

# Grado de infiltración linfocitaria tumoral al diagnóstico como factor pronóstico de recidiva en cánceres de mama de tipos moleculares rico en Her2 y triple negativo: Revisión Narrativa.

\*Correspondencia:

[yoncon88@gmail.com](mailto:yoncon88@gmail.com)

Departamento de posgrados, Facultad de ciencias médicas– Universidad Central del Ecuador. Av. Universitaria, Quito 170129. Teléfono 593 (09) 9601 4731

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

**Recibido:** 11 de Enero, 2022

**Aceptado:** 09 de Marzo, 2022

**Publicado:** 15 de Abril, 2022

**Editor:** Dra. Evelyn Valencia Espinoza.

## Membrete bibliográfico:

Yoncón R, Ochoa G. Grado de infiltración linfocitaria tumoral al diagnóstico como factor pronóstico de recidiva en cánceres de mama de tipos moleculares rico en Her2 y triple negativo: Revisión Narrativa. Rev. Oncol. Ecu 2022;32(2):71-85

ISSN: 2661-6653.

**DOI:** <https://doi.org/10.33821/596>

 Copyright Yoncón R, et al. Este artículo es distribuido bajo los términos de [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), el cual permite el uso y redistribución citando la fuente y al autor original.

Tumor infiltrating lymphocyte grade as prognostic factor of recurrence in molecular subtypes of breast cancer (triple negative and Her2): A narrative review.

**Ricardo Yoncón Romero**\*<sup>1</sup>, **Grecia Ochoa Alarcón**<sup>2</sup>

1. Posgrado de Anatomía Patológica – Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Central del Ecuador, Quito-Ecuador.
2. Servicio de Oncología– Hospital de Especialidades Carlos Andrade Marín, Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social, Quito-Ecuador.

## Resumen

El carcinoma de mama es una enfermedad común, con efectos negativos significativos en la salud predominantemente femenina. Los linfocitos infiltrantes al tumor (TILs) son una manifestación de la respuesta inmune del huésped al cáncer. Este estudio revisa y resume los reportes bibliográficos relacionados con la eficacia pronóstica del porcentaje alto de TILs en cánceres de mama de tipos moleculares rico en HER2 y triple negativo. Se incluyeron estudios y revisiones en inglés buscados en la base de datos PubMed. Un mayor nivel de TILs se corresponde con mejor supervivencia libre de enfermedad tanto en los cánceres triple negativo como los ricos en HER2; por tanto, constituye un marcador histológico que debería ser utilizado rutinariamente en los análisis microscópicos de biopsias de mama.

## Palabras claves:

**DeCS:** Neoplasias de la Mama; Linfocitos Infiltrantes de Tumor; Neoplasias de la Mama Triple Negativas; Receptor ErbB-2.

**DOI:** 10.33821/596

---

## Abstract

Breast cancer is a common disease affecting women, with significant health-related negative effects. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) are recognized as manifestations of the host's antitumor immunity. The following study reviews and summarizes reports on the effectiveness of prognosis of high levels of tumor-infiltrating lymphocytes on triple negative and HER2-enriched breast cancer molecular subtypes. Studies and reviews in English from Pubmed's database were included. A higher percentage of tumor-infiltrating lymphocytes is associated with better prognosis and survival rate of triple negative and HER2-enriched breast cancer. Consequently, such histological marker should be routinely used in the microscopic analysis of breast biopsies.

### Keywords:

**MESH:** Breast Neoplasms; Lymphocytes, Tumor-Infiltrating; Triple Negative Breast Neoplasms; Receptor, ErbB-2.

**DOI:** 10.33821/596

---

## Introducción

El carcinoma de mama es una enfermedad frecuente con efectos deletéreos en la salud predominantemente femenina. Mundialmente, comprende el 23% de los pacientes con cáncer y 14% de las muertes relacionadas a él [1]. Se trata de la lesión maligna más común en las mujeres en Guayaquil y Quito [2,3]; el tipo histológico más común es el adenocarcinoma ductal infiltrante, que se ha identificado en el 76% y 84% de los casos recopilados en Quito y Guayaquil, respectivamente [1,3].

En Latinoamérica existen pocos estudios que relacionan la respuesta linfocítica a cánceres de mama con pronóstico de supervivencia libre de eventos [4,5]. En otras partes del mundo se han publicado estudios que muestran que los pacientes con tipos moleculares de mal pronóstico (triple negativo y rico en HER2), cuando tienen aumento del porcentaje de linfocitos infiltrantes al tumor (TILs, por sus siglas en inglés), tienen mejor pronóstico de supervivencia [6,7].

