

EVALUACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PD-L1 E INFILTRACIÓN LINFOCITARIA INTRATUMORAL EN CARCINOMA DE MAMA INVASIVO TRIPLE NEGATIVO

RINA BARRIOS BARRETO¹, CARLOS SILVERA REDONDO¹, MARÍA DEL PILAR GARAVITO¹,
LAURA ARDILA PEREIRA²

¹División Ciencias De La Salud, Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia,

²Facultad De Ciencias De La Salud y El Deporte, Fundación Universitaria del Área Andina, Bogotá, Colombia

Dirección postal: Rina Barrios Barreto, Fundación Universidad Del Norte, Área Metropolitana de Barranquilla, Kilómetro 5 Vía, Puerto Colombia, Atlántico, Colombia

E-mail: brina@uninorte.edu.co

Recibido: 27-VII-2023

Aceptado: 10-X-2023

Resumen

Introducción: El endofenotipo de cáncer de mama triple negativo (TNBC) es uno de los menos frecuentes y sin diana terapéutica, por tanto, se plantea estudiar la correlación del punto de control inmunológico PD-L1 con el establecimiento de microambiente tumoral evaluado por la infiltración linfocitaria intratumoral estromal (TILs) y su importancia en la práctica clínica.

Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de casos y controles, con 31 casos de carcinoma infiltrante de la mama triple negativo y 57 controles no pareados de endofenotipo Luminal A, Luminal B y HER-2 atendidos en un año. Se evaluaron las variables: tipo y grado histológico, expresión PD-L1 con el clon 22C3, TILs, invasión linfovascular, tamaño tumoral, compromiso de ganglios linfáticos y metástasis. El análisis estadístico se ejecutó con la prueba de chi cuadrado y prueba de coeficiente de correlación de Spearman.

Resultados: Se encontró una correlación negativa estadísticamente significativa entre TILs y PD-L1 ($\rho = -0.106$, $p = 0.025$), indicando que a mayor expresión de PD-L1, es menor la infiltración linfocitaria intratumoral. En los grupos de TILs B (10-40% TILs) y C (40-90% TILs) donde se presenta marcado infiltrado inflamatorio intratumoral se evidenció mayor número de pacientes negativos para PD-L1 (CPS <10) con 16 y 10 casos respectivamente. Para los casos TNBC se logró identificar un coeficiente de asociación negativa ($\rho = -0.378$) y con significancia estadística ($p = 0.01$).

Discusión: Se estableció la asociación de TNBC, TILs y expresión de PDL1, lo cual es importante para la instauración de terapias diana y el desarrollo de la medicina de precisión.

Palabras clave: cáncer de mama triple negativo, PD-L1, infiltración linfocitaria intratumoral

Abstract

Evaluation of PD-L1 expression and intratumoral lymphocytic infiltration in triple-negative invasive breast carcinoma

Introduction: Triple negative breast cancer endophenotype (TNBC) is one of the least frequent and without therapeutic target; therefore we propose to study the correlation of PD-L1 immune checkpoint with the establishment of tumor microenvironment assessed by intratumoral stromal lymphocyte infiltration (TILs) and its importance in clinical practice.

Methods: A retrospective case-control study was performed, with 31 cases of triple-negative infiltrating breast carcinoma and 57 unmatched controls of Luminal A, Luminal B and HER-2 endophenotype seen in one year. The following variables were evaluated: histologic type and grade, PD-L1 expression with clone 22C3, TILs, lymphovascular invasion, tumor size, lymph node involvement and metastasis. Statistical analysis

was performed with the chi-square test and Spearman correlation coefficient test.

Results: a statistically significant negative correlation was found between TILs and PD-L1 ($\rho = -0.106$, $p = 0.025$), indicating that the higher the expression of PD-L1, the lower the intratumoral lymphocytic infiltration. In the TILs B (10-40% TILs) and C (40-90% TILs) groups where there was a marked intratumoral inflammatory infiltrate, a greater number of patients were negative for PD-L1 (CPS <10) with 16 and 10 cases, respectively. For TNBC cases a negative association coefficient was identified ($\rho = -0.378$) with statistical significance ($p = 0.01$).

Discussion: The association between TNBC, TILs and PDL1 expression was established, which is important for the establishment of target therapies and the development of precision medicine.

Key words: triple negative breast neoplasms, PD-L1, lymphocytes, tumor-infiltrating

PUNTOS CLAVE

- No hay suficiente evidencia científica de la respuesta inmuno-oncológica del cáncer de mama triple negativo y la comprensión del microambiente tumoral en poblaciones latinoamericanas.
- En el estudio analizamos en una población del caribe colombiano la expresión de puntos de control inmunológico PD-L1 e infiltración linfocitaria intratumoral estromal en cáncer de mama de endofenotipo triple negativo de forma comparativa con los grupos luminales A, B y HER-2, así como otras características histopatológicas y clínicas con el fin de aproximarnos en la comprensión del comportamiento biológico de esta enfermedad.

