivos se encontraron en el 60% de estas pacientes.

Tabla 3. Diferencias entre pacientes libres de enfermedad vs recurrencia.

<b>CARACTERÍSTICAS ENTRE EL GRUPO LIBRE DE ENFERMEDAD (A) VS RECURRENCIA (B)</b>			
	A	B	p
n	75	10	
Edad media (DE)	57.76 (13.36)	52 (10.35)	0.194
Con vida (%)	75 (100)	6 (60)	<0.001
Etapa clínica (%)			0.128
I	7 (9.3)	1 (10)	
IIA	27 (36)	0 (0)	
IIB	16 (21.3)	3 (30)	
IIIA	13 (17.3)	4 (40)	
IIIB	8 (10.7)	0 (0)	
IIIC	2 (2.7)	1 (10)	
IV	2 (2.7)	1 (10)	
Tipo histológico (%)			0.589
Ductal invasor	43 (57.3)	6 (60)	
Lobulillar invasor	25 (33.3)	4 (40)	
Otro	7 (9.3)	0 (0)	
Sub-tipo molecular (%)			0.004
Receptores hormonales	46 (64.8)	1 (10)	
HER2+	9 (12.7)	2 (20)	
Triple positivo	12 (16.9)	4 (40)	
Triple negativo	4 (5.6)	3 (30)	
Ganglios axilares positivos (%)	42 (56.8)	6 (60)	0.846
Quimioterapia neo-adyuvante (%)	22 (29.3)	6 (60)	0.053
Meses con vida media (RIC)	58 (48.5-63)	43 (30.25-54.75)	0.026
Meses libre de enfermedad media (RIC)	52 (43-59.5)	18 (14-36.75)	<0.001

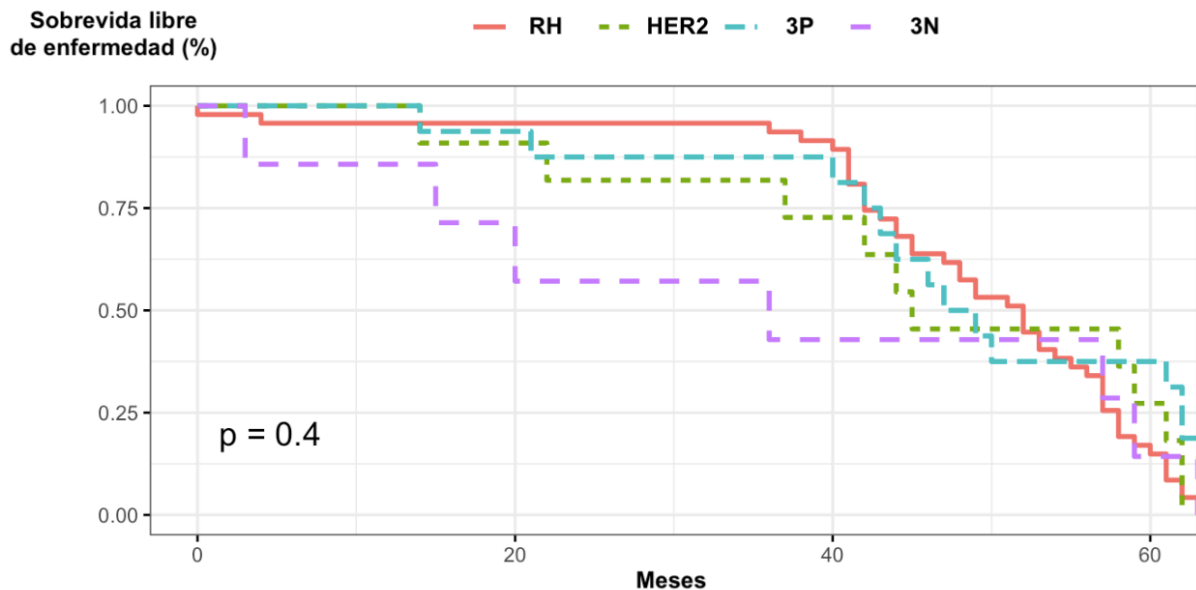
LITs CD8+ media (RIC)	10% (1-35%)	25% (10-40%)	0.148
Co-morbilidad (%)	36 (48)	6 (60)	0.476

DE= desviación estándar.

RIC= rango intercuartil.

En un seguimiento a 60 meses, la sobrevida libre de enfermedad fue mayor para las pacientes con el sub-tipo molecular triple positivo, con 37.5% (p=0.4), seguido del HER2+ con 27.27%, receptores hormonales positivos 17.02%, y triple negativo 14.28% (p=0.4).

Figura 4. Sobrevida libre de enfermedad según sub-tipo molecular.



RH= receptores hormonales positivos.

HER2= HER2 positivo.

3P= triple positivo.

3N= triple negativo.

## 9. DISCUSIÓN.

No fue posible completar el número mínimo necesario de pacientes (muestras de tejido neoplásico) para tener una muestra representativa con suficiente validez interna, sin embargo con el número de pacientes recolectados, aunque no es posible generalizar a la población mexicana, encontramos que en este grupo de pacientes la edad media de diagnóstico fue por arriba de los 50 años, como se reporta en la literatura mundial, así como lo esperado para la población mexicana; la mortalidad fue baja al encontrar que >95% de la población total (n=85) se encuentra con vida al término del seguimiento (Octubre 2018), resultado que de igual manera correlaciona con las tendencias mundiales actuales, a pesar de que >70% de éstas pacientes se encontraba con un tumor >2 cm y/ó con ganglios axilares positivos para metástasis; este resultado podría explicarse en parte a las terapias anti-cáncer con las que contamos hoy en día, y a las cuales tienen acceso las pacientes que acuden al servicio de Oncología del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto.” El tipo histológico ductal invasor representó 57.6% de éstas pacientes, lo cual contrasta con lo reportado en la literatura mundial así como para la población mexicana, donde el carcinoma ductal (canalicular) invasor representa >80%, seguido del carcinoma lobulillar invasor en un 10% aproximadamente, mientras que en éste grupo correspondió al 34.1% en la población en estudio. En cuanto al estado de expresión de receptores hormonales así como de HER2-neu, se mantuvo en concordancia con lo reportado a nivel mundial y para la población mexicana, con el 58% de éstas pacientes positivo para la expresión de receptores hormonales; no así en el caso de la sobre-expresión de HER2-neu, que solo se presentó en el 13.6% de las pacientes, a diferencia de lo esperado (20-30%). De igual manera encontramos una incidencia más baja en nuestro grupo para el sub-tipo triple negativo (<10%) comparado con lo esperado a nivel mundial y para México (10-20%).<sup>22, 23, 24, 25</sup> Solamente el 32.9% de éstas pacientes recibió quimioterapia neo-adyuvante, que igualmente contrasta con lo reportado a nivel internacional, donde >50% de las pacientes tienen ésta intervención.