La clasificación histórica del cáncer de mama se basa en la valoración histopatológica del tipo y del grado de diferenciación. Hoy es conocido que el cáncer de mama es una condición muy heterogénea [8,9]. La técnica más usada para determinar la estirpe molecular es la inmunohistoquímica. La expresión de receptores de estrógeno y progesterona (ER y PR respectivamente, por sus siglas en inglés) por las células tumorales determina el estado hormonal de la lesión y un potencial tratamiento endocrino [10]. Además, la sobreexpresión del receptor tipo 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) predice una potencial respuesta al Trastuzumab, un anticuerpo monoclonal humanizado [9, 11,12].

---

## Biomarcadores

Los biomarcadores son parámetros biológicos, medibles, cuantificables, detectables, que se obtienen a partir de una muestra biológica [13]. Existen biomarcadores de susceptibilidad, de diagnóstico, de monitoreo, de pronóstico y de predicción. Son críticos para el desarrollo racional de drogas y dispositivos médicos: esto ha hecho posible el concepto de medicina personalizada y de precisión [13,14].

Los biomarcadores se usan también para el diagnóstico de lesiones desafiantes, para diferenciar entre entidades benignas y malignas, tumores in situ e infiltrantes; para la subtipificación de ciertas lesiones y determinación del tejido primario de tumores menos diferenciados [11]. La técnica más utilizada para detectarlos es la inmunohistoquímica, frecuentemente usando grupos de marcadores epiteliales, linfoides y/o mesenquimales [9,10].

## Carcinoma de mama

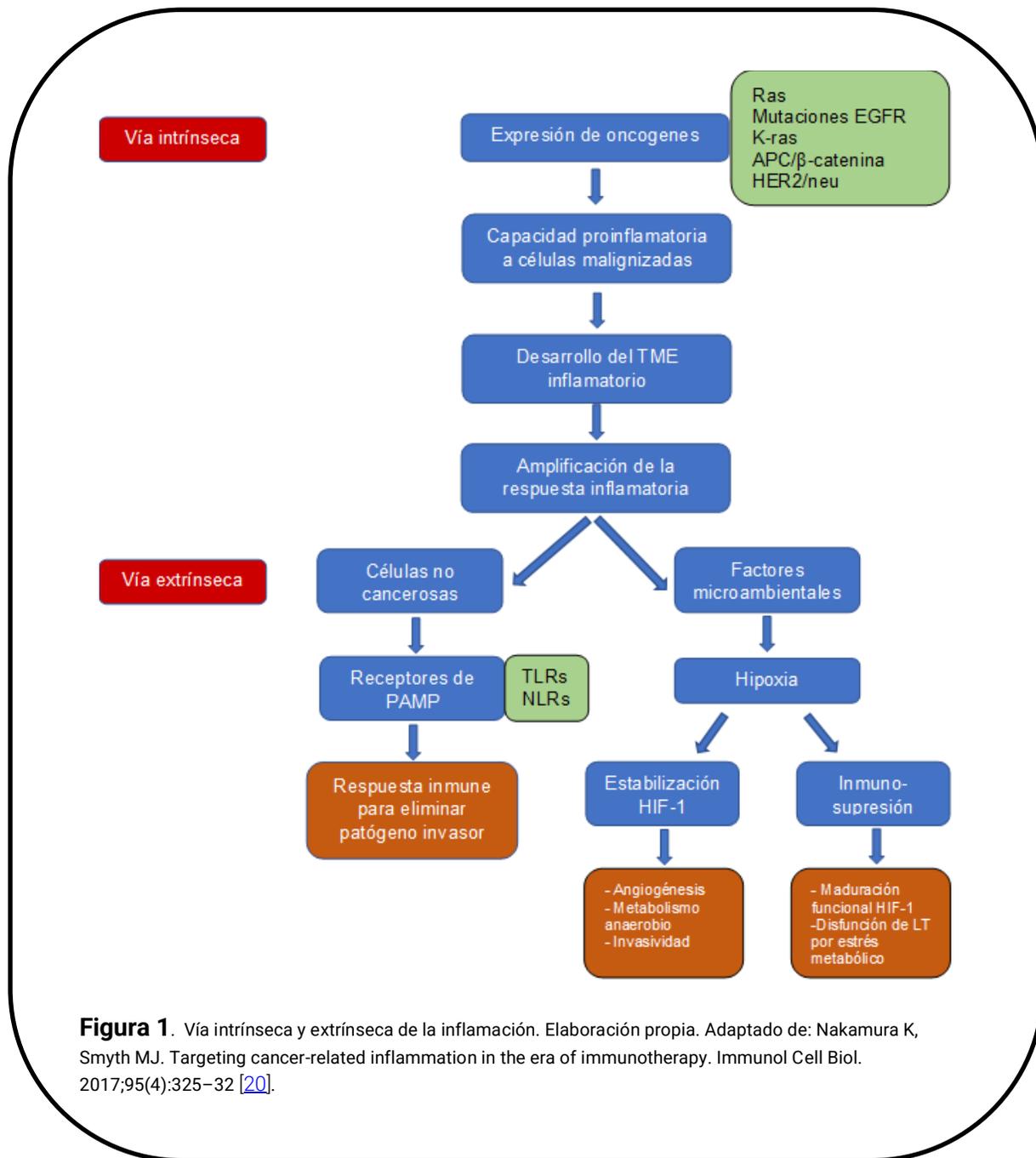
Morfológicamente, el carcinoma de mama se divide en carcinoma in situ (ductal y lobulillar) e infiltrante. La cuarta edición de la Clasificación de Tumores de Mama de la Organización Mundial de la Salud (OMS) define al menos 26 tipos de enfermedad infiltrante [15]. Estos son diversos en su historia natural y en su respuesta terapéutica. Su diversidad fenotípica se corresponde con la diversidad de patrones y dimensiones de expresiones génicas [16].

Se han identificado dos grupos principales, relacionados al parecer con expresión de ER. Al grupo enriquecido con ER se lo denominó "luminal" para indicar la similitud molecular con las células luminales normales, en tanto que el grupo denominado "basal" es negativo para ER, correspondiendo a cánceres triplemente negativos (negativos para ER, PR y HER2; tabla 1) [8,15]. Estos tres marcadores se utilizan en el manejo rutinario de pacientes con cáncer infiltrante de mama. Se reveló la existencia de al menos cinco subtipos moleculares: luminal A, luminal B, enriquecido en HER2, parecido a basal y parecido a mama normal [8]. Esta clasificación, sin embargo, no es equivalente a la clasificación inmunohistoquímica [8-10, 17,18]. Virchow sugirió en el siglo XIX un enlace causal entre el cáncer y la inflamación [20]. A mediados del siglo XX se determinó que el sistema inmune adaptativo puede controlar el crecimiento y diseminación tumoral mediante estimulación, respondiendo a un tumor específico [21,22]. Además se pensó que el sistema inmune podría tener un rol en la desaparición de tumores [23]. Desde 1967 se conoce el papel de los TILs en el pronóstico de los cánceres de mama [24]. Luego se dilucidó que los tumores en regresión tienen linfocitos altamente reactivos [25]. Años después se describió que el valor pronóstico de los TILs estaba asociado a los tumores de rápida proliferación [26].

**Tabla 1.** Subtipos de cánceres triple negativo (8,18,19)

Subtipo	Expresión
BL1	Genes relacionados con el ciclo celular
BL2	p63, CD10, Ki67
M	Genes relacionados con la motilidad celular. Incluye a los carcinomas metaplásicos.
IM	Genes relacionados con la respuesta inmune.
LAR	CK18 luminal, receptores de andrógenos

Los mecanismos moleculares que dirigen la inflamación relacionada con el cáncer pueden ser resumidos en la interferencia entre dos vías: la vía intrínseca, mediada por expresión de oncogenes, y la vía extrínseca, donde están involucrados mediadores inflamatorios y factores microambientales (Figura 1). Estas vías regulan la supervivencia del tumor, proliferación, angiogénesis e inmunosupresión [20, 27,28].



**Figura 1.** Vía intrínseca y extrínseca de la inflamación. Elaboración propia. Adaptado de: Nakamura K, Smyth MJ. Targeting cancer-related inflammation in the era of immunotherapy. Immunol Cell Biol. 2017;95(4):325–32 [20].

Las células de origen hematopoyético en el microambiente tumoral incluyen células linfoides (linfocitos T, B y células NK) y mieloides (macrófagos, neutrófilos y células supresoras derivadas mieloides) [27,29]. El sistema inmune mantiene la homeostasis tisular gracias al monitoreo continuo e inicialización de reacciones inflamatorