



CENTENARIO HOSPITAL MIGUEL HIDALGO
CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD

**PD-L1 COMO FACTOR PREDICTIVO DE RESPUESTA
AL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE EN CANCER DE
MAMA LOCALMENTE AVANZADO**

TESIS

PRESENTADA POR

Elizabeth García García

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN MEDICINA
INTERNA**

ASESOR(ES)

**Dr. Froylán López López
Dr. José Manuel Arreola Guerra**

Aguascalientes, Ags., 15 de enero del 2019



CHMH

CENTENARIO HOSPITAL MIGUEL HIDALGO

COMITE DE ETICA EN INVESTIGACIÓN CENTENARIO HOSPITAL MIGUEL HIDALGO

CEI/145/17

Aguascalientes, Ags., a 29 de diciembre de 2017.

Dra. Elizabeth García García
Dr. Froylan López López
Dr. José Manuel Arreola Guerra
Investigadores

En cumplimiento con las Buenas Prácticas Clínicas y la Legislación Mexicana vigente en materia de investigación clínica, el Comité de Ética en Investigación del Centenario Hospital Miguel Hidalgo, en su sesión del 16 de noviembre del presente año revisó y decidió Aprobar con número de identificación **2017-R-21**, el proyecto de investigación para llevar a cabo en este Hospital, titulado:

“PDL-1 COMO FACTOR PREDICTIVO DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE EN CÁNCER DE MAMA LOCALMENTE AVANZADO”

Se solicita a los investigadores reportar avances y en su caso los resultados obtenidos al finalizar la investigación. Una vez transcurrido un año de la realización del estudio, en caso de permanecer activo, es necesario solicitar su reaprobación.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE

PA

DR. CARLOS ALBERTO DOMINGUEZ REYES
PRESIDENTE DEL COMITE DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



CADR/cmva*

GALEANA SUR NO 465
COL. OBRAJE
C.P. 20230, AGUASCALIENTES, AGS.



(449) 994-67-20 SECTOR CIVIL
(449) 994-67-52 SECTOR PRIVADO

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

ELIZABETH GARCÍA GARCÍA
ESPECIALIDAD EN MEDICINA INTERNA
P R E S E N T E

Por medio de la presente se le informa que en cumplimiento de lo establecido en el Reglamento General de Docencia en el Capítulo XVI y una vez que su trabajo de tesis titulado:

**“PD-L1 COMO FACTOR PREDICTIVO DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO
NEOADYUVANTE EN CÁNCER DE MAMA LOCALMENTE AVANZADO”**

Ha sido revisado y aprobado por su tutor y consejo académico, se autoriza continuar con los trámites de titulación para obtener el grado de:
Especialista en Medicina Interna

Sin otro particular por el momento me despido enviando a usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“SE LUMEN PROFERRE”
Aguascalientes, Ags., a 7 de Diciembre de 2018.

DR. JORGE PRIETO MACÍAS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD

c.c.p. M. en C. E. A. Imelda Jiménez García / Jefa de Departamento de Control Escolar
c.c.p. Archivo

Aguascalientes, Ags. A 25 de Octubre del 2018

ASUNTO: Autorización y visto bueno para impresión de tesis

Comité de Ética e Investigación

He participado con la Dra. Elizabeth García García, residente de cuarto grado de la especialidad de Medicina Interna en la elaboración del trabajo de tesis "**PDL-1 como factor predictivo de respuesta al tratamiento neoadyuvante en cáncer de mama localmente avanzado**" y otorgo la autorización para su presentación e impresión ante la coordinación de investigación del Centenario Hospital Miguel Hidalgo y la Universidad Autónoma de Aguascalientes.



Dr. José Manuel Arreola Guerra
Asesor de Tesis




Dra. Gabriela Ramírez Morales
Profesora del curso de Medicina Interna

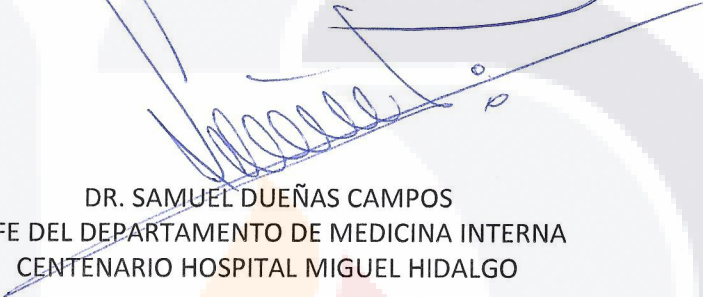


CHMH

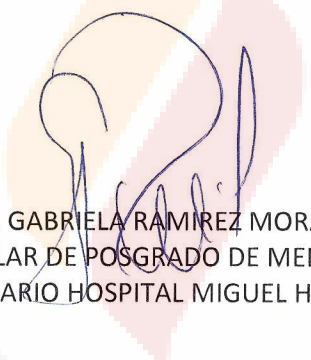
CENTENARIO HOSPITAL MIGUEL HIDALGO



DRA. MARIA DE LA LUZ TORRES SOTO
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
CENTENARIO HOSPITAL MIGUEL HIDALGO



DR. SAMUEL DUEÑAS CAMPOS
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA
CENTENARIO HOSPITAL MIGUEL HIDALGO



DRA. GABRIELA RAMIREZ MORALES
PROFESOR TITULAR DE POSGRADO DE MEDICINA INTERNA
CENTENARIO HOSPITAL MIGUEL HIDALGO



DR. FROYLAN LÓPEZ LÓPEZ



DR. JOSE MANUEL ARREOLA GUERRA



DRA. GABRIELA RAMIREZ MORALES
ASESORES CLÍNICOS Y METODOLÓGICO DE TESIS

AGRADECIMIENTOS

Infinitamente a mis padres y hermanos por ser incondicionales en esta experiencia, a Roberto por su paciencia y amor; mi abuela y tíos. Todos ellos, quienes a pesar de la distancia estaban presentes, compartieron su tiempo conmigo incluso sólo velando mi sueño y siempre tuvieron una palabra de aliento en los momentos difíciles.

A mis maestros, al Dr. Samuel Dueñas quien fue la primer persona en darme su voto de confianza. Al Dr. Alejandro Rodríguez mi principal mentor en este lugar, con quien compartí mis más temidas rotaciones, pero a su vez las más gratificantes. Y a todos mis maestros por compartir su experiencia, conocimiento y sobre todo su calidez humana, gracias por haber contribuido en mi formación.

Mi agradecimiento a los médicos que hicieron posible la realización de esta tesis, Dr. Froylán López, Dr. José Manuel Arreola y Dr. Antonio Rolón.

A aquellas personas con quienes compartí momentos de felicidad, pero también los tiempos difíciles durante este camino y que ahora ya son amigos entrañables para siempre.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos, el regalo más grande que Dios me dió.



TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

INDICE GENERAL

Índice general	
Índice de tablas	
Indice de figuras	
Acrónimos	
Resumen	
Abstract	
Introducción	1
Capítulo I. Marco Teórico	6
1.1 Generalidades	6
1.2 Epidemiología	6
1.2.1 Factores de riesgo	7
1.2.1.1 No genéticos y no modificables	7
1.2.1.2 No genéticos y modificables	8
1.2.1.3 Factores de riesgo genéticos	9
1.3 Síntomas y diagnóstico	9
1.4 Diagnóstico histopatológico	11
1.4.1 Clasificación por inmunohistoquímica	11
1.4.1.1 Cáncer de mama triple negativo	11
1.5 Clasificación TNM	12
1.6 Inmunología y cáncer	13
1.6.1 Carcinogénesis	13
1.6.2.1 El ciclo cáncer-inmunidad	14
1.6.3 Microambiente inflamatorio	16
1.6.4 Inmunoedición	17
1.7 Inmunoterapia	18
1.8 Expresión de PD-1	19
1.9 PD-L1 e inmunohistoquímica	21
Capítulo II. Metodología de la investigación	22
2.1 Hipótesis	22
2.2 Objetivo	22
2.2.1 Objetivos específicos	22
2.2.2 Objetivos secundarios	22
Capítulo III. Materiales, pacientes y métodos	23

3.1 Tipo de estudio	23
3.2 Universo de estudio	23
3.3 Criterios de inclusión	23
3.4 Criterios de exclusión	23
3.5 Criterios de eliminación	23
3.6 Selección de la muestra	23
3.7 Obtención y procesamiento de datos	23
3.8 Implicaciones éticas	24
Resultados	25
Discusión de resultados	30
Conclusión	31
Referencias bibliográficas	32



INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estratificación TNM	13
Tabla 2. Características clínico patológicas de las pacientes	26
Tabla 3. Asociación subtipo molecular / expresión PD-L1	27
Tabla 4. Respuesta patológica y características clínicopatológicas	28



INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Supervivencia libre de metástasis de acuerdo con la expresión PD-L1 por mRNA en toda la población y en subtipo basal	1
Figura 2. Supervivencia global específica de acuerdo con la expresión PD-L1 por mRNA en toda la población y en subtipo basal	2
Figura 3. Supervivencia después del diagnóstico de cáncer de mama	2
Figura 4. Supervivencia después del diagnóstico de cáncer de mama	3
Figura 5. Asociación entre RpC y supervivencia libre de eventos por subtipo de cáncer	4
Figura 6. El ciclo cáncer-inmunidad	14
Figura 7. Inmunoeedición del cáncer	18
Figura 8. Inhibición de la función célula T específica - Tumor por la expresión de PD-1 y sus ligando en el microambiente tumoral.	20

INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Respuesta patológica en pacientes con PD-L1 positivo y PD-L1 negativo 28

Gráfica 2. Respuesta patológica completa en los subtipos triple negativo y HER-2 sobreexpresado que expresan PD-L1 28

Gráfica 3. Porcentaje de cirugías conservadora y mastectomía radical modificada (MRM) 29



ACRÓNIMOS

BRCA	BReast Cancer
CMH	Complejo mayor de histocompatibilidad
CPA	Célula presentadora de antígenos
CTLA-4	Antígeno del linfocito T citotóxico
EGFR	Factor de crecimiento epidérmico
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
FDA	Food and drug administration
HER-2	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
IFN- γ	Interferón gamma
IHQ	Inmunohistoquímica
IL	Interleucina
MDSC	Células supresoras derivadas de mieloide
MRM	Mastectomía radical modificada
mRNA	Microarreglos de Ácido Ribonucleico
PD-1	Muerte programada 1
PD-L1	Ligando de muerte programada 1
RCT	Receptor de células T
RE	Receptores de estrógenos
RP	Receptor de progesterona
RpC	Respuesta patológica completa
SGE	Supervivencia global específica
SLP	Supervivencia libre de metástasis
TNF- α	Factor de necrosis tumoral
Treg	T reguladores
VEGF	Factor de crecimiento del endotelio vascular

RESUMEN

El cáncer de mama es considerado poco inmunogénico, empero, en la última década el papel de la inmunidad ha demostrado un beneficio especial en tumores con receptores de estrógenos negativos.

Un desafío en la inmunoterapia del cáncer ha sido la identificación de biomarcadores predictivos que puedan ser utilizados para identificar aquellas pacientes candidatas para dicho tratamiento y guiar las decisiones de manejo.

Objetivo: Evaluar la expresión de PD-L1 como factor predictor de respuesta al tratamiento neoadyuvante en cáncer de mama localmente avanzado.

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo-cohorte, comparativo y longitudinal en 50 pacientes con diagnóstico de cáncer de mama localmente avanzado quienes recibieron quimioterapia neoadyuvante en el Hospital Miguel Hidalgo. Se incluyeron mujeres mayores de 18 años de edad con expediente clínico completo.

Resultados: La expresión de PD-L1 en las 50 muestras de mujeres con cáncer de mama, 26 de subtipo luminal, 8 sobreexpresaban HER-2 y 16 fueron triple negativo. La expresión de PD-L1 se relacionó con aquellos subtipos de peor pronóstico, triple negativo y HER-2 puro ($p=0.19$ y $p=0.04$ respectivamente), sin ser significativo. La expresión de PD-L1 no se asoció con RpC en el total de la población (25% de RpC en los casos de expresión vs 34.2% en el resto de los casos; $p=0.74$).