El cáncer de mama es la neoplasia maligna más común a nivel mundial, con 2.3 millones de casos nuevos, alcanzado una incidencia de 11.7% y ocupando el quinto lugar en mortalidad por cáncer para el año 2020, con un incremento progresivo en países de América del Sur¹. Aunque se conocen mecanismos asociados a la progresión tumoral con el advenimiento de la inmuno-oncología se consideraron relevantes otras características como el microambiente tumoral, en particular la infiltración por linfocitos

intratumorales^{2,3}, para evaluar la respuesta fisiopatológica del huésped ante la célula tumoral, lo que ha contribuido al desarrollo de la inmunoterapia^{3,4}. A pesar de que el cáncer de mama no es considerado un tipo de tumor con alta inmunogenicidad⁴, los productos alterados de la proteína originados por las mutaciones genéticas en las células cancerosas pueden funcionar como neoantígenos y estimular la respuesta inmune adaptativa^{5,6}. En las últimas décadas, se ha demostrado la asociación entre los linfocitos infiltrantes de tumores (TIL) y la alta expresión de ligando de muerte celular programada (PD-L1) en multiplicidad de cánceres⁷, constituyéndose en una prometedora opción terapéutica en neoplasias como el cáncer de mama, principalmente en los grupos etarios de jóvenes y carcinomas infiltrantes triple negativo (TNBC)⁸⁻¹⁰. En ese sentido, las proteínas como el PD-1 y su ligando PD-L1 han alcanzado importancia biológica, debido a la ubicación de PD-1 en la membrana celular en los linfocitos T y de PD-L1 de forma constitutiva transmembrana en células presentadoras de antígenos (APCs), en linfocitos en reposo, células endoteliales, entre otras y de manera inducida en células tumorales de ovario, mama, riñón, melanomas, colorrectales, pulmonares y pancreáticas¹¹⁻¹³, estableciendo microambientes tumorales inmunosupresores que inducen a la tolerancia inmunológica y limitan la respuesta a las neoplasias o infecciones mediante interacciones con los demás miembros de la familia de receptores de la familia CD28 en los linfocitos T y B al cual pertenece a través de señales coinhibitorias y coestimuladoras^{9,11}.

A continuación, presentamos un estudio de casos y controles realizados en 88 muestras de cáncer de mama infiltrante, donde se evaluó el microambiente tumoral a través de la cuantificación de linfocitos intratumorales y la expresión de PD-L1 en el cáncer de mama de endofenotipo triple negativo (TNBC).

Materiales y métodos

Grupo de estudio: Se realizó un estudio retrospectivo de casos y controles en el departamento de patología de una institución prestadora de servicios de salud en el caribe colombiano durante un año de atención (diciembre 2021- diciembre 2022), identificando los casos reportados como carcinoma infiltrante de la mama, a los cuales se

realizó el perfil inmunofenotípico evaluando la expresión de receptor de estrógeno (RE), receptor de progesterona (RP), el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER-2) y KI-67 para categorizar en grupos moleculares Luminal A, Luminal B, HER-2, TNBC. Se seleccionó el tamaño de la muestra con 31 casos de carcinoma infiltrante de la mama triple negativo teniendo en cuenta el porcentaje de positividad de TNBC informados en Colombia, que oscila entre 13 y 20%, y se tomaron como controles no pareados 57 casos categorizados en los endofenotipos moleculares Luminal A, B y HER-2 positivo, calculados según Fleiss con corrección de continuidad a partir de un nivel de confianza del 99%, una potencia (% de probabilidad de detección) de 95, una razón de controles por caso 1, una proporción hipotética de controles con exposición de 87% y una proporción hipotética de casos con exposición de 13 y 20%. Se incluyó en el estudio los carcinomas de mama infiltrantes y se analizaron las siguientes variables: el tipo histológico, grado histológico, infiltración linfocitaria intratumoral, expresión de PD-L1, invasión linfovascular, tamaño tumoral, compromiso de ganglios linfáticos y metástasis a otros órganos.

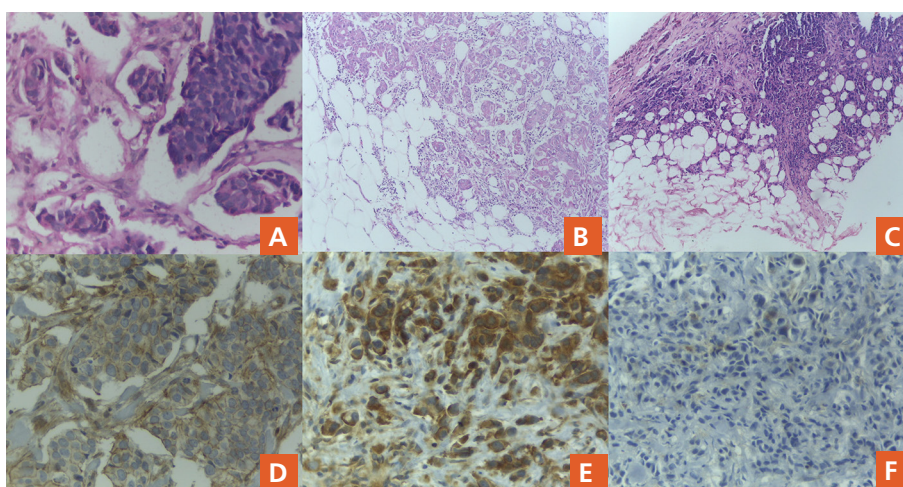
Cuantificación de linfocitos intratumorales estromales (TILs): Se realizó el análisis histopatológico en tejido mamario tumoral embebido en parafina según las recomendaciones del Grupo de Trabajo Internacional para TIL en cáncer de mama. Se realizaron cortes histológicos con tinción de hematoxilina y eosina, evaluando en el área del estroma tumoral el porcentaje de infiltrado

inflamatorio mononuclear y excluyendo los leucocitos polimorfonucleares, los TIL fuera del borde tumoral, detritus celular, necrosis, puntos calientes y zonas tumorales con artificios por aplastamiento. Teniendo en cuenta el porcentaje de infiltración se realizó la clasificación por grupos: A mínimo o ausente infiltrado inflamatorio (0-10% TILs estromal), B infiltrado inflamatorio intermedio (10-40% TILs estromal), C infiltrado inflamatorio elevado (40-90% TILs estromal)^{14,15}.

Evaluación de la expresión de PD-L1: Se realizó la estimación de la expresión por inmunohistoquímica de PD-L1 con el clon 22C3 (DAKO PharmaDx). Para la evaluación de la inmunomarcación se empleó el Puntaje Positivo Combinado (*Combined Positive Score, CPS*), la cual incluye las células tumorales, linfocitos, macrófagos/histiocitos, dividido por el número total de células tumorales viables, multiplicado por 100, teniendo en cuenta el punto de corte positivo ≥ 10 para TNBC (Fig. 1). Se tomó como control el epitelio de superficie de las amígdalas.

Análisis estadístico: Para el análisis se empleó el paquete estadístico SPSS en V.27.0. Se realizaron dos estadísticos, en primera instancia la prueba de independencia de chi cuadrado tomando como nivel de significancia <0.05 en todos los casos. Posteriormente, se ejecutó la prueba de coeficiente de correlación de Spearman para variables no paramétricas, tomando como hipótesis nula ($\rho = 0$) y alternativa ($\rho \neq 0$), por tanto, si se rechazaba la hipótesis nula las variables estarían correlacionadas. El rango de interpretación de coeficiente de Spearman varía desde

Figura 1 | A: H&E 400x TILs Grupo A. B: H&E 200x TILs Grupo B. C: H&E 200x TILs Grupo C. D: 200x PD-L1 positivo CPS >10 con patrón de membrana celular en linfocitos y células tumorales. E: 200x PD-L1 positivo CPS >10 con patrón de citoplasmático en linfocitos y células tumorales. F: 200x PD-L1 negativo CPS <10 en linfocitos y células tumorales



-1 correspondiente a correlación negativa alta y perfecta, 0 correlación nula, hasta +1 correlación positiva alta y perfecta¹⁶.

El presente estudio fue aprobado por el comité de ética en investigación de la División Ciencias de la Salud de la Universidad del Norte, Acta de Evaluación N° 188 del 23 de mayo de 2019 en Barranquilla-Colombia. Todos los pacientes participantes en el estudio firmaron consentimiento informado para autorizar la participación en la investigación.

Resultados

En el estudio se evaluaron la expresión de PD-L1, TILs, invasión linfovascular, grado histológico, tipo histológico, grupo molecular y estadio tumoral. Los resultados de esta investigación se muestran en las Tablas 1, 2 y 3.

Expresión de PD-L1 y características clínicas e histopatológicas: En la población estudiada, incluyendo todos los subtipos moleculares, se observó positividad en 22 casos (25%) para PD-L1 tomando como punto de corte CPS mayor de 10, encontrando un coeficiente de correlación de Spearman (ρ) muy bajo en el grupo de casos TNBC y en el grupo control conteniendo los inmunofenotipos luminal A, luminal B y HER-2. Con respecto a TILs y PD-L1, se identificó una correlación negativa estadísticamente significativa, lo cual indica que a mayor expresión de PD-L1, es menor la infiltración linfocitaria intratumoral. En relación con la evaluación de los valores obtenidos en la cuantificación de TILs, en los grupos B y C donde se presenta marcado infiltrado inflamatorio intratumoral se evidenció mayor número de pacientes negativos para PD-L1 (CPS <10).

En cuanto a la presencia de invasión linfovascular, en la mayoría de los tejidos tumorales evaluados fue negativa y en estos casos predominantemente no hubo reactividad para PD-L1, sin embargo, no se demostró un nivel de correlación relevante entre estas variables.

Analizando el tipo y grado histológico se encontraron 4 variantes morfológicas, siendo el más frecuente el tipo ductal infiltrante seguido de lobulillar infiltrante, mucinoso y de forma inusual 1 caso de carcinoma papilar encapsulado con componente invasivo. El grado histológico equivalente (Clasificación Richardson-Bloom en carcinomas ductales infiltrantes y grado nuclear

para los demás tipos histológicos) que predominó fue el grado II. En la evaluación estadística no se encontró un coeficiente de correlación estadísticamente significativo con la expresión de PD-L1.

Con respecto al estadio tumoral se definió con la clasificación TNM Versión 8, la cual incluye el tamaño tumoral (T), número de ganglios comprometidos (N) y metástasis (M). La mayoría de las pacientes se categorizó en estadio IA seguido de IIB y IIA, sin establecer una correlación entre estos y la reactividad para PD-L1.

La edad media de las pacientes ingresadas al estudio fue de 55 años. No se registró asociación entre la edad y PD-L1 en las células tumorales en los distintos grupos moleculares.

Infiltración de linfocitos intratumorales (TILs), expresión de PD-L1 y TNBC: Evaluando la correlación de los 31 casos TNBC y los TILs, se identificó que la mayor población de pacientes presentaba niveles intermedios a elevados de linfocitos intratumorales (grupos B y C), los cuales se asociaron principalmente con ausencia de expresión de PD-L1 (CPS < 10). Estadísticamente se estableció un coeficiente de asociación negativa (ρ -0.378) con alto nivel de significancia (p 0.01).

Discusión

En las últimas dos décadas la investigación científica con relación al cáncer de mama permitió la identificación de perfiles moleculares basados en la expresión de RE, RP, HER-2 y el índice de proliferación celular^{17,18}, los cuales otorgan características distintivas desde el punto de vista clínico, epidemiológico, genético, inmunológico y pronóstico^{17,19}. Particularmente el cáncer de mama de endofenotipo triple negativo es un subtipo molecular que alcanza una frecuencia entre los grupos moleculares de 12% al 20% en Norteamérica^{20,21}, mientras que en Latinoamérica se ha diagnosticado predominantemente en mujeres jóvenes con edades menores a 45 años seguido de la edad postmenopáusica con una prevalencia que varía entre 17.8%, 19%, 22% y 35% en los países de Chile, Perú, Costa Rica, y México respectivamente^{21,22}. En Colombia oscila en el rango de 13.5% a 20.6%^{23,24}.

Analizando la patogénesis del cáncer de mama triple negativo, esta es una entidad heterogénea que presenta distintos tipos histológi-

Tabla 1 | Análisis estadístico de la expresión de PD-L1, características clínicas e histopatológicas

| | | PD-L1 | | | | | |
|---|-------------------|-----------|-----------|-----------|-----------------|-------------|--|
| Grupo molecular | | n (%) | < 10 (%) | >10 (%) | Rho de Spearman | p | |
| Luminal A | | 25 (28.4) | 19 (21.6) | 6 (6.8) | -0.015 | 0.891 | |
| Luminal B | | 24 (27.3) | 18 (20.5) | 6 (6.8) | 0.015 | 0.889 | |
| HER-2 | | 8 (9.1) | 5 (5.7) | 3 (3.4) | 0.091 | 0.392 | |
| TNBC | | 31 (35.2) | 24 (27.3) | 7 (7.9) | -0.075 | 0.699 | |
| TILs* | | n (%) | < 10 (%) | > 10(%) | Rho de Spearman | p | |
| Grupo A | | 49 (55.7) | 40 (45.5) | 9 (10.2) | | | |
| Grupo B | | 28 (31.8) | 16 (18.2) | 12 (13.6) | -0.106 | 0.025 | |
| Grupo C | | 11 (12.5) | 10 (11.4) | 1 (1.1) | | | |
| Invasión linfovascular | | n (%) | < 10 (%) | >10 (%) | Rho de Spearman | p | |
| Positivo | | 36 (40.9) | 24 (27.3) | 12 (14) | 0.16 | 0.133 | |
| Negativo | | 52 (59.1) | 42 (47.7) | 10 (11) | | | |
| Tipo histológico | Grado histológico | n (%) | < 10 (%) | >10(%) | Rho de Spearman | p | |
| Carcinoma ductal II/III | I/III | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | | infiltrante | |
| | 46 (52.3) | 36 (40.9) | 10 (11.4) | | | | |
| | III/III | 32 (36.4) | 23 (26.1) | 9 (10.2) | | | |
| Lobulillar infiltrante | NA** | 1 (1.1) | 1 (1.1) | 0 (0) | 0.007 | 0.78 | |
| | 6 (6.8) | 4 (4.5) | 2 (2.3) | | | | |
| | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | | | | |
| Mucinoso Carcinoma papilar encapsulado con componente invasivo | NA** | 2 (2.3) | 1 (1.1) | 1 (1.1) | | | |
| | NA** | 1 (1.1) | 1 (1.1) | 0 (0) | | | |
| Tipo histológico | TNM*** | n (%) | < 10 (%) | > 10 (%) | Rho de Spearman | p | |
| Carcinoma ductal infiltrante | IA | 38 (43.2) | 31 (35.2) | 7 (7.95) | 0.032 | 0.777 | |
| | IIA | 14 (15.9) | 7 (7.95) | 3 (3.4) | | | |
| | IIB | 18 (20.5) | 14 (15.9) | 4 (4.5) | | | |
| | IIIB | 3 (3.4) | 3 (3.4) | 0 (0) | | | |
| | IV | 5 (5.7) | 4 (4.5) | 1 (1.1) | | | |
| Lobulillar infiltrante | IA | 6 (6.8) | 4 (4.5) | 2 (2.2) | | | |
| | IIB | 1 (1.1) | 1 (1.1) | 2 (2.3) | | | |
| Mucinoso Carcinoma papilar encapsulado con componente invasivo | IA | 2 (2.3) | 1 (1.1) | 1 (1.1) | | | |
| | IIA | 1 (1.1) | 1 (1.1) | 0 (0) | | | |

TILs: infiltración linfocitaria intratumoral, **NA: no aplica, *TNM: clasificación TNM Versión 8, tamaño tumoral (T), número de ganglios comprometidos (N) y metástasis (M)

Tabla 2 | Análisis estadístico de la infiltración linfocitaria intratumoral estromal en el endofenotipo TNBC * y expresión de PD-L1

| TNBC* | TILs** | N (%) | PD-L1 | | Rho de Spearman | Chi Cuadrado |
|-------|---------|-----------|----------|----------|-----------------|--------------|
| | | | <10 (%) | >10 (%) | | |
| | GRUPO A | 8 (25.8) | 8 (25.8) | 0 (0) | -0.378 | 0.01 |
| | GRUPO B | 16 (51.6) | 9 (29.0) | 7 (22.6) | | |
| | GRUPO C | 7 (22.6) | 7 (22.6) | 0 (0) | | |

*TNBC: carcinoma de mama triple negativo, **TILs: infiltración linfocitaria intratumoral.

Tabla 3 | Análisis estadístico por edades de los grupos moleculares y la correlación con la expresión de PD-L1

| Menores o igual de 40 años | Grupo molecular | n | PD-L1 | | Rho de Spearman | p |
|----------------------------|-----------------|----|-------|-----|-----------------|-------|
| | | | <10 | >10 | | |
| | Luminal A | 0 | – | – | -0.25 | 0.453 |
| | Luminal B | 2 | 1 | 1 | 0.189 | 0.571 |
| | HER-2 | 0 | 7 | – | 0.189 | 0.571 |
| | TNBC | 1 | 1 | – | -0.158 | 0.635 |
| Mayores de 40-60 años | Luminal A | 12 | 9 | 3 | 0.029 | 0.843 |
| | Luminal B | 15 | 12 | 3 | -0.078 | 0.59 |
| | HER-2 | 7 | 4 | 3 | 0.118 | 0.413 |
| | TNBC | 20 | 15 | 5 | 0 | 1 |
| Mayores de 60 años | Luminal A | 13 | 10 | 3 | 0.01 | 0.995 |
| | Luminal B | 7 | 5 | 2 | 0.126 | 0.483 |
| | HER-2 | 1 | 1 | 0 | -0.099 | 0.583 |
| | TNBC | 10 | 8 | 2 | -0.078 | 0.664 |

cos, perfil inmunológico y expresión genómica que derivan en subgrupos fisiopatológicos de tumores *basal-like* – 1 (BL1), tumores *basal-like* – 2 (BL2), mesenquimatoso (M) y receptor de andrógenos luminales (LAR), con comportamiento biológico clínicamente agresivo y carente de diana terapéutica específica^{24, 25}. En los últimos años, con el auge del análisis inmunológico en neoplasias, la infiltración linfocitaria intratumoral ha sido considerada relevante en la patogenia de los TNBC debido a la interacción que establece los linfocitos con algunas células como los fibroblastos y el endotelio en los vasos sanguíneos linfáticos conformando el microambiente tumoral y determinar la evolución del tumor, considerando estas características distintivas del grupo M¹⁰. En el estudio actual, 23 casos diagnosticados como TNBC exhibieron niveles de TILs intermedio y alto, concordando

con lo reportado en la literatura científica^{13, 26-29}, asociando esta característica en investigaciones recientes con mejor evolución y respuesta a la quimioterapia tanto en la modalidad neoadyuvante como adyuvante¹⁰. Sin embargo, revisando los resultados obtenidos en la totalidad de los casos y grupos moleculares, se observó una tendencia a niveles de TILs bajos (grupo A), con una media de 55.6% coincidiendo con otros grupos científicos^{13, 26, 30, 31}, quienes concluyeron que el aumento de TILs en tumores con ausencia de expresión de HER-2 se constituyó en un factor pronóstico adverso para la supervivencia, a diferencia de lo observado en los grupos TNBC y HER-2 positivo, donde se relacionó con beneficio en la supervivencia³¹⁻³³.

Otro componente relevante en la fisiopatología del TNBC, es el PD-L1 por su capacidad para estimular un punto de bloqueo inmunológico y

su utilidad como diana terapéutica^{9,11}. En el cáncer de mama se han reportado bajos niveles celulares de PD-L1³⁴, como se observó en este estudio con 25% de positividad en la población analizada; aunque, es evidente la variabilidad en series de casos con un rango amplio que oscila entre 20%²⁶, 36.7%³⁵, 40.9%³⁶, 41.8%²⁸, 56.1%³⁷, alcanzando valores de 58%¹³. Este fenómeno puede explicarse biológicamente debido a los diferentes mecanismos regulatorios que controlan la expresión de PD-L1 en la membrana celular y que se han explorado experimentalmente¹¹. Entre éstos, el control genético con alteraciones en el promotor del gen PD-L1 (ampliaciones, translocaciones y polimorfismos), regulación mediante vías metabólicas como RAS/RAF/MEK/MAPK-ERK y PI3K/AKT/mTOR, intervenciones postranscripcionales mediante la ruta Janus kinase/STAT/interferon- γ , el factor inducible por hipoxia y microARNs, y finalmente señales de ubiquitinación que intervienen en la fase postraduccional del PD-L1^{9,11}.

Desde el punto de vista técnico, esta fluctuación en las cifras se ha relacionado con factores como el tipo de clon utilizado para la evaluación histopatológica por inmunohistoquímica que deriva en un sistema de puntuación diferente para reconocer la reactividad de PD-L1 en las células tumorales, macrófagos / histiocitos y linfocitos. De igual forma, se plantea que el tipo de muestra evaluada (*tissue microarrays*, biopsias con aguja *trucut* y especímenes de resección fijadas y embebidas en parafina, entre otras) y la técnica empleada para su detección pueden impactar en la identificación de PD-L1, siendo mayor el porcentaje de expresión en aquellos donde se utilizó la técnica de ARN mensajero *in situ*^{13,35}. En la práctica clínica es relevante, ya que en la actualidad existen medicamentos aprobados para diana terapéutica del eje PD-L1/PD-1. Algunos de ellos poseen ensayos clínicos aprobados para su utilización en el cáncer de mama triple negativo avanzado metastásico en primera línea combinados con otros agentes farmacológicos y como terapia neoadyuvante. Por ejemplo, atezolizumab para PD-L1 y pembrolizumab quien cumple la función anti-PD-1, observando en la mayoría de ellos actividad clínica con beneficio de una supervivencia libre de progresión y potencialmente aceptable para su uso³⁸⁻⁴⁰.

Con respecto a los grupos moleculares luminales, la proporción de positividad de PD-L1 encontrada en la investigación fue de 24% con niveles de TILs predominantemente bajos (Grupo A), y con escaso nivel de correlación coincidiendo con lo evidenciado en la literatura científica⁴¹. La expresión de PD-L1 no se ha relacionado con una mejor supervivencia, independiente de los efectos atribuidos a la positividad del RE y RP en cánceres de mama de fenotipo luminal⁴¹. En el grupo HER-2 observamos mayor número de casos PD-L1 negativo y niveles de TILs bajos sin encontrar una correlación importante entre estas variables; no obstante, se ha planteado en ensayos clínicos que la inmunorreactividad para PD-L1 asociado a TILs bajos se constituye un indicador independiente de mal pronóstico y peor supervivencia⁴¹.