El porcentaje medio de infiltración por linfocitos T citotóxicos CD8+ en el estroma tumoral fue del 20%. Al momento de dividir a las pacientes por sub-tipo molecular, el sub-tipo HER2+ tuvo el mayor porcentaje de infiltración con una media del 32% de LITs CD8+, seguido del triple negativo con una media del 30% de LITs CD8+, hallazgos que correlacionan con lo reportado en la literatura internacional, donde los sub-tipos con mayor grado de LITs son el triple negativo en primer lugar, seguido del HER2+, con porcentajes de entre 20 a 50%.<sup>5, 6, 9, 10, 13, 14, 19</sup> En cuanto los sub-tipos triple positivo y receptores hormonales positivos, se mantuvieron con una media de infiltración por LITs CD8+ <20%, que igualmente correlaciona con lo reportado por otros autores a nivel internacional, y que correlaciona con las neoplasias mejor diferenciadas y por ende menos inmunogénicas.<sup>5, 6</sup> La sobrevida global relacionada a LITs CD8+ en este grupo de pacientes (n=85) correlacionó con lo reportado por otros autores, ya que con un porcentaje de infiltración >40%, la sobrevida global fue mayor en un seguimiento a 60 meses (50%, p=1), a comparación de aquellas pacientes con <40% de LITs CD8+ (42%, p=1); sin embargo con una p no significativa.<sup>5, 9, 10, 13, 14, 19, 20</sup> En cuanto a la sobrevida global por sub-tipo molecular, en el seguimiento a 60 meses, en contraste con lo que reporta la literatura mundial así como lo esperado para la población mexicana, en éste grupo de pacientes el sub-tipo triple negativo fue el que mayor sobrevida global presentó (57%, p=0.04), seguidos del triple positivo (50%, p=0.04) y HER2+ (45%, p=0.04); estos dos últimos representando la mayor sobrevida global y con mejor pronóstico a nivel mundial.<sup>25, 26,</sup>  
<sup>27</sup> El subtipo triple negativo fue el segundo sub-tipo en este grupo de pacientes con mayor porcentaje de infiltración por LITs CD8+, con una media de infiltración por encima del 20%, mínimo necesario para conferir un mejor pronóstico según lo reportado por algunos autores, independientemente del estado ganglionar y estado TNM.<sup>20</sup> En cuanto al sub-tipo HER2+, a pesar de su mayor grado de infiltración por LITs CD8+ en éste grupo de pacientes, se ubicó como el tercer sub-tipo con mejor pronóstico en cuanto a sobrevida global.

Del 5.89% de las pacientes que fallecieron en este grupo (n=85), 80% se encontraba en un estadio localmente avanzado y 20% en un estadio metastásico; 60% tenía histología para carcinoma lobulillar invasor, 60% presentaba ganglios axilares positivos al momento del diagnóstico, 40% clasificó como triple negativo y 40% más como HER2+; con un porcentaje de infiltración por LITs CD8+ medio del 40%. Todos estos factores pronóstico mencionados para estas 5 pacientes fallecidas correlacionan para un peor pronóstico, a pesar de tener un porcentaje de LITs CD8+ medio del 40%, sin embargo con una p no significativa, por lo que no podemos inferir que los LITs no son un factor pronóstico desfavorable en este grupo de pacientes.<sup>25, 26, 27</sup>

En cuanto a recurrencia de la enfermedad, solo se presentó en 10 pacientes del grupo en estudio (11.8%) en el seguimiento a 60 meses, de las cuales 40% ya había fallecido al inicio del estudio. El tipo histológico con mayor recurrencia fue el carcinoma ductal invasor (60%, p=0.589), y los sub-tipos moleculares más frecuentes fueron triple positivo (40%, p=0.04) y triple negativo (30%, p=0.04); datos que contrastan con lo reportado a nivel mundial (a excepción de éste último), donde el carcinoma lobulillar invasor, así como los sub-tipos triple negativo y HER2+ presentan los pronósticos más desfavorables para recurrencia de la enfermedad. El 60% de éstas pacientes que presentaron recurrencia, tenían ganglios axilares positivos al momento del diagnóstico (p=0.846), que aunque con una p no significativa, correlaciona con lo reportado en la literatura internacional.<sup>25, 26, 27</sup> El porcentaje de infiltración medio por LITs CD8+ en éstas pacientes fue del 25% (p=0.148) vs 10% de las pacientes libres de enfermedad al termino del estudio (p=0.148), resultado que no correlaciona con lo reportado por otros autores, quienes mencionan que entre mayor sea el grado de infiltración por LITs, mayor el período y sobrevivida libre de enfermedad; sin embargo nuevamente nos encontramos con una p no significativa, debido a la muestra tan pequeña y poco representativa, por lo que no podemos inferir que los LITs CD8+ no son un factor de buen pronóstico en este

grupo de pacientes, o peor aún, que representa un factor de mal pronóstico.<sup>5, 9, 10, 13, 14, 19, 20</sup>

Con lo que respecta a la sobrevida libre de enfermedad por sub-tipo molecular a 60 meses, ésta fue mayor en las pacientes con sub-tipo triple positivo (37.5%,  $p=0.4$ ), seguido del HER2+ (27.27%,  $p=0.4$ ). Los sub-tipos con menor sobrevida libre de enfermedad fueron el receptores hormonales positivos (17.02%,  $p=0.4$ ) y triple negativo (14.28%,  $p=0.4$ ), datos que contrastan y correlacionan con lo reportado a en la literatura internacional, ya que los sub-tipos luminales (expresión de receptores hormonales positiva) sin sobre-expresión de HER2-neu presentan los mejores pronósticos así como sobrevida libre de enfermedad, datos que no se confirman en ésta población de estudio, sin embargo tenemos una  $p$  no significativa como para aseverar que en nuestra población este sub-tipo (expresión de receptores hormonales positiva) no es el de mejor pronóstico y con mayor sobrevida libre de enfermedad. En cuanto al sub-tipo triple negativo, si correlaciona con los reportado en la literatura mundial, ya que éste junto con el sub-tipo HER2+ representan los sub-tipos de peor pronóstico (aunque éste último a la vez es un factor predictivo favorable), y con menor período libre de enfermedad así como menor sobrevida libre de enfermedad, pero con una  $p$  no significativa.<sup>25, 26, 27</sup>

## **10. LIMITACIONES.**

La naturaleza misma del estudio siendo una cohorte retrospectiva, así como el número pequeño de la muestra, nos hace prácticamente imposible obtener resultados estadísticamente significativos, que puedan dar una apropiada validez interna y por ende poder generalizarlos a nuestra población.

El no haber contado con las muestras de tejido neoplásico de las 260 pacientes que cumplían criterios de inclusión fue una gran limitante, así como el corto tiempo con el que se desarrolló el estudio (Abril 2018 – Octubre 2018).

Contar con anticuerpos anti-CD4, así como tener la capacidad de sub-clasificarlos en Th1 vs Th2; y de la misma forma anti-CD17, podría permitirnos valorar más a fondo el micro-ambiente tumoral de las muestras de las éstas pacientes, y así poder determinar con mayor precisión si nos encontramos ante un escenario pro-tumoral vs anti- tumoral, con el subsecuente pronóstico, aunado al porcentaje del infiltración por LITs CD8+.

## 11. CONCLUSIONES.

Con los resultados obtenidos en este estudio, podemos concluir que los linfocitos T citotóxicos CD8+ infiltrantes del tumor juegan un papel importante en el pronóstico de las pacientes con cáncer de mama invasor, porque como hemos visto, a pesar de la presencia de factores de mal pronóstico como lo son la ausencia de expresión de receptores hormonales así como de sobre-expresión de HER2-neu (factor predictivo positivo), aquellas pacientes con un porcentaje considerado de infiltración por LITs CD8+ (>40%), tuvieron una mayor sobrevida global, aunque con resultados estadísticamente no significativos.

Igualmente hubo una correlación estadísticamente no significativa en el caso de sub-tipos mejor diferenciados, como aquellos con expresión de receptores hormonales, donde el porcentaje de infiltración por LITs CD8+ fue menor (<20%); además de una sobrevida global menor a la esperada, pero que hace relación con un menor porcentaje de LITs CD8+.

Justo como se reporta en la literatura, los sub-tipos menos diferenciados son los que presentan mayor grado de infiltración por LITs CD8+, probablemente asociado a su mayor potencial de inmunogenicidad, así como menor capacidad para inhibir la respuesta inmune anti-tumoral, lo que se traduce en un sistema inmune en mejor estado, y por lo tanto con mejor pronóstico como han concluido otros autores, además de abrir la posibilidad a estos sub-tipos de pacientes a terapias inmunes dirigidas a puntos de control, y tomarlo como un nuevo factor predictivo positivo.

No hubo relación favorable entre el porcentaje de LITs CD8+ y la sobrevida libre de enfermedad como se reporta en la literatura internacional, por el contrario, aquellos

pacientes con mayor grado de infiltración (>25%) presentaron menor período libre de enfermedad, así como de sobrevida libre de enfermedad; datos estadísticamente no significativos.

Es necesario realizar un estudio con mayor número de pacientes para poder extrapolar los resultados a nuestra población, y de ser posible llevarlo de forma prospectiva, para así garantizar muestra de tejido neoplásico suficiente y adecuada para la realización de la inmunohistoquímica y/o alguna otra técnica avanzada de identificación de LITs; con seguimiento mínimo a 60 meses, además de contemplar la posibilidad de medir además LITs CD4+ Th1 y Th2, para complementar a los LITs CD8+ que claramente juegan un papel fundamental en la sobrevida de las pacientes con cáncer de mama invasor, independientemente de otros factores pronósticos claramente ya establecidos.

## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- 1.- Sasada T, Suekane S. Variation of tumor-infiltrating lymphocytes in human cancers: controversy on clinical significance. *Immunotherapy*. 2011;3(10):1235-51.
- 2.- Rahir G, Moser M. Tumor microenvironment and lymphocyte infiltration. *Cancer Immunol Immunother*. 2012;61(6):751-9.
- 3.- Wong SB, Bos R, Sherman LA. Tumor-specific CD4+ T cells render the tumor environment permissive for infiltration by low-avidity CD8+ T cells. *J Immunol*. 2008;80(5):3122-31.
- 4.- Yu P, Fu YX. Tumor-infiltrating T lymphocytes: friends or foes? *Lab Invest*. 2006;86(3):231-45.
- 5.- Solinas C, Carbognin L, De Silva P, Criscitiello C, Lambertini M. Tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer according to tumor subtype: Current state of the art. *Breast*. 2017;35:142-50.
- 6.- de Melo Gagliato D, Cortes J, Curigliano G, Loi S, Denkert C, Perez-Garcia J, Holgado E. Tumor-infiltrating lymphocytes in Breast Cancer and implications of clinical practice. *Biochim Biophys Acta*. 2017;1868(2):527-37.
- 7.- Ravelli A, Roviello G, Cretella D, Cavazzoni A, Biondi A, Cappelletti MR, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and breast cancer: Beyond the prognostic and predictive utility. *Tumour Biol*. 2017;39(4):1010428317695023.
- 8.- Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo 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(7):860-7.

- 9.- Criscitiello C, Eposito A, Trapani D, Curigliano G. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in early breast cancer. *Cancer Treat Rev.* 2016;50:205-7.
- 10.- Denkert C, von Minckwitz G, Brase JC, Sinn BV, Gade S, Kronewett R, 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. *J Clin Oncol.* 2015;33(9):983-91.
- 11.- Loi S, Michiels S, Salgado R, Sirtaine N, Jose V, Fumagalli D, Kellokumpu-Lehtinen PL, Bono P, 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(8):1544-50.
- 12.- Yu X, Zhang Z, Wang Z, Wu P, Qiu F, Huang J. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Transl Oncol.* 2016;18(5):497-506.
- 13.- Dushyant S, Beavis PA, Savas P, Teo ZL, Zhou C, Mansour M, et al. Relevance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer. *BMC Med.* 2015;13:202.
- 14.- Mao Y, Qu Q, Chen X, Huang O, Wu J, Shen K. The Prognostic Value of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2016;11(4):e0152500.
- 15.- Melichar B, Studentova H, Kalábová H, Vitásková D, Cermáková P, Hornychová H, et al. Predictive and prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with breast cancer treated with neoadjuvant systemic therapy. *Anticancer Res.* 2014;34(3):1115-25.
- 16.- Wang K, Shen T, Siegal GP, Wei S. The CD4/CD8 ratio of tumor-infiltrating lymphocytes at the tumor-host interface has prognostic value in triple-negative breast cancer. *Hum Pathol.* 2017;69:110-7.