Conclusiones: Los resultados sugieren que existe una tendencia en la expresión de PD-L1 con los subtipos triple negativo y HER-2 sobreexpresado que tuvieron RpC, sin embargo esta expresión no está significativamente asociada.

Palabras clave: Cáncer, mama, inmunoterapia, biomarcadores, predictivo, PD-L1, quimioterapia, neoadyuvante.

ABSTRACT

Breast cancer has been considered a poorly immunogenic tumor, however, in the last decade the role of immunity has shown a benefit mainly in patients with estrogen receptor negative tumors.

A challenge in cancer immunotherapy has been the identification of predictive biomarkers than can be used to identify candidate patients and guide management decisions.

Objective: Evaluate PD-L1 expression as a predictive factor of response to neoadjuvant treatment in locally advanced breast cancer.

Patients and methods: We performed a retrospective comparative longitudinal cohort study in 50 patients with locally advanced breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy at Hospital Miguel Hidalgo. Women aged 18 years or more and complete medical record were included.

Results: We evaluated the expression of PD-L1 in 50 samples from women with breast cancer of which 26 of them belonged to the luminal subtype, 8 overexpressed HER-2 and 16 were triple negative. The expression of PD-L1 was associated with those subtypes of worse prognosis, triple negative and pure HER-2 ($p = 0.39$ and $p = 0.64$ respectively), without being significant. The expression of PD-L1 was not associated with RpC in the total population (25% of pCR in the cases of expression vs 34.2% in the rest of the cases, $p = 0.74$).

Conclusions: The results suggest that there is a tendency for the expression in PD-L1 with the triple negative and HER-2 overexpressed subtypes that presented RpC, however this expression is not significantly associated.

Key words: Cancer, breast, immunotherapy, biomarkers, predictive, PD-L1, chemotherapy, neoadjuvant.

INTRODUCCIÓN

El bloqueo de la vía PD-1/PDL-1 con anticuerpos monoclonales es una terapéutica prometedora en cáncer. La expresión de PDL-1 se ha observado en diferentes tumores sólidos y varios meta-análisis han demostrado que la sobre-expresión de PDL-1 tiene una asociación clinicopatológica de mal pronóstico en varios tipos de cáncer.^{1,2}

En el meta-análisis de Zhang M et al.³ demostraron que el subtipo histológico triple negativo se asoció al aumento de la expresión de PDL-1, sin encontrar relación significativa entre la sobreexpresión de PDL-1 y el tamaño del tumor, el estatus de receptor de progesterona (RP) o el receptor del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2).

De acuerdo a Sabatier R et al.⁴ la expresión PD-L1, basada en niveles de mRNA, se asoció con subtipos más agresivos (HER 2 y basal). En el subtipo basal la sobreexpresión de PDL-1 se asoció con mayor supervivencia libre de metástasis (Figura 1), supervivencia global (Figura 2) y una mejor respuesta a la quimioterapia neoadyuvante, con una tasa de respuesta patológica completa de 50% vs 21% en aquellos casos que no expresaban PDL-1.

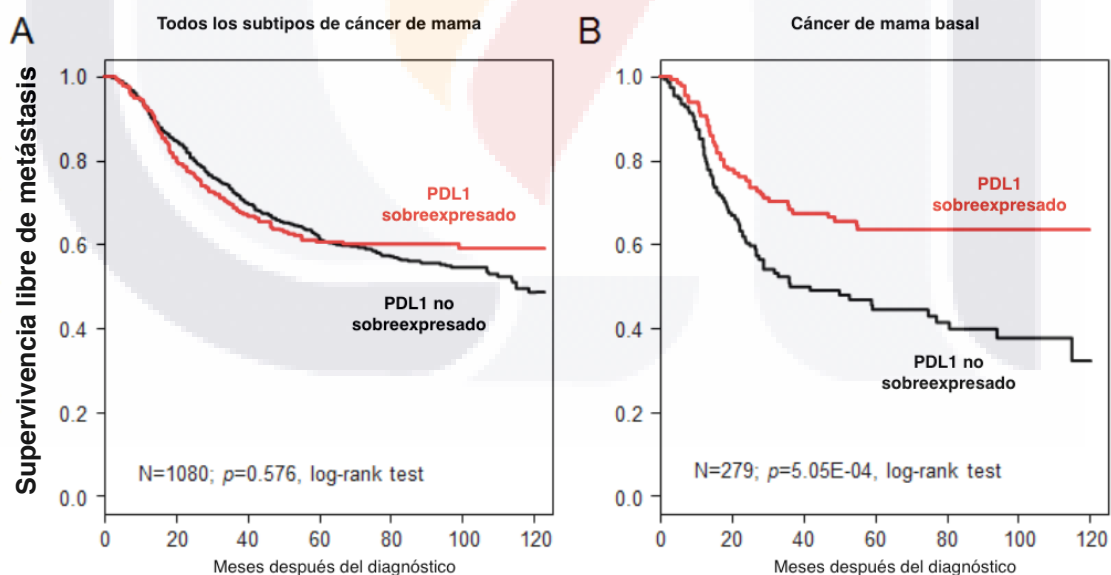


Figura 1: Supervivencia libre de metástasis (SLM) de acuerdo con la expresión PD-L1 por mRNA en toda la población y en subtipo basal. A. Curvas Kaplan-Meier de SLM en pacientes con expresión alta y baja en toda la población. La SLM a 5 años fue de 61% en ambos grupos. B. Similar a (A), pero limitado a pacientes con cáncer de mama de tipo basal. La SLM a 5 años fue de 63 y 44% respectivamente. Fuente: Adaptado de Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, Adelaide J, Chaffanet M, Ali HR, Viens P, Caldas C, Birnbaum D and Bertucci F: Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer. *Oncotarget* 6: 5449-5464, 2015.

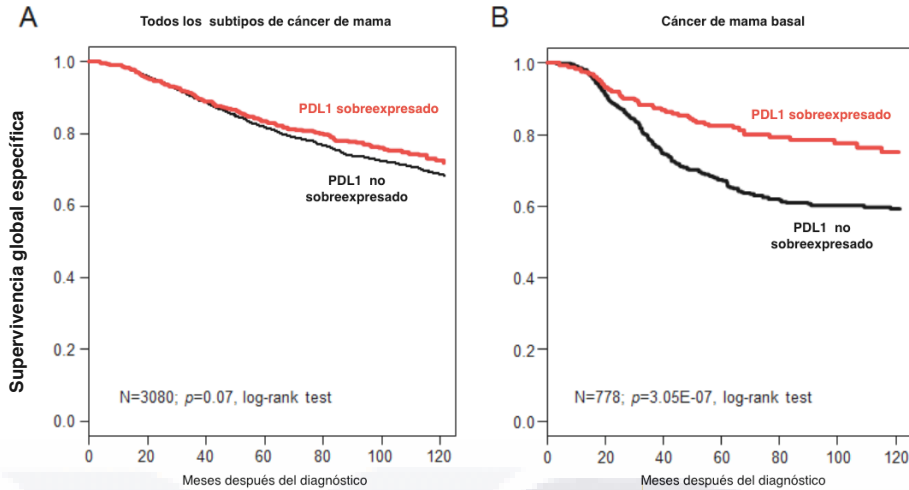


Figura 2: Supervivencia global específica (SGE) de acuerdo con la expresión PD-L1 por mRNA en toda la población y en subtipo basal. A. Curvas Kaplan-Meier de SGE en pacientes con expresión alta y baja en toda la población. La SGE a 5 años fue de 84 y 82% respectivamente. B. Similar a (A), pero limitado a pacientes con cáncer de mama de tipo basal. La SGE a 5 años fue de 82 y 68% respectivamente. Fuente: Adaptado de Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, Adelaide J, Chaffanet M, Ali HR, Viens P, Caldas C, Birnbaum D and Bertucci F: Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer. *Oncotarget* 6: 5449-5464, 2015.

En múltiples estudios se ha observado que los subtipos, tanto triple negativo como basal-like, están asociados con un pronóstico desfavorable y no existe al momento una terapia biológica para este tipo de tumores. En la curva de supervivencia (Figura 3) hay una disminución brusca de la supervivencia durante los primeros 3 a 5 años después del diagnóstico, sin embargo la recaída después de este tiempo es mucho menos común.

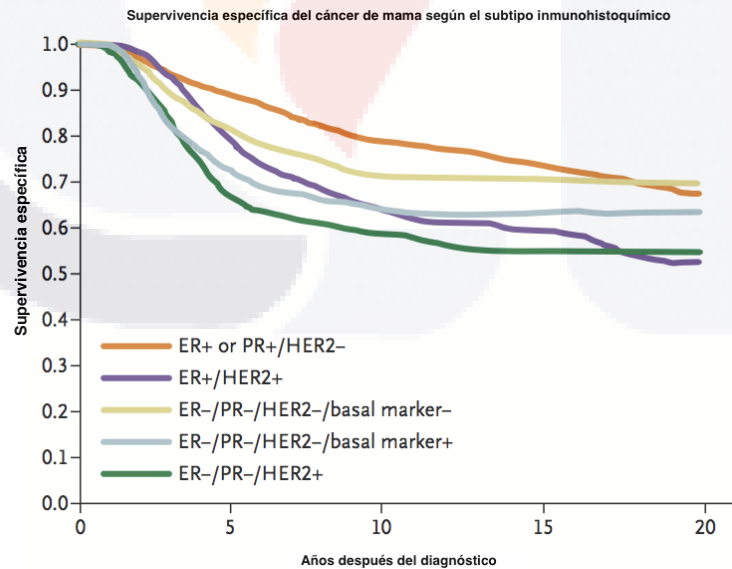


Figura 3: Supervivencia después del diagnóstico de cáncer de mama. Tasa de supervivencia en una serie de 3744 pacientes de acuerdo al subtipo inmunohistoquímico. Entre las mujeres con tumores con receptores RE positivo o RP positivo y HER2 negativo o también llamado cancer luminal A (2625 pacientes), hubo una descenso constante en la supervivencia a los largo del tiempo. Mujeres con tumores con RE positivo y HER2 positivo o cáncer luminal B (222 pacientes), tuvieron una caída más pronunciada y prolongada que las mujeres con cáncer luminal A. Las mujeres con tumores con RE negativo, RP negativo y HER2 positivo (258 pacientes) tuvieron una tasa de supervivencia uniformemente baja (debido a que estas pacientes no recibieron trastuzumab, su tasa de supervivencia es inferior a cualquier cohorte actual de pacientes). Las 639 mujeres con cáncer de mama triple negativo se dividieron en 2 grupos - aquellas que expresaron marcadores basales (citoqueratina 5 o EGFR, fenotipo basal central; 336 pacientes) en las que el resultado fue pobre y en aquellas en quienes estuvo ausente la expresión de dichos marcadores estuvo ausente (303 pacientes) y los resultados no fueron diferentes a los encontrados en pacientes con cáncer luminal A. Fuente: Adaptado de Foulkes WD. Germline BRCA1 Mutations and a Basal Epithelial Phenotype in Breast Cancer. *CancerSpectrum Knowledge Environment*. 2003;95(19):1482-1485

Después de 10 años, la recurrencia es más probable entre las pacientes en tumores con RE-positivos que los pacientes con RE-negativos (Figura 4). Por tanto, aunque como grupo los tumores triple negativo y basal-like son biológicamente más agresivos, muchos de ellos son potencialmente curables, lo que refleja su heterogeneidad.^{5,6}

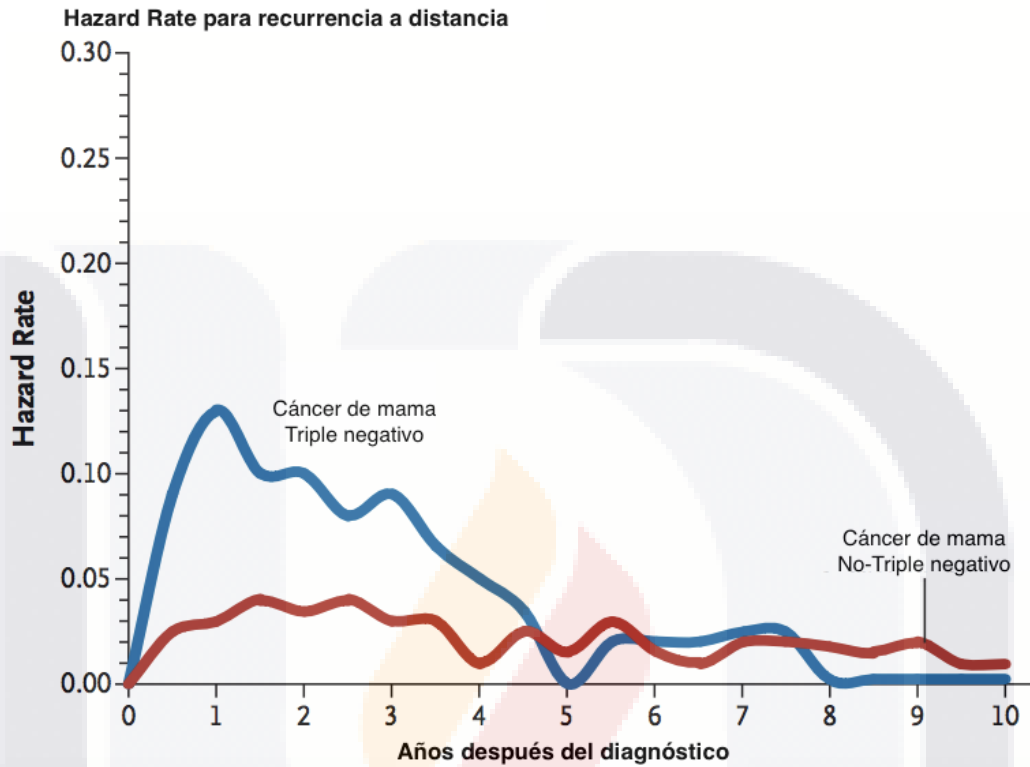


Figura 4: Supervivencia después del diagnóstico de cáncer de mama. El hazard rate para la recurrencia a distancia en cáncer de mama triple negativo y cáncer de mama no-triple negativo. Fuente: Adaptado de Foulkes WD. Germline BRCA1 Mutations and a Basal Epithelial Phenotype in Breast Cancer. CancerSpectrum Knowledge Environment. 2003;95(19):1482-1485.

La quimioterapia es el pilar del tratamiento sistémico, sin embargo las pacientes con enfermedad triple negativo tienen una menor respuesta en comparación con otros subtipos de cáncer, lo que refleja un pronóstico desfavorable para la enfermedad. La quimioterapia neoadyuvante resultó bastante efectiva en un grupo de mujeres con cáncer triple negativo que tuvieron respuesta patológica completa, y por lo tanto, un resultado excelente (Figura 5), en contraste con la mayoría de las mujeres de este grupo que presenta enfermedad residual después del tratamiento, lo que sugiere que existe un subgrupo de pacientes cuyos tumores son extremadamente sensibles a la quimioterapia, no obstante, aún existe un porcentaje de mujeres para quienes la quimioterapia tiene un beneficio incierto.⁷

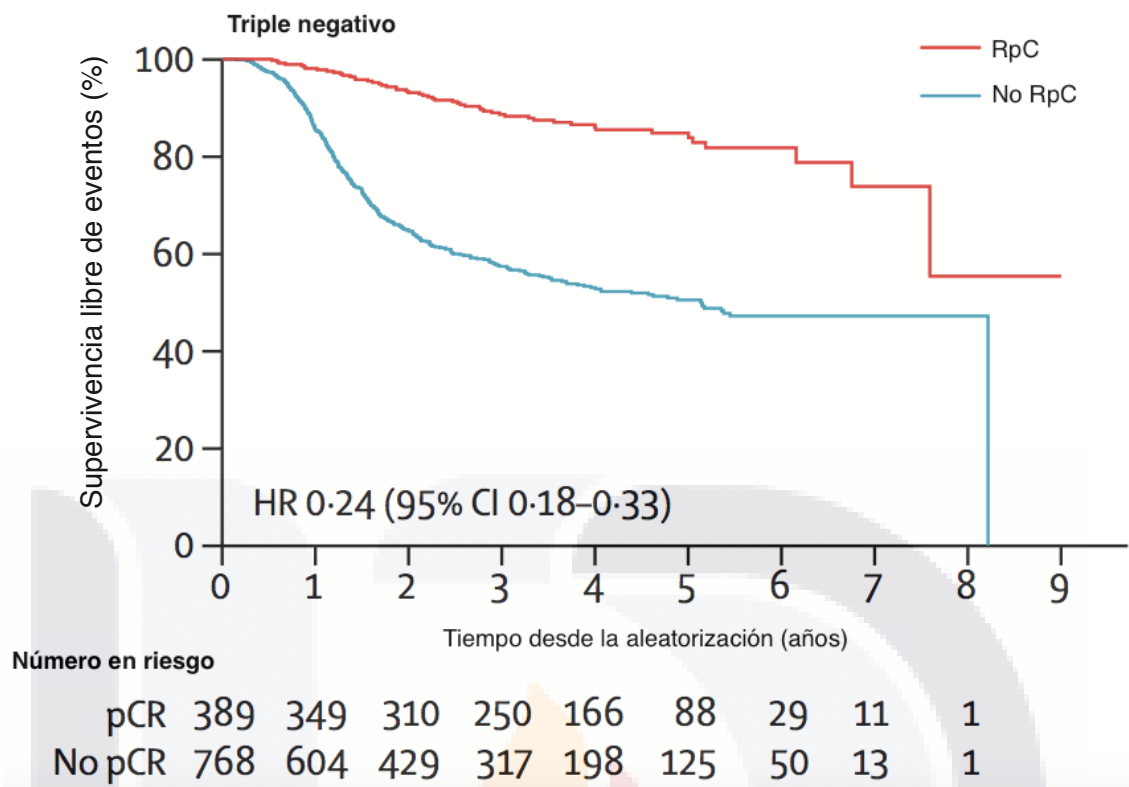


Figura 5. Asociación entre RpC y supervivencia libre de eventos por subtipo de cáncer.
RpC: respuesta patológica completa. HR: hazard ratio

En 2015, Schmid et al, iniciaron un ensayo clínico fase III multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, (IMpassion130) de atezolizumab, un anticuerpo monoclonal humanizado que se une directamente a PD-L1, en combinación con nab-paclitaxel comparado con nab-paclitaxel, en 902 pacientes con cáncer de mama triple negativo metastásico como primera línea. Los resultados anunciados al día de hoy demuestran un aumento en la supervivencia libre de progresión de manera significativa, en aquellas pacientes con PD-L1 positivo que recibieron la combinación de atezolizumab y nab-paclitaxel. La supervivencia global es alentadora en la población con PD-L1 positivo en el análisis actual, el seguimiento continuará hasta abril 2020. Este es el primer estudio fase III que demuestra un beneficio clínico con la combinación de un anti-PD-L1 como parte de un régimen de tratamiento, ya que los otros estudios evaluaban esta combinación pero en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas.⁸

Más tarde se inició el ensayo clínico fase II Keynote-086, en el cual se evaluaba pembrolizumab, un inhibidor anti-PD-1, en monoterapia como primera línea de tratamiento en pacientes con cáncer de mama metastásico. Para la cohorte B, la cual contaba con PD-L1 positivo y no había recibido tratamiento sistémico previo. En resultados preliminares de los 84 pacientes que pertenecían a esta cohorte, se

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

observó que la respuesta objetiva se mantuvo en el 23% y la duración de la respuesta fue de 10.4 meses, la supervivencia global media fue alentadora a los 19.1 meses.⁹

En los estadios II y III de la enfermedad, el tratamiento sistémico neoadyuvante es una opción de manejo efectivo, ya que alcanzar la respuesta patológica completa representa un aumento en la supervivencia,¹⁰ por lo mismo y debido a la seguridad y beneficios clínicos mostrados por estos fármacos, rápidamente se han estudiado como tratamiento neoadyuvante. Actualmente se encuentra en marcha un ensayo clínico fase III (NeoTRIPaPDL1), el cual evalúa la eficacia de atezolizumab en combinación con quimioterapia. Este es un ensayo clínico donde se aleatorizan a mujeres con cáncer de mama triple negativo localmente avanzado, candidatas a quimioterapia neoadyuvante en combinación con nab-paclitaxel y carboplatino con o sin atezolizumab, donde el objetivo primario es la supervivencia libre de eventos. Los resultados de este estudio ayudarán a definir el papel de la inmunoterapia durante la neoadyuvancia,¹¹ Como éste, tres estudios más actualmente se encuentran reclutando pacientes para el mismo fin en neoadyuvancia.

Los resultados obtenidos a la fecha son impresionantes, por primera vez se ha documentado un beneficio en la supervivencia libre de progresión en población con cáncer de mama triple negativo, mismo que nunca se había alcanzado con ningún otro agente de quimioterapia por sí solo. Definitivamente estos resultados nos indican seleccionar adecuadamente a las pacientes candidatas a este tratamiento y esta selección deriva de la expresión de PD-L1, por tanto hemos identificado un posible biomarcador de respuesta a tratamiento.

Ya con anterioridad Topalian et al,¹² analizaron la expresión de PDL-1 en 42 muestras de pacientes con diferentes tipos de neoplasias antes del tratamiento con anticuerpos anti-PDL-1, 25 de los 42 pacientes expresaron PDL-1. De estos 25 pacientes, 9 (36%) tuvieron una respuesta objetiva a la inmunoterapia. Ninguno de los 17 pacientes con tumores PD-L1 negativos tuvo una respuesta objetiva. Aunque esos resultados se documentaron de manera preliminar y sin significancia estadística, apoyan la hipótesis de que la expresión de PDL-1 podría ser un biomarcador predictivo y ayudar a seleccionar aquellos pacientes candidatos a recibir terapia anti-PD-1/PD-L1.

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Generalidades

El cáncer de mama es uno de los tres tumores más comunes a nivel mundial. El cáncer de mama detectado en etapas tempranas es considerado como potencialmente curable. El tratamiento ha progresado de manera trascendental en los últimos años, tanto en el manejo locorregional como sistémico, evitando el sobretratamiento. La terapia sigue un propósito curativo y lleva consigo un entorno multidisciplinario tomando en cuenta el subtipo molecular y la carga tumoral. A diferencia de algunos años atrás, la cirugía convencional primaria ya no es de primera elección para todas las pacientes. Dependiendo del subtipo de tumor la terapia incluye terapia endocrina, moléculas anti-HER2 y quimioterapia. En cáncer de mama triple negativo y HER2 sobreexpresado, la terapia neoadyuvante en etapas tempranas, se ha convertido en la primera opción. En cáncer metastásico el objetivo será prolongar la supervivencia y mantener la calidad de vida.¹³

1.2 Epidemiología

El cáncer de mama es la neoplasia más común en las mujeres y uno de los tres tumores más comunes a nivel mundial junto con el cáncer de pulmón y de colon. En el 2012 casi 1.7 millones de personas fueron diagnosticadas con cáncer de mama y 522,000 pacientes fallecieron por dicha enfermedad a nivel mundial. Una de cada ocho mujeres será diagnosticada con cáncer de mama a lo largo de su vida. Debido a la detección temprana y las terapias sistémicas eficientes la mortalidad ha disminuido considerablemente en América del Norte y Europa. Sin embargo en países en vías de desarrollo la incidencia y mortalidad ha incrementado probablemente debido a los cambios en el estilo de vida y la falta de acceso a los servicios de salud. En México es la neoplasia más frecuente en mujeres y la segunda causa de muerte en mujeres entre 30 a 50 años de edad, si bien el acceso en nuestro país es eficiente, todavía no se ha logrado mejorar la detección temprana, lo que representa un problema de salud pública para el control de la enfermedad.^{13, 14}

1.2.1 Factores de riesgo

1.2.1.1 No genéticos y no modificables

Edad

La incidencia y mortalidad del cáncer de mama incrementa proporcionalmente con la edad, tiene un pico a los 60 años de edad y un descenso a los 40 años, con algunas excepciones, por ejemplo en América Latina, el 20% - 30% se diagnostica entre los 20 y 40 años de edad.

Raza

En general la incidencia es discretamente menor en mujeres afroamericanas que en aquellas de raza blanca, sin embargo la tasa de mortalidad es más alta en mujeres afroamericanas, en ellas se presenta la mayor proporción de cáncer de mama con sobreexpresión de Her2 en comparación con otras razas. En contraste, las mujeres asiáticas, son menos propensas a consumir alcohol y tienen tasas más bajas de obesidad, ambas asociadas con un menor riesgo de cáncer de mama.

Menarca temprana/Menopausia tardía

El riesgo de cáncer de mama es un 20% más alto en mujeres que presentaron una menarca antes de los 11 años en comparación con aquellas que comenzaron a los 13 años. Las mujeres que experimentan una menopausia por encima de los 55 años edad tienen un riesgo mayor aproximado del 12% comparado con aquellas que la presentaron entre los 50 - 54 años. Lo que sugiere que tanto la síntesis ovárica de hormonas endógenas, como la prolongación del número total de años reproductivos desempeñan un papel importante en el desarrollo de cáncer

Características de la mama

Las mujeres con antecedente de carcinoma ductal in situ, así como carcinoma lobulillar in situ por biopsia tienen 8-10 y 7-12 veces más riesgo, respectivamente, de desarrollar cáncer invasivo en comparación con mujeres sin diagnóstico previo. Otra asociación que incrementa el riesgo son las lesiones con atípia como la hiperplasia ducal atípica y la hiperplasia lobulillar atípica que se asocian con un un riesgo de hasta de 1.5-2 veces más que aquellas lesiones proliferativas sin atípia (hiperplasia ductal y fibroadenoma).

Finalmente un tejido mamario denso incrementa el riesgo de cáncer de mama, además, una mama más densa afecta la detección mamográfica del cáncer de mama.

1.2.1.2 No genéticos y modificables

Patrón reproductivo

Mujeres nuligestas, el embarazo a término después de los 30 años de edad, la menor duración de la lactancia materna y la contracepción hormonal se han asociado con un incremento en el riesgo de padecer cáncer de mama.

La multiparidad es, en general, una característica de protección. Cada embarazo reduce un 12% el riesgo de cáncer de mama postmenopausia. Aquellas mujeres que tuvieron un primer parto después de los 35 años un riesgo de 1.26 de desarrollar la enfermedad dentro de los 5 años posteriores al parto, mismo que 15 años después era menor que el de las pacientes nulíparas.

La lactancia reduce en general el riesgo un 4% por cada 12 meses de lactancia.

Terapia hormonal

La combinación de estrógeno y progestina vs únicamente estrógeno incrementa el riesgo de desarrollar cáncer de mama, mismo se se relaciona directamente con su uso prolongado y cuando éste inicia antes de la menopausia. Este riesgo parece ser temporal y regresa a su basal después de 5 años de suspendido el tratamiento.

Tabaco

El riesgo se incrementa cuando las mujeres fuman previo a la menopausia y el mayor riesgo se ve aumentado en mujeres que iniciaron antes del primer embarazo. Algunos estudios han demostrado que en aquellas mujeres que fuman después de la menopausia el riesgo de cáncer de mama disminuye de manera significativa, esto debido al efecto antiestrogénico del tabaco.

Alcohol

Algunos estudios han demostrado una relación dosis dependiente y otros una relación de dosis acumulada en periodos de largo tiempo. Más concretamente un consumo de 5-9.9 g/día se asoció con un aumento de hasta un 10% del riesgo. El mecanismo probablemente esté relacionado con la capacidad del alcohol para aumentar los estrógeno en sangre.

Ejercicio y nutrición

La asociación del índice de masa corporal elevado y el riesgo de cáncer de mama dependen del estado menopáusico. La obesidad parece tener un efecto protector en el desarrollo de cáncer de mama premenopáusico, esto probablemente ovacionado por la falta de ovulación que comúnmente experimentan las mujeres con sobrepeso y obesidad. Por el contrario existe un mayor riesgo de cáncer en pacientes en la potmenopáusia y con sobrepeso (1.5 veces más) y obesidad (2.1 veces más). Esto se explica por los altos niveles de estrógeno circulantes liberados del tejido adiposo. Además, la mujeres con estas características padecen frecuentemente de diabetes mellitus tipo 2, un factor de riesgo independiente para desarrollo de cáncer de mama.

1.2.1.3 Factores de riesgo genéticos

Las mujeres con historia familiar de cáncer de mama tienen mayor riesgo de desarrollar la enfermedad, especialmente si la edad de diagnóstico fue antes de los 40 años de edad. El riesgo de recurrencia en mujeres con diagnóstico arriba de los 40 años es de 1.5 veces comparado con 4.5 veces en aquellas mujeres diagnosticadas antes de los 40 años.

El cáncer de mama hereditario comúnmente es causado por mutaciones genéticas en uno o dos genes BRCA (BReast Cancer), además de que se relaciona con cáncer en otros órganos como ovario, páncreas y próstata. Aproximadamente un 3% de los cánceres de mama se asocian a esta mutación. Las mujeres que presentan esta mutación generalmente desarrollan la enfermedad a los 70 años de edad, 65% asociada a BRCA1 y 45% asociada a BRCA2. Se ha observado que aquellas pacientes con familiares cercanos que tienen cáncer triple negativo, cáncer de mama en la premenopausia, cáncer de ovario, cáncer de mama bilateral o múltiples familiares con cáncer de mama es común que presenten mutaciones en BRCA1 y BRCA2.^{15,16}

1.3 Síntomas y diagnóstico

El cáncer de mama se presenta de manera subclínica en las etapas iniciales y los tumores localmente avanzados representan el 70% de las etapas clínicas al momento del diagnóstico, donde el síntoma más común es la presencia de una masa palpable e indurada, otros posibles síntomas que se presentan son edema, ulceración, cutánides, afección de ganglios supra e infraclaviculares, retracción y secreción por el pezón.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

El diagnóstico se realiza en base a un autoexamen mamario mensual a partir de los 18 años, siete días después de terminada la menstruación, un examen clínico mamario anual a partir de los 25 años, mastografía anual de tamizaje la mujer asintomática a partir de los 40 años y ultrasonido mamario en menores de 35 años con patología mamaria.¹⁷

El uso generalizado de la mastografía ha aumentado la detección oportuna de cáncer de mama, sin embargo de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2012, sólo el 15% de las mujeres entre 40 - 49 años de edad se realizó mastografía como método de tamizaje y 26% de las mujeres entre 50 - 69 años de edad.¹⁸

El tamizaje en una mujer de 40 años es controvertido, éste debe ser individualizado, si no existen factores como antecedentes familiares de cáncer de mama o de una lesión premaligna en una biopsia que pudieran incrementar el riesgo pudiera diferirse ya que la mastografía se ha asociado un riesgo relativo de 0.85 (95% IC 0.79 a 0.99) de muerte por cáncer de mama. Sin embargo, varios metaanálisis que incluyen mujeres entre 40-49 años de edad han demostrado que el tamizaje reduce significativamente la mortalidad por cáncer de mama hasta un 15 a 20%. En base a ensayos aleatorizados que muestran una reducción del 14 al 32% en la mortalidad por cáncer de mamá en mujeres entre 50-69 años de edad con la mastografía anual, ésta se recomienda para este grupo de edad. No existen ensayos aleatorizados en mujeres de 70 años de edad o mayores, por lo que el tamizaje debe ser individualizado en base a la esperanza de vida y la decisión de la paciente.¹⁹

1.4 Diagnóstico histopatológico

El diagnóstico confirmatorio se hace a través del análisis histológico de la mama, los métodos más comunes para obtener muestras son la punción-aspiración con aguja fina, la biopsia por punción con aguja gruesa y la biopsia quirúrgica, cada una de ellas tiene sus indicaciones, ventajas y desventajas.

Además de tipo histológico es importante la determinación del grado histológico, la presencia de necrosis, el grado de infiltración del tumor y las características inmunohistoquímicas del mismo.

1.4.1 Clasificación por inmunohistoquímica

Los receptores hormonales (estrógenos y progesterona) y la sobreexpresión de la proteína HER-2 son factores pronósticos y predictivos indispensables en el cáncer de mama, la determinación de éstos se realiza por inmunohistoquímica, un 50-80% de los carcinomas mamarios expresan receptores de estrógenos (RE) siendo más frecuentes en mujeres postmenopáusicas. Las mujeres con receptores hormonales positivos tienen un pronóstico ligeramente mejor que el de las mujeres con receptores hormonales negativos. La decisión de recomendar un tratamiento hormonal adyuvante se basa en la detección de los receptores hormonales en el tumor y un 10-20% de células tumorales positivas en una biopsia se define como positividad de los receptores hormonales, aunque se ha visto el 1% de células débilmente positivas mejoran significativamente la supervivencia libre de enfermedad si se trata con tamoxifeno, cuyo beneficio se incrementa cuando el tiempo se prolonga durante 5 años, reduciendo un 50% la tasa anual de recidivas y 28% la mortalidad.

La sobreexpresión de HER2, que codifica para una glucoproteína transmembranal que interviene positivamente en el control del crecimiento celular, se encuentra en el 20-30% de los carcinomas mamarios, la importancia de la evaluación de ésta radica en la respuesta al tratamiento dirigido con el trastuzumab, un anticuerpo monoclonal dirigido contra células tumorales que expresan la proteína HER2, lo que logra la reducción del tumor en hasta un 40% respecto a las pacientes que no reciben el tratamiento.²⁰

1.4.1.2 Cáncer de mama triple negativo

El cáncer de mama triple negativo se caracteriza por la ausencia de receptores de estrógeno (RE), progesterona y expresión de HER-2, mientras que el cáncer de tipo basal en inglés basal-like es un subtipo de cáncer de mama el cual comprende un grupo heterogéneo de tumores caracterizados por la ausencia o bajos niveles de la expresión de receptores de estrógenos, una baja sobreexpresión de HER 2 y expresión de genes que generalmente se encuentran en células basales o miepiteliales de la mama.

Debido a que la mayoría de los tumores basal-like también son tumores triple negativo y la mayoría de los tumores triple negativo (aproximadamente 80%) son también

tumores basal-like se ha considerado que ambos genotipos son sinónimos, pero por datos clínicos, microarreglos e inmunohistoquímica, no se demuestra lo mismo.

Los tumores triple negativo y basal-like representan aproximadamente el 15% de todos los cánceres de mama invasivos y por lo general tienen un alto grado histológico. Ocurren con más frecuencia en mujeres afroamericanas e hispanas jóvenes. Más del 75% de los tumores que se presentan en mujeres portadoras de una mutación en el gen BRCA1 tienen un genotipo triple negativo, basal-like o ambos.⁵

1.5 Clasificación TNM

Una vez confirmado el diagnóstico histológico de cáncer de mama es necesario un estudio de extensión para de esta manera establecer el estadio tumoral por medio de la clasificación TNM (Tabla 1), calcular factores pronósticos y planificar una estrategia individualizada de tratamiento.