Basado en la interacción de PD-L1 y TILs en diversos tipos de tumores, se han propuesto 4 microambientes tumorales con el objetivo de ampliar nuevos enfoques que permitan diseñar terapias combinadas acordes con la inmunología tumoral, estableciendo las siguientes asociaciones con significado clínico y frecuencia (F) variable principalmente en pacientes con melanoma: cáncer tipo I (F:38%), resistencia inmune adaptativa (PD-L1+,TILs+), cáncer tipo II (F: 41%), ignorancia inmunológica (PD-L1- TILs-), cáncer tipo III (F: 1%), inducción intrínseca (PD-L1+ TILs-), y cáncer tipo IV (F: 20%), tolerancia inmune (PD-L1- TILs+)⁴². En ese sentido, revisando los resultados obtenidos en todos los grupos moleculares, los niveles de TILs y PD-L1 negativos fueron la mayor proporción encontrada, perteneciendo al grupo de ignorancia inmunológica (cáncer tipo II), el cual ha sido descrito con mayor frecuencia y con pronóstico desfavorable debido a su falta de reacción inmune detectable^{43, 44}. No obstante, en el subtipo TNBC los niveles de TILs observados fueron categorizados principalmente en el grupo B (Infiltración linfocitaria heterogénea e intermedia) correspondiente al 51.61% de los casos estudiados concordando con lo expresado por otros investigadores en poblaciones latinoamericanas²⁹ y asociado a positividad para PD-L1 con comportamiento biológico de resistencia inmune adaptativa (cáncer tipo I).

Con esta investigación se puede concluir que en la población estudiada del caribe co-

lombiano existe una correlación entre las variables PD-L1, infiltración linfocitaria intratumoral y TNBC, los cuales se constituyen como biomarcadores pronósticos y predictivos para la instauración de terapias dirigidas, mientras que, con las variables histopatológicas como tamaño tumoral, invasión linfovascular y demás fenotipos moleculares, no se logró establecer una asociación. A partir de este conocimiento se propone que se debe ampliar el espectro de

búsqueda en los procesos que median las vías de progresión tumoral que permitan predecir el comportamiento biológico en los pacientes con esta enfermedad, haciendo énfasis en la identificación de puntos específicos susceptibles de intervención farmacológica, fortaleciendo con ello el desarrollo de la medicina de precisión en TNBC.

Conflicto de intereses: Ninguno para declarar

Bibliografía

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021; 71: 209-49.
2. Stanton SE, Disis ML. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer. *J Immunother Cancer* 2016; 4: 1-7.
3. Salgado R, Loi S. Tumour infiltrating lymphocytes in breast cancer: increasing clinical relevance. *Lancet Oncol* 2018; 19: 3-5.
4. Dieci MV, Miglietta F, Guarneri V. cells Immune Infiltrates in Breast Cancer: Recent Updates and Clinical Implications. *Cells* 2021; 10: 223.
5. Finn O. Immuno-oncology: Understanding the function and dysfunction of the immune system in cancer. *Ann Oncol* 2012; 23: 8-11.
6. Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, et al. New insights into cancer immunoediting and its three component phases-elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol* 2014; 27: 16-25.
7. AiErken NJ, Shi HJ, Zhou Y, et al. High PD-L1 expression is closely associated with tumor-infiltrating lymphocytes and leads to good clinical outcomes in Chinese triple negative breast cancer patients. *Int J Biol Sci* 2017; 13: 1172-79.
8. Stanton SE, Disis ML. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer. *J Immunother Cancer* 2016; 4: 59.
9. Kalantari Khandani N, Ghahremanloo A, Hashemy SI. Role of tumor microenvironment in the regulation of PD-L1: A novel role in resistance to cancer immunotherapy. *Journal of Cellular Physiology* 2020; 235: 6496-506.
10. Derakhshan F, Reis-filho JS. Pathogenesis of Triple-Negative Breast Cancer. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2022; 17: 181-204.
11. Zerdes I, Matikas A, Bergh J, et al. Genetic, transcriptional and post-translational regulation of the programmed death protein ligand 1 in cancer: biology and clinical correlations. *Oncogene* 2018; 37: 4639-61.
12. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol* 2008; 26: 677-704.
13. Schalper KA, Velcheti V, Carvajal D, et al. In situ tumor PD-L1 mRNA expression is associated with increased tils and better outcome in breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 2773-82.
14. 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. *Ann Oncol* 2015; 26: 259-71.
15. Dieci MV, Radosevic-Robin N, Fineberg S, et al. Update on tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer, including recommendations to assess TILs in residual disease after neoadjuvant therapy and in carcinoma in situ: A report of the International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Bre. *Semin Cancer Biol* 2018; 52: 16-25.
16. A. MR, W. CF. Correlación entre Actividades de Interacción Social Registradas con Nuevas Tecnologías y el grado de Aislamiento Social en los Adultos Mayores / The Correlation Among Social Interaction Activities Registered Through New Technologies and Elderly's Social I. *Rev Mex Ing biomédica VO - 36* 2015; 36: 181.
17. Tsang JYS, Tse GM. Molecular Classification of Breast Cancer. *Adv Anat Pathol* 2020; 27: 27-35.
18. Prat A, Pineda E, Adamo B, et al. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast* 2015; 24: S26-S35.
19. Prat A, Parker JS, Fan C, et al. PAM50 assay and the three-gene model for identifying the major and clinically relevant molecular subtypes of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 135: 301-6.
20. Howard FM, Olopade OI. Epidemiology of triple-negative breast cancer. *Cancer J* 2021; 27: 8-16.

21. Caglevic C, Anabalón J, Soza C, et al. Triple-negative breast cancer: The reality in Chile and in Latin America. *Ecancermedicalscience* 2019; 13: 1-8.
22. Villarreal C, Aguila C, Magallanes MC, et al. Breast Cancer in Young Women in Latin America : An Unmet , Growing. *Oncologist* 2013; 1298-306.
23. Fondo Colombiano de Enfermedades de Alto Costo C de AC (CAC). Situación del cáncer en la población adulta atendida en el SGSSS de Colombia 2021. 2022.
24. Melo-Urbe MA, Serrano-Gómez SJ, Abaunza Chagin MC. Androgen receptor expression and prognosis in Hispanic/Latino women with triple negative breast cancer. *Rev Española Patol* 2022; 55: 96-104.
25. Medina MA, Oza G, Sharma A, et al. Triple-negative breast cancer: A review of conventional and advanced therapeutic strategies. *Int J Environ Res Public Health* 2020; 17: 1-32.
26. Evangelou Z, Papoudou-Bai A, Karpathiou G, et al. PD-L1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer: Clinicopathological analysis in women younger than 40 years old. *In Vivo (Brooklyn)* 2020; 34: 639-47.
27. Gonzalez-Ericsson PI, Stovgaard ES, Sua LF, et al. The path to a better biomarker: application of a risk management framework for the implementation of PD-L1 and TILs as immuno-oncology biomarkers in breast cancer clinical trials and daily practice. *J Pathol* 2020; 250: 667-84.
28. Mori H, Kubo M, Yamaguchi R, et al. The combination of PD-L1 expression and decreased tumor-infiltrating lymphocytes is associated with a poor prognosis in triple-negative breast cancer. *Oncotarget* 2017; 8: 15584-92.
29. Amat M, Mandó P, Ostinelli A, et al. Sesiones científicas. Los linfocitos estromales intratumorales (tils) como factor pronóstico en tumores primarios de mama Triple Negativos. *Revista Argentina de Mastología* 2018; 37: 69-79-
30. 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: 105-13.
31. 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. *Lancet Oncol* 2018; 19: 40-50.
32. Savas P, Salgado R, Denkert C, et al. Clinical relevance of host immunity in breast cancer: From TILs to the clinic. *Nat Rev Clin Oncol* 2016; 13: 228-41.
33. Vranic S, Cyprian FS, Gatalica Z, et al. PD-L1 status in breast cancer: Current view and perspectives. *Semin Cancer Biol* 2021; 72: 146-54.
34. Planes-Laine G, Rochigneux P, Bertucci F, et al. PD-1/PD-l1 targeting in breast cancer: The first clinical evidences are emerging. a literature review. *Cancers (Basel)* 2019; 11: 1-25.
35. Al-Jussani GN, Dabbagh TZ, Al-Rimawi D, et al. Expression of PD-L1 using SP142 CDx in triple negative breast cancer. *Ann Diagn Pathol* 2021; 51: 151703.
36. Schmid P, Rugo HS, Adams S, et al. Atezolizumab plus nab-paclitaxel as first-line treatment for unresectable, locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer (IMpassion130): updated efficacy results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2020; 21: 44-59.
37. Baptista MZ, Sarian LO, Derchain SFM, et al. Prognostic significance of PD-L1 and PD-L2 in breast cancer. *Hum Pathol* 2016; 47: 78-84.
38. Nanda R, Chow LQM, Dees EC, et al. Pembrolizumab in patients with advanced triple-negative breast cancer: Phase Ib keynote-012 study. *J Clin Oncol* 2016; 34: 2460-67.
39. Cortes J, Cescon DW, Rugo HS, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy versus placebo plus chemotherapy for previously untreated locally recurrent inoperable or metastatic triple-negative breast cancer (KEYNOTE-355): a randomised, placebo-controlled, double-blind, phase 3 clinical trial. *Lancet* 2020; 396: 1817-28.
40. Badve SS, Penault-Llorca F, Reis-Filho JS, et al. Determining PD-L1 Status in Patients with Triple-Negative Breast Cancer: Lessons Learned from IMpassion130. *J Natl Cancer Inst* 2022; 114: 664-75.
41. Tsang JYS, Au WL, Lo KY, et al. PD-L1 expression and tumor infiltrating PD-1+ lymphocytes associated with outcome in HER-2+ breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2017; 162: 19-30.
42. Teng MWL, Ngiow SF, Ribas A, et al. Classifying cancers based on T-cell infiltration and PD-L1. *Cancer Res* 2015; 75: 2139-45.
43. Herbst RS, Soria J, Kowanetz M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 2014; 515: 563-7.
44. Ribas A, Hu-Lieskovan S. What does PD-L1 positive or negative mean? *J Exp Med* 2016; 213: 2835-40.