- 17.- Krishnamuti U, Wetherilt CS, Yang J, Peng L, Li X. Tumor-infiltrating lymphocytes are significantly associated with better overall survival and disease-free survival in triple-negative but not estrogen-receptor positive breast cancers. *Hum Pathol.* 2017;64:7-12.
- 18.- Pruneri G, Vingiani A, Bagnardi V, Rotmensz N, De Rose A, Palazzo A, et al. Clinical validity of tumor-infiltrating lymphocytes analysis in patients with triple-negative breast cancer. *Ann Oncol.* 2016;27(2):249-56.
- 19.- 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 HER-2 Positive Early-Stage Breast Cancer Treated With Lapatinib and Trastuzumab: A Secondary Analysis of the NeoALTTO Trial. *JAMA Oncol.* 2015;1(4):448-54.
- 20.- Ibrahim EM, Al-Foheidi ME, Al-Manosour MM, Kazkaz GA. The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;148(3):467-76.
- 21.- 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.
- 22.- Globocan 2012. Fast Stats. Most frequent cancers: both sexes.
- 23.- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statics, 2018. *CA Cancer J Clin.* 2018;66:7.
- 24.- World Health Organization (WHO). Breast cancer: prevention and control.
- 25.- Mohar A, Reynoso N, Villereal-Garza C, Bargalló-Rocha JE, Arce-Salinas C, Lara-Medina F. Cáncer de mama en el Instituto Nacional de Cancerología. Experiencia del Seguro Popular 2007-2013. *Rev Mex Mastol.* 2015;5(1):6-11.

26.- Hayes DF, Trock B, Harris AL. Assessing the clinical impact of prognostic factors: when is “statistically significant” clinically useful? *Breast Cancer Res Treat.* 1998;52:305.

27.- van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med.* 2002;347:1999.

## 13. ANEXO.



HOSPITAL CENTRAL  
"DR. IGNACIO  
MORONES PRIETO"

San Luis Potosí, S.L.P., a 16 de abril de 2018

**Dr. Jaime Alberto López De Lara Montalvo**  
Departamento de Medicina Interna  
Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"  
Investigador Principal  
PRESENTE.

Estimado Investigador:

Por este conducto se le comunica que el protocolo de investigación titulado "Linfocitos T citotóxicos (CD8+) infiltrantes del tumor como factor pronóstico en cáncer de mama", fue evaluado por el Comité de Ética en Investigación de esta Institución, con registro CONBIOETICA-24-CEI-001-20160427. El dictamen para este protocolo fue el siguiente:

**APROBADO**

El Comité de Ética en Investigación autoriza la vigencia de ejecución de este protocolo por 365 días naturales a partir de la fecha de emisión de este oficio de dictamen.

El investigador principal deberá comunicar a este Comité la fecha de inicio y término del proyecto, y presentar el informe final correspondiente. Asimismo, el Comité de Ética e Investigación podrá solicitar información al investigador principal referente al avance del protocolo en el momento que considere pertinente.

Atentamente,

*Sjk - gub*  
**Dr. Josué Sidonio Rodríguez Cuevas**  
Presidente del Comité de Ética en Investigación  
Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"



c.c.p. Archivo, Subdirección de Educación e Investigación, Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"

Av. Venustiano Carranza No. 2395  
Zona Universitaria  
San Luis Potosí, S.L.P. C.P. 78290  
Tel. 01 (444) 198-10-00  
www.hospitalcentral.gob.mx