Estadificación			
Estadio	T	N	M
0	Tis	N0	M0
IA	T1 (incluye T1 mi)	N0	M0
IB	T0	N1mi	M0
	T1 (incluye T1 mi)	N1mi	M0
IIA	T0	N1	M0
	T1 (incluye T1 mi)	N1	M0
IIB	T2	N0	M0
	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0	N2	M0
	T1 (incluye T1 mi)	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
IIIB	T3	N2	M0
	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
IIIC	Cualquier T	N3	M0
IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

Tabla 1. Estadificación TNM

1.6 Inmunología del cáncer

1.6.2 Carcinogénesis

La carcinogénesis se origina a partir de mutaciones, éstas le confieren a la célula la capacidad de dividirse a una tasa mayor y crear clones que conservan esta mutación. Las células subsecuentes y diversas mutaciones permiten generar nuevos clones. Cuando se desarrollan estos clones tumorales, normalmente son detectados y eliminados por mecanismos inmunológicos (vigilancia inmunológica) que incluye el sistema inmune innato (monocitos, macrófagos, células natural killer) y adaptativo (inducción de linfocitos T y B). Cualquier falla en la inmuno-vigilancia podría explicar la mayor incidencia de ciertos tipos de tumores en individuos inmunocompetentes.²¹

Un principio fundamental de la inmunología tumoral en general y de la vigilancia inmunológica del cáncer en particular es que las células neoplásicas expresan antígenos que los diferencian de sus contrapartes no transformadas.²²

El sistema inmune elimina las células tumorales, ya que expresan un patrón proteico distinto al expresado por las células normales. Estas proteínas actúan como ligandos que activan al sistema inmune innato o como antígenos que activan al sistema inmune adaptativo. El reconocimiento de las células tumorales no resulta sencillo, ya que por ser células del mismo individuo, existe un grado de inmunotolerancia. Además, por inestabilidad genómica, las células tumorales cambian constantemente su perfil antigénico, hecho que también se acompaña de la sobreexpresión de citoquinas y quimiocinas, actuando como inmunomoduladores y regulando el microambiente y favoreciendo el reclutamiento de células inflamatorias supresoras, incluidos los linfocitos T reguladores (Treg) y células sucesoras derivadas de la línea mieloide (MDSCs)), ambas pueden suprimir las acciones de del sistema inmune y regulando la neovascularización.^{22,23}

1.6.3 Iniciación de la inmunidad contra el cáncer

Los tumores desencadenan respuestas inmunitarias mediadas por linfocitos T, éstos son los principales mediadores de la inmunidad antitumoral, lo que ha llevado a realizar esfuerzos para aumentar las respuestas de los linfocitos T para la inmunoterapia de las neoplasias.

1.6.3.2 El ciclo cáncer-inmunidad (Figura 6)

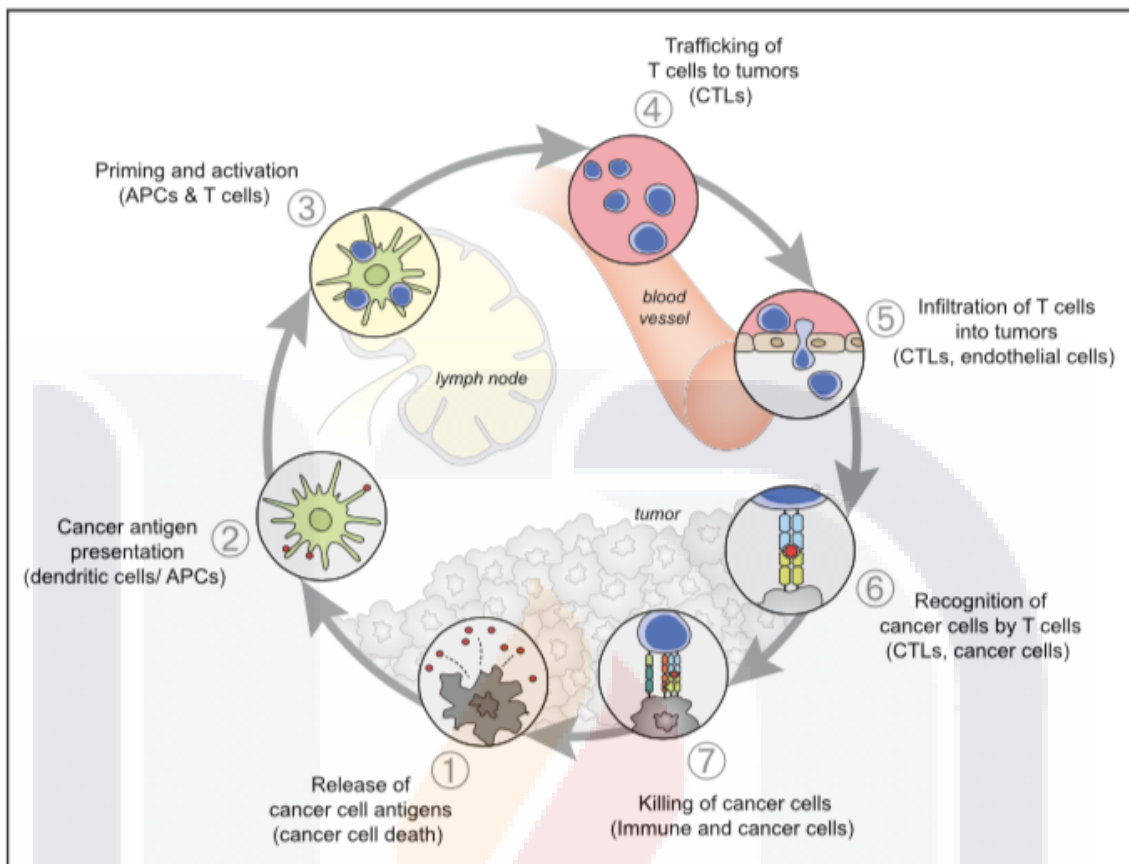


Figura 6. El ciclo cáncer-inmunidad

Fuente: Chen Daniel S, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* (2013) 39(1): 1–10.

Paso 1: Liberación de antígenos de las células neoplásicas

Los neoantígenos generados por la oncogénesis son liberados y capturados por las células dendríticas para ser procesados. En la vía endógena los antígenos son encapsulados en fagosomas, una vez en el citosol, son degradados por los proteosomas en fragmentos de péptidos que son ligados al CMH clase I y transportados a la superficie celular para posteriormente ser presentados a las células T CD8 citotóxicas. En la vía exógena, las células presentadoras de antígeno toman proteínas intracelulares, que han sido liberadas por células dañadas, para unirlos al CMH y formar complejos en la superficie celular, que son presentados a las células T CD4 cooperadoras.

Para que este paso produzca una respuesta por las células T contra las células neoplásicas, debe acompañarse de señales que no induzcan tolerancia inmunológica

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

periférica. Esas señales inmunológicas incluyen citoquinas proinflamatorias y factores liberados por las células tumorales.^{23,24}

Paso 2: Presentación del antígeno neoplásico

En el momento en el que las células dentríticas maduran presentan los antígenos proteínicos capturados en las moléculas del CMH clase I a las células T y expresan también coestimuladores.

Paso 3: Preparación y activación

Cuando el linfocito T reconoce los complejos péptido-CMH y recibe señales coestimuladoras concomitantes de las células dentríticas, se activa la respuesta de células T efectoras en los ganglios linfáticos contra antígenos proteínicos específicos de la célula neoplásica que se consideran como extraños o contra los cuales la tolerancia central ha sido incompleta.

Coestimulación

La proliferación y diferenciación de los linfocitos T requiere señales proporcionadas por moléculas situadas en las células presentadoras de antígeno (CPA) llamadas coestimuladoras y es la segunda señal para la activación del linfocito T. Esta coestimulación funciona junto con el antígeno. Sin la coestimulación, los linfocitos T que se encuentran con los antígenos no responden y mueren por apoptosis o entran a un estado de falta de reactivado llamado anergia.

La vía coestimuladora mejor caracterizada es aquella en la que interviene el receptor de superficie del linfocito T llamado CD28, que se une a las moléculas coestimuladoras B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86) expresadas en las CPA activadas.

El resultado de la activación del linfocito T está influido por un equilibrio entre la unión de los ligando a los receptores activadores e inhibidos de la familia CD28. Los receptores inhibidores son el CTLA-4 (antígeno del linfocito T citotóxico 4, del inglés cytotoxic T lymphocyte antigen 4) y PD-1 (muerte programada 1, del inglés programmed death 1). Por lo tanto CD28 y CTLA-4 constituyen un ejemplo de dos receptores que reconocen los mismos ligando (las moléculas B7), pero con funciones opuestas.

Paso 4: Migración de células T a las células tumorales

Los linfocitos T efectoras entran en la circulación.

Paso 5: Infiltración de las células T en el tumor

Estos linfocitos efectores se encuentran con los antígenos tumorales en los tejidos periféricos.

Paso 6: Reconocimiento de células neoplásicas por células T

Las células T reconocen específicamente las células tumorales y se unen a ellas a través del receptor de células T (RCT) y su antígeno de unión del CMH clase I.

Paso 7: Muerte de células neoplásicas

Los linfocitos T citotóxicos matan dianas que expresan el mismo antígeno asociado a clase I que desencadenó la proliferación y diferenciación de los linfocitos T CD8 vírgenes, de los cuales derivan y no matan células adyacentes no infectadas que no expresen el antígeno. Este linfocito T CD8 no resulta dañado durante el proceso de destrucción. Esta especificidad de la función efectora del CD8 asegura que no se destruyan las células normales. Esto ocasiona liberación de antígenos adicionales asociados al tumor (nuevamente paso 1) para aumentar la amplitud y la profundidad de la respuesta.

En pacientes con cáncer, el ciclo de inmunidad al cáncer no funciona de manera óptima. Los antígenos tumorales pueden no detectarse, las células dendríticas y las células T pueden tratar los antígenos como propios y no como extraños, creando así respuestas de células T reguladoras en lugar de respuestas efectoras, las células T pueden inhibir la infiltración del tumor o lo que es más importante, inhibir factores del microambiente tumoral que conlleva a la supresión de las células efectos que se producen.^{24,25,26}

1.6.4 Microambiente inflamatorio

Se define como una red de células, moléculas y citocinas que integran el tumor y que por lo general favorecen su promoción, crecimiento, y progresión, esto debido a señales supresoras del sistema inmune. El sistema inmune previene el establecimiento de un ambiente inflamatorio que facilite la carcinogénesis a través de la eliminación de patógenos.

Este microambiente inflamatorio se compone de las células tumorales, las células de respuesta innata (natural killer, mocitos, macrófagos, células dendríticas, células

supresoras derivadas de mieloides), linfocitos T (subpoblaciones Th1, Th2, Th17, T reguladores), linfocitos B; así como células estromales, endoteliales y epiteliales. Esta red está coordinada por señalizaciones moleculares como citocinas y quimocinas, que establecen una respuesta inflamatoria crónica y generan un estado de inmunosupresión favoreciendo la carcinogénesis, promoción y progresión del tumor.^{27,28}

1.6.5 Inmunoedición

La inmunoedición es un mecanismo superior extrínseco que se activa sólo después de que se haya producido la transformación celular y hayan fallado los mecanismos superiores intrínsecos.

Se realiza a través de tres fases: eliminación, equilibrio y escape. Los factores externos pueden influir en la direccionalidad del flujo (estrés ambiental, envejecimiento). Algunas células tumorales logran escapar de la eliminación y entran en una fase de equilibrio, se mantienen en latencia de manera indefinida a no ser que se presente alguna falla en el sistema inmunitario, entonces emergen clones que no son reconocidos y escapan del control y continúan proliferando.

En la fase de eliminación la inmunidad innata y adaptativa trabajan en conjunto para destruir los tumores en desarrollo antes de que se vuelvan clínicamente evidentes. Si esta fase se completa, el huésped permanece libre de cáncer. Sin embargo, si una variante de células cancerosas no se destruye en la fase de eliminación, puede entrar en la fase de equilibrio, donde se evita el crecimiento a través de mecanismos inmunológicos. Se requiere que las células T, IL-12 e IFN- γ mantengan las células tumorales en un estado de latencia funcional, mientras que las células NK y las moléculas que participan en el reconocimiento o la función efectora de las células de inmunidad innata no son necesarias; esto indica que el equilibrio es una función de la inmunidad adaptativa solamente.

La edición de la inmunogenicidad del tumor se produce en la fase de equilibrio. El equilibrio puede restringir el crecimiento excesivo de los cánceres ocultos durante toda la vida del huésped. Sin embargo, como consecuencia de la presión de selección inmune constante sobre las células tumorales genéticamente inestables mantenidas en equilibrio, pueden surgir variantes de células tumorales que (a) ya no son reconocidas por la inmunidad adaptativa (variantes de pérdida de antígeno o células de tumores que desarrollan defectos en el procesamiento del antígeno o presentación), (b)

volverse insensibles a los mecanismos efectores inmunes, o (c) inducir un estado inmunosupresor dentro del microambiente tumoral. Estas células tumorales pueden entonces entrar en la fase de escape, en la que su crecimiento ya no está bloqueado por la inmunidad. Estas células tumorales emergen para causar una enfermedad clínicamente aparente.²²

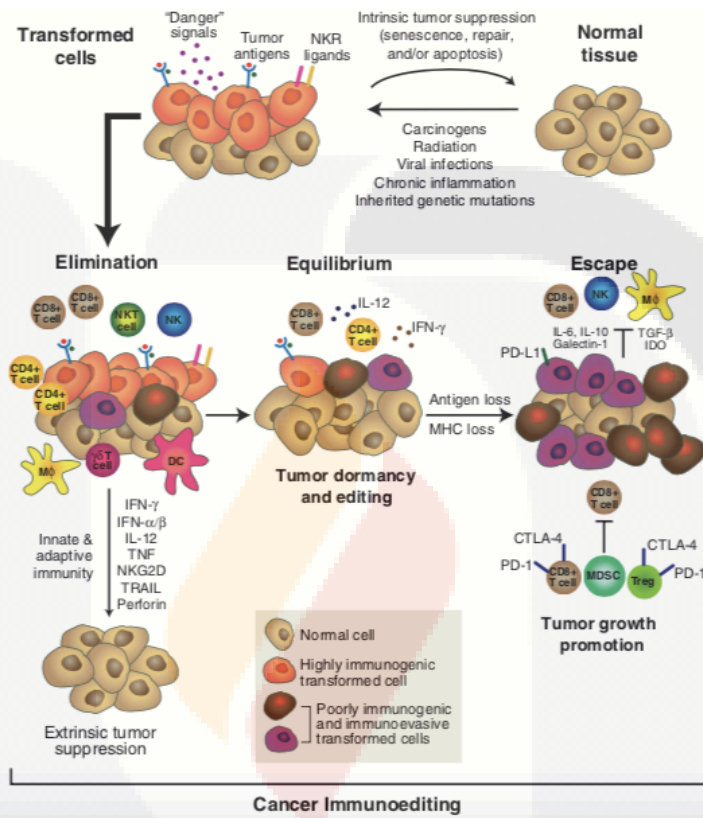


Figura 7. Inmunomodificación del cáncer

Fuente: Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunomodification: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* (2011) 331:1565–70.

1.7 Inmunoterapia

El desarrollo de la inmunoterapia ha alcanzado un importante punto de inflexión en la historia del tratamiento del cáncer.

El cáncer se caracteriza por la acumulación de un número variable de alteraciones genéticas y por una pérdida en los procesos de regulación celular. Se sabe que estos eventos dan como resultado la expresión de neoantígenos, que conducen a la presentación de péptidos unidos a moléculas del CMH clase I en la superficie de las células neoplásicas, lo que las distingue de las células normales. Estos complejos de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

péptido-CMH clase I, específicos del cáncer pueden ser reconocidos por las células T CD8. Sin embargo, a pesar de la respuesta de las células T, éstas son incapaces de proporcionar inmunidad protectora.

Estudios recientes han demostrado que una evasión en el bloqueo de los puntos de control inmunológico negativo (immune-checkpoints) durante la respuesta de las células T explica la falla en la protección inmune.

Los factores en el microambiente tumoral pueden actuar atenuando o desactivando la respuesta inmune de las células T, actuando como reguladores inmunes "immunostat", antes de que pueda producirse una muerte tumoral clínicamente relevante.

La coestimulación es considerada una terapéutica de interés en cáncer, argumentando que las señales coestimuladoras pueden proveer un importante medio para mejorar la respuesta inmune antitumoral.^{24,29}

1.8 Expresión de PD-1

PD-1 (también llamada CD279) es una proteína de muerte celular programada 1 de 288 aminoácidos, considerada miembro de la superfamilia B7-CD28. Además de expresarse en células T maduras activadas también se expresa en niveles bajos en células T negativas (CD4-, CD8-) en el timo, células T Natural Killer activadas, células B, monocitos y células inmaduras de Langerhans, sin embargo las propiedades bioquímicas y funcionales de PD-1 se han estudiado en las células T.

En condiciones fisiológicas, la función de PD-1 es inhibir la actividad de las células T efectoras y mejorar la función y el desarrollo de células T reguladoras, que inhiben las respuestas de las células T y evitan la sobre-estimulación de las respuestas inmunes en los tejidos periféricos, es decir, termina la respuesta inmune. La vía PD-1 puede proteger al huésped contra la autoinmunidad.³⁰

PD-L1 y PD-L2, los ligandos de PD-1, tienen distintos patrones de expresión. PD-L1 es expresado en niveles bajos en CPA, así como una amplia variedad de células no hematopoyéticas que incluyen células endoteliales vasculares, células de islotes pancreáticos y sitios de privilegio inmune como placenta, testículos y ojos. La expresión de PD-L1 es inducida por citocinas proinflamatorias, que incluyen interferones tipo I y tipo II, TNF- α y VEGF. PD-L2 se expresa en células dentríticas y

macrófagos después de la activación, y está regulado principalmente por las mismas citocinas que PD-L1.²⁵ En condiciones normales PD-L1 se expresa para mantener la homeostasis de la respuesta inmune. PD-L1 se encuentra sobreexpresado en células tumorales y promueve la evasión inmune y el crecimiento del tumor mediante la supresión de la respuesta de las células T.²⁶ La vía PD-1/PDL-1 actúa limitando, atenuando o incluso terminando la respuesta de las células T, previniendo la hiperactivación de éstas e induciendo tolerancia inmune (Figura 8).³¹

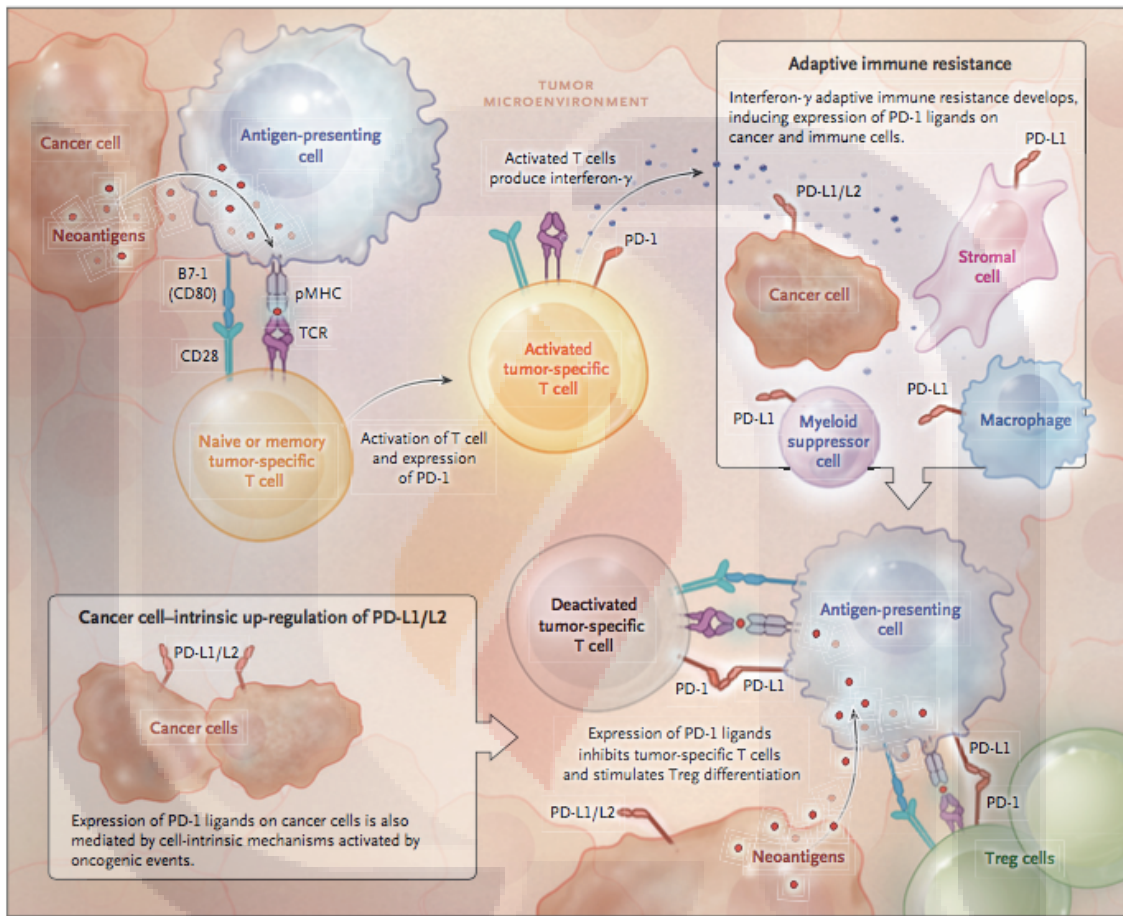


Figura 8. Inhibición de la función celular T específica- Tumor por la expresión de PD-1 y sus ligando en el microambiente tumoral.

PD-L1 funciona como un receptor inhibitorio para transmitir señales antiapoptóticas a las células tumorales. En el microambiente tumoral las células T, capaces de reconocer neoantígenos tumorales, producen interferón-γ, el cual puede inducir la expresión de ligandos de PD-1 en células tumorales, macrófagos, células estromales y células dendríticas, lo que sugiere que la respuesta inmune mediada por tumores inicia una ruta para la supresión inmune mediada por la expresión de PD-L1 y PDL-2. Este mecanismo, llamado "resistencia inmune adaptativa" es un proceso por el cual las tumorales se protegen del ataque del sistema inmune.

Fuente: Boussiotis VA. Molecular and biochemical aspects of the PD-1 checkpoint pathway. *N Engl J Med* (2016) 375(18):1767–78.

1.9 PD-L1 e inmunohistoquímica

La expresión de PDL-1 por inmunohistoquímica proporciona una variable continua en el que los niveles de expresión pueden oscilar entre 1 y 100%, sin un intervalo entre un resultado positivo y negativo. Existen varios ensayos clínicos que utilizaron diferentes niveles de expresión de PD-L1 como puntos de corte para estratificar subgrupos de pacientes. El grado de asociación entre la expresión de PD-L1 y respuesta al tratamiento varía entre diferentes tipos de tumores, líneas de tratamiento, sistemas de puntuación y puntos de corte que definen un resultado positivo. Además, la falta de expresión de PD-L1 generalmente es un predictor negativo de respuesta. Los estudios han establecido una asociación entre los niveles de expresión de PD-L1 en varios tipos de tumores, es decir, cuanto mayor sea es mejor.

A excepción del cáncer de pulmón de células no pequeñas metastásico, que requiere de PD-L1 como prueba complementaria para seleccionar pacientes para monoterapia con pembrolizumab (al menos del 50% para primera línea), las pruebas de PD-L1 no son necesarias para la prescripción en otros tipos de tumores. Sin embargo el nivel de expresión de PD-L1 podría proporcionar información sobre el grado de respuesta a tratamiento esperado y ayudar a evaluar la relación riesgo-beneficio a fin de indicar la mejor opción terapéutica. A la fecha la FDA ha aprobado la expresión de PD-L1 por inmunohistoquímica para cáncer de pulmón de células no pequeñas, melanoma y carcinoma urotelial.

Uno de los mayores retos para el patólogo es la interpretación y puntuación específica para cada indicación, que varía entre los tipos de fármacos y tumores. Una célula tumoral es positiva para la expresión de PD-L1 cuando hay una tinción parcial o completa de la membrana, independientemente de la intensidad de la tinción, excluyendo la tinción neurótica y citoplasmática de la célula tumoral. Deben estar presentes 100 células tumorales para la evaluación.

Al momento existen esfuerzos por identificar marcadores predictivos y la selección de pacientes con expresión de PD-L1 por inmunohistoquímica en cáncer de mama podría permitir el beneficio de la inmunoterapia dirigida contra PD-1/PD-L1.³²

CAPITULO II

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Hipótesis

El marcador PDL-1 es un factor predictor de respuesta al tratamiento neoadyuvante en cáncer de mama localmente avanzado.

2.2 Objetivo

Evaluar la expresión de PDL-1 como factor predictor de respuesta al tratamiento neoadyuvante en cáncer de mama localmente avanzado.

2.2.1 Objetivos específicos

- Medir la expresión de PD-L1 en el tumor inicial de las pacientes con cáncer de mama etapa II - III, sometidas a quimioterapia neoadyuvante en el Hospital Hidalgo.
- Establecer la correlación entre el marcador PD-L1 y la respuesta patológica completa contra la respuesta patológica parcial.

2.2.2 Objetivos secundarios

- Establecer el porcentaje de cirugías conservadoras de mama.
- Evaluar la expresión de PD-L1 con cada subtipo molecular.

CAPITULO III**MATERIALES, PACIENTES Y MÉTODOS****3.1 Tipo de estudio**

Estudio retrospectivo-cohorte, comparativo y longitudinal

3.2 Universo de estudio

Pacientes con diagnóstico de cáncer de mama localmente avanzado, quienes recibieron quimioterapia neoadyuvante y posteriormente cirugía en el Centenario Hospital Miguel Hidalgo, Aguascalientes.

3.3 Criterios de inclusión

- Mujeres mayores de 18 años de edad.
- Diagnóstico histológico de cáncer de mama.
- Cáncer de mama localmente avanzado; etapas II y III.
- Pacientes con información completa en el expediente clínico.

3.4 Criterios de exclusión

- Pacientes que no completaron esquema de quimioterapia neoadyuvante.
- Pacientes que decidieron no someterse a cirugía.
- Pacientes sin muestra de tejido para inmunohistoquímica

3.5 Selección de la muestra

Se calculó el tamaño de muestra por factores de riesgo, siendo $n = \text{número de factores de riesgo} \times 10$, $n=90$ pacientes.

3.6 Análisis estadístico

Estadística descriptiva

Se utilizó estadística descriptiva según el tipo de medición. Para las variables continuas se utilizó prueba de Kolmogorov Smirnov. Para la distribución normal se utilizaron medias y desviación estándar. En caso de distribución anormal se utilizó mediana e intervalo intercuartilar. Para las variables dicotómicas u ordinales se utilizaron frecuencias absolutas y relativas.

Estadística inferencial

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

La comparación entre los grupos se realizó según el nivel de medición. Para las variables continuas en caso de distribución normal se utilizó prueba T de student y en caso de distribución anormal prueba U de Mann Whitney. Para las variables dicotómicas u ordinales se utilizó Chi cuadrada. Un valor de p menor de 0.05 será considerado como significativo.

Se utilizará software Excel 2016 y Stata 11.1.

3.8 Implicaciones éticas

No fue necesario debido al diseño del estudio.



RESULTADOS

En las 50 muestras de mujeres con diagnóstico de cáncer de mama, encontramos que 26 de ellas pertenecían al subtipo luminal, 8 sobreexpresaban HER-2 y 16 fueron triple negativo (Tabla 2).

Características clínico patológicas de las pacientes			
Característica		n	%
		50	100 %
Edad	< 50 años	26	52
	≥50 años	24	48
Historia familiar de cáncer de mama	Sí	12	24
	No	38	76
Tabaquismo	Sí	12	38
	No	38	76
Consumo de alcohol	Sí	50	100
	No	0	0
Edad Menarca	< 11 años	0	0
	≥ 11 años	50	100
Edad Menopausia	< 55 años	22	44
	≥ 55 años	0	0
	No	28	56
Lactancia	Sí	38	78
	No	11	22
Nuliparidad	Sí	7	14
	No	43	86
Anticonceptivos	Sí	19	42.2
	No	26	57.8
Estadio	IIA	4	8
	IIB	15	30
	IIIA	11	22
	IIIB	16	32
	IIIC	4	8
Tipo histológico	Ductal	47	94
	Lobulillar	3	6
RE	Positivo	24	48
	Negativo	26	52
RP	Positivo	16	32
	Negativo	34	68
HER2	Positivo	11	22
	Negativo	39	78
Subtipo de tumor	Luminal A	23	46
	Luminal B	3	6
	HER-2 +	8	16
	Triple negativo	16	32
Tamaño de tumor residual	< 2 cm	11	22.0
	≥ 2 cm	18	36.0
	Sin tumor residual	21	42.0
Ganglio axilar residual	Sí	15	30
	No	35	70
Respuesta patológica	Parcial	34	68
	Completa	16	32
Cirugía conservadora	Sí	16	37
	No	34	63

Tabla 2. Características clínico patológicas de las pacientes

La respuesta patológica completa (RpC) se observó en 16 (32%) de 50 mujeres después de recibir tratamiento neoadyuvante, mientras que 34 de ellas sólo tuvieron respuesta patológica parcial (RpP). Notamos que la presencia de receptores de progesterona es un factor de riesgo para falla de respuesta a quimioterapia neoadyuvante (Tabla 3).

Respuesta patológica y características clínico patológicas				
Variable	Todos los pacientes n = 50	RpC n=16	RpP n=34	Valor de <i>p</i>
Edad, M (DE)	48.7 (11.4)	45.1 (12.7)	50.4 (10.5)	0.13
Historia familiar de cáncer de mama, n (%)	12 (24)	2 (12.5)	10 (29.4)	0.29
Tabaquismo, n (%)	12 (24)	4 (25)	8 (23.5)	1.00
Edad Menarca, M (DE)	12.8 (1.4)	12.5 (1.03)	13 (1.5)	0.31
Menopausia n (%)	22 (44)	5 (31.2)	17 (50)	0.24
Edad Menopausia, M (DE)	48.6. (3.8)	49.6 (2.5)	48.3 (4.2)	0.52
Lactancia, n (%)	38 (77.5)	13 (81.2)	25 (75.7)	1.0
Nuliparidad, n (%)	7 (14)	2 (12.5)	5 (14.7)	1.00
Anticonceptivos, n (%)	19 (42.2)	5 (33.3)	14 (46.3)	0.52
Estadio, n (%)				0.84
IIA	4 (8)	1 (6.2)	3 (8.8)	
IIB	15 (30)	5 (31.2)	10 (29.4)	
IIIA	11 (22)	5 (31.2)	6 (17.6)	
IIIB	16 (32)	4 (25)	12 (35.2)	
IIIC	4 (8)	1 (6.2)	3 (8.8)	
Tipo histológico, n (%)				
Ductal	47 (94)	16 (100)	31 (91.1)	0.54
Lobulillar	3 (6)	0.0	3 (8.8)	0.54
RE, n (%)	24 (48)	7 (43.7)	17 (50)	0.76
RP, n (%)	16 (32)	1 (6.2)	15 (44.1)	<0.01
HER2, n (%)	11 (22)	4 (25)	7 (20.5)	0.72
Subtipo de tumor, n (%)				
Luminal B	3 (6)	1 (6.2)	2 (5.8)	1.00
Luminal A	23 (46)	6 (37.5)	17 (50)	0.41
HER-2 sobreexpresado	8 (16)	3 (18.7)	5 (14.7)	0.69
Triple negativo	16 (32)	6 (37.5)	10 (29.4)	0.56
Expresión PD-L1 (1 - 50%), n (%)	15 (30)	4 (25)	11 (32.3)	0.74
PD-L1 + Luminal A, n (%)	2 (4)	0 (0)	2 (5.8)	1.00
PD-L1 + LuminalB	5(10)	1 (6.2)	4(11.7)	1.00
PD-L1 + Her 2	7(14)	2(12.5)	5 (14.7)	1.00
PD-L1 + Triple negativo	1 (2)	1 (6.2)	0(0)	0.32
Cirugía conservadora, n (%)	16 (32)	6 (37.5)	10 (29.4)	0.56

Tabla 3. Respuesta patológica y características clínico patológicas

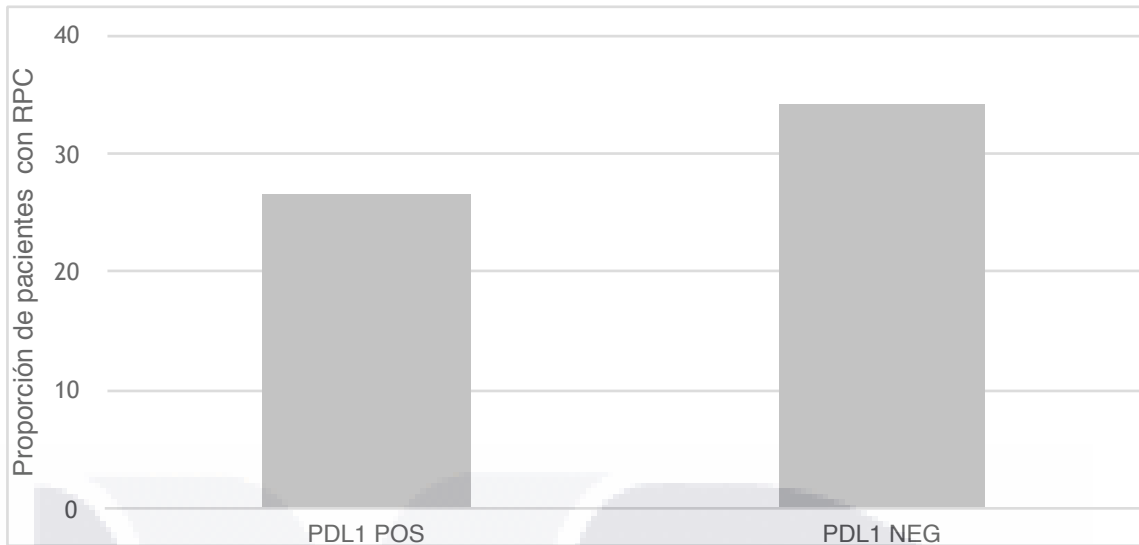
Los valores de corte por inmunohistoquímica para la expresión de PD-L1 fueron < 1%, 1 - 50% y > 50%, sin embargo, en todos los casos el Patólogo sólo se encontró expresión entre 1 - 50%.

Evaluamos la correlación entre el subtipo histológico y la expresión de PD-L1 y encontramos que aquellos subtipos de peor pronóstico, triple negativo y HER-2 puro tuvieron relación con la expresión de PD-L1, sin ser significativa ($p=0.19$ y $p=0.04$ respectivamente) (Tabla 4).

Subtipo Molecular	PD-L1 (+) (n= 15)	PDL1 (-) (n= 35)	Valor de p
<i>Luminal A, n (%)</i>	2 (13.3)	21 (60)	0.004
<i>Luminal B, n (%)</i>	1 (6.6)	2 (5.7)	1.0
<i>HER-2 sobreexpresado, n (%)</i>	5 (33.3)	3 (8.5)	0.04
<i>Triple negativo, n (%)</i>	7 (46.6)	9 (25.7)	0.19

Tabla 4. Asociación subtipo molecular / expresión PD-L1

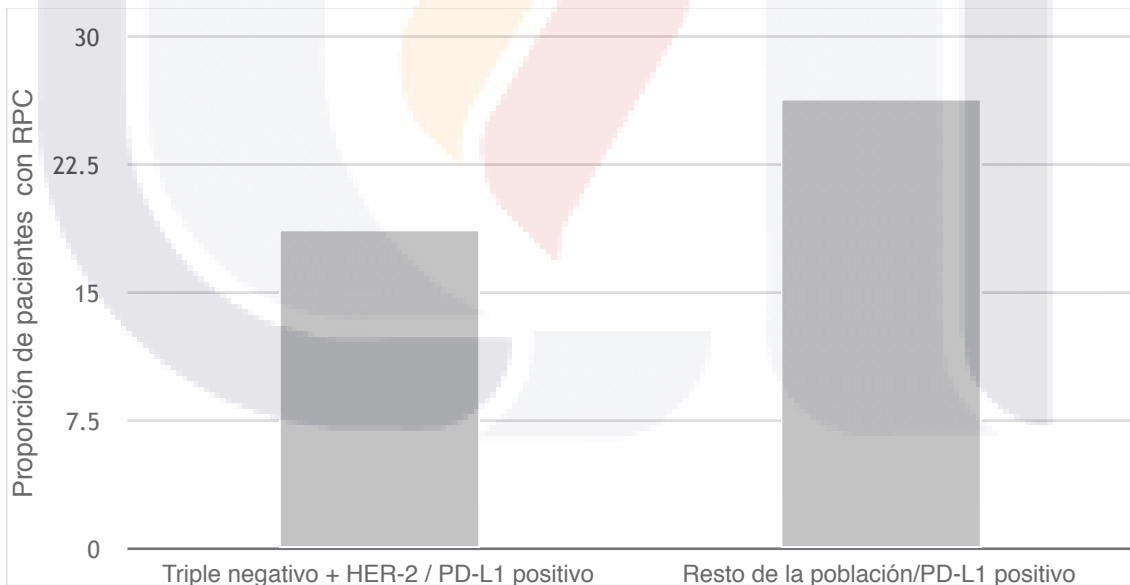
Dieciséis pacientes expresaron PD-L1, esta expresión no se asoció con RpC (25% de RpC en los casos de expresión vs 34.2% en el resto de los casos; $p=0.74$), de manera que no podemos confirmar que la expresión de PD-L1 es un factor predictivo de respuesta a quimioterapia neoadyuvante (Gráfica 1).



$p=0.74$

Gráfica 1. Respuesta patológica en pacientes con PD-L1 positivo y PD-L1 negativo

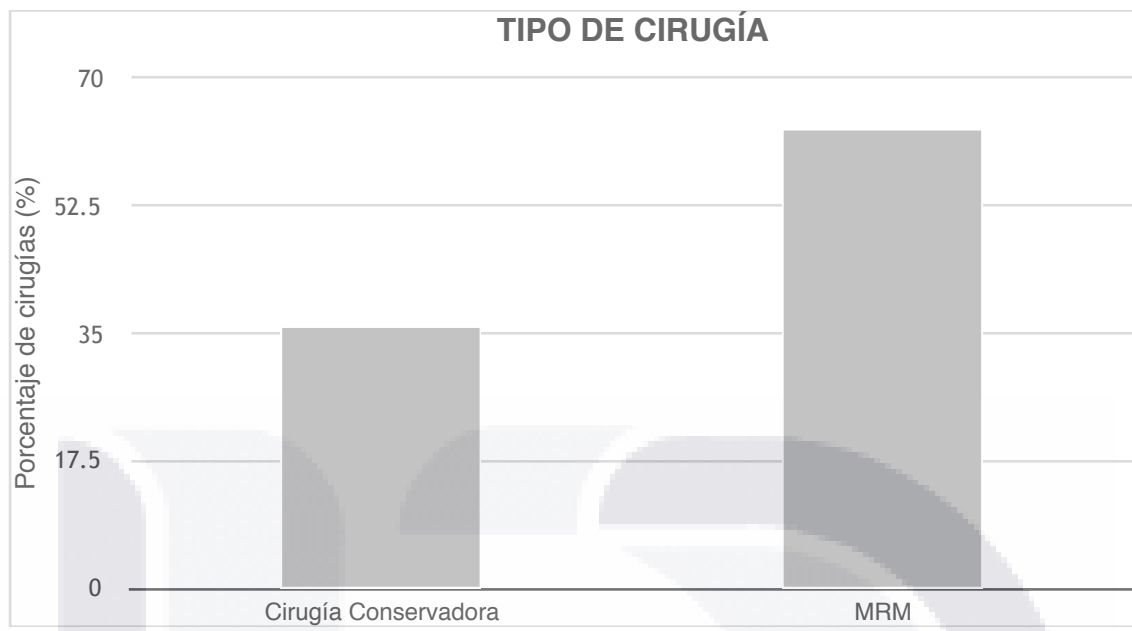
La RpC en los grupos HER-2 sobreexpresado y triple negativo que expresaron de PD-L1, no fue significativa pero si existe una tendencia (Gráfica 2).



$p=0.72$

Gráfica 2. Respuesta patológica completa en los subtipos triple negativo y HER-2 sobreexpresado que expresan PD-L1

El 37% de las mujeres fueron llevadas a cirugía conservadora de la mama, de éstas, el 43% tuvieron respuesta patológica completa posterior a la neoadyuvancia.



Gráfica 3. Porcentaje de cirugías conservadora y mastectomía radical modificada (MRM)

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Observamos que existe una tendencia en la correlación entre la RpC con los subtipos triple negativo y HER-2 sobreexpresado que expresaron PD-L1, lo que pudiera sugerir que PD-L1 es un factor predictivo de respuesta a quimioterapia, por lo que estos resultados podrían motivar la adición de inmunoterapia a esta población, sin embargo aunque existe una tendencia, esta expresión no está significativamente asociada.

Por otro lado, resulta interesante el hecho de observar que las pacientes con estos subtipos moleculares de mal pronóstico (HER-2 sobreexpresado y triple negativo), que normalmente responden a neoadyuvancia, no hayan tenido RpC por ser PD-L1 positivos, lo que se traduciría como un factor predictor negativo independiente de respuesta a quimioterapia y nos orientaría a declinar el tratamiento con neoadyuvancia e indicar tratamiento quirúrgico inicial en este grupo de pacientes. No obstante esta inferencia debe tomarse con cautela y concluirse una vez que la muestra para el estudio fuese suficiente.

Destaca el bajo porcentaje de cirugías conservadoras, lo que motiva a seleccionar y aumentar este número de pacientes, ya que la supervivencia es similar entre ambos tratamientos (mastectomía radical modificada con la cirugía conservadora), con un bajo porcentaje de recurrencia local, en etapas tempranas.

La principal limitación de nuestro estudio es que no contamos con el tamaño de muestra apropiado para ser concluyentes, sin embargo abre la puerta para continuar con la investigación y así fundamentar las inferencias aquí mencionadas.

CONCLUSIÓN

Se detecta una tendencia a la RpC en los subtipos HER-2 puro y triple negativo, PD-L1 positivos, sin embargo esta expresión no está significativamente asociada.

Como no podemos establecer que PD-L1 es un factor predictivo de respuesta a tratamiento, sí nos abre otras posibilidades, como suponer que estos pacientes de mal pronóstico y con expresión de PD-L1 pudieran no beneficiarse de neoadyuvancia.



REFERENCIAS

1. Xu F, Xu L, Wang Q, An G, Feng G, Liu F. Clinicopathological and prognostic value of programmed death ligand-1 (PD-L1) in renal cell carcinoma: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8:14595-14603.
2. Zhang Y, Kang S, Shen J, He J, Jiang L, Wang W, Guo Z, Peng G, Chen G, He J, Liang W. Prognostic significance of programmed cell death 1 (PD-1) or PD-1 ligand 1 (PD-L1) Expression in epithelial-originated cancer: a meta-analysis. *Medicine*. 2015; 94:e515.
3. Zhang M, Sun H, Zhao S, Wang Y, Pu H, Wang Y, Zhang Q. Expression of PD-L1 and prognosis in breast cancer: a meta-analysis. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, (No. 19), pp: 31347-31354.
4. Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, Adelaide J, Chaffanet M, Ali HR, Viens P, Caldas C, Birnbaum D and Bertucci F: Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer. *Oncotarget* 6: 5449-5464, 2015.
5. Foulkes WD. Germline BRCA1 Mutations and a Basal Epithelial Phenotype in Breast Cancer. *CancerSpectrum Knowledge Environment*. 2003;95(19):1482-1485.
6. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res* 2007;13:4429-34.
7. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, Bonnefoi H, Cameron D, Gianni L, Valagussa P, Swain SM, Prowell T, Loibl S, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet*. 2014; 384:164–172.ç
8. Adams S, Emens LA, Loi S, et al. IMpassion130: a phase III randomized trial of atezolizumab with nab-paclitaxel for first-line treatment of patients with metastatic triple-negative breast cancer (mTNBC). *J Clin Oncol*. 2016; 34(suppl; abstr TPS1104).
9. Adams, S., Loi, S., Toppmeyer, D., Cescon, D. W., De Laurentiis, M., Nanda, R., ... Schmid, P. (2017). Phase 2 study of pembrolizumab as first-line therapy for PD-L1–positive metastatic triple-negative breast cancer (mTNBC): Preliminary data from KEYNOTE-086 cohort B. *Journal of Clinical Oncology*, 35(15_suppl), 1088.
10. Fondazione Michelangelo. Neoadjuvant therapy in TRIple negative breast cancer with antiPDL1 (NeoTRIPaPDL1). Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02620280>. NLM Identifier: NCT02620280. Accessed November 3, 2015.

11. Omarini C, Guaitoli G, Pipitone S, et al. Neoadjuvant treatments in triple-negative breast cancer patients: where we are now and where we are going. *Cancer Management and Research*. 2018;10:91-103.
12. Topalian SL, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N. Engl. J. Med*. 2012;366:2443–2454.
13. Harbeck, N. & Gnant, M. Breast cancer. *Lancet* 389, 1134–1150; 2016.
14. Globocan 2012, International Agency for Research on Cancer Breast Cancer Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012.
15. Winters S, Martin C, Murphy D, Shokar NK. Chapter One: Breast Cancer Epidemiology, Prevention, and Screening. In: Lakshmanaswamy R, editor. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 151: Academic Press; 2017.
16. Consenso Mexicano sobre Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer Mamario. Séptima Revisión. *Rev Gamo* 2017.
17. Quinta Revisión del Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. *La Gaceta Mexicana de Oncología*. Noviembre 2013, Vol. 12, Supl. 3.
18. Romero MM, Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012.
19. Warner E. Breast-Cancer Screening. *N Engl J Med*. 2011;365:1025-1032.
20. Astudillo DH. Biomarcadores del cáncer de mama vs firmas genómicas: hacia la búsqueda de una terapia personalizada. *Re Mex Mastol* 2014;4(1):9-17.
21. Sánchez C. Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer. *Rev Med Clin Condes.* 2013; 24(4) 553-562.
22. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* (2011) 331:1565–70.
23. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646–674 (2011).
24. Yatim N, Cullen S, Albert ML. Dying cells actively regulate adaptive immune responses. *Nat Rev Immunol*. 2017; 17: 262-75.
25. Abbas A.K., Lichtman A.H., Pober J.S. *Cellular and Molecular Immunology*. 2015 8 Edition. Ed W.B. Saunders Co. U.S.A.
26. Chen Daniel S, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* (2013) 39(1):1–10.
27. Huang, Cao S, Tang L. The tumor microenvironment and inflammatory breast cancer. *Journal of Cancer*, vol. 8, no. 10, pp. 1884–1891, 2017.

28. Arango Md, Rodríguez C. Protagonismo del sistema inmune en el microambiente de los tumores malignos de la mama. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2016;32(2).
29. Bousiotis VA. Molecular and biochemical aspects of the PD-1 checkpoint pathway. N Engl J Med (2016) 375(18):1767–78.
30. Dong, Y., Sun, Q., and Zhang, X. (2017). PD-1 and its ligands are important immune checkpoints in cancer. Oncotarget 8, 2171–2186.
31. He C, Peng Q, Yang H, Yin L, Shi J, Zhang Y, Wang G. Increased Levels of Soluble Programmed Death Ligand 1 Associate with Malignancy in Patients with Dermatomyositis. The Journal of Rheumatology. 2018; 45:4.
32. Savic Prince S, Bubendorf L. Predictive potential and need for standardization of PD-L1 immunohistochemistry. Virchows Arch. 2018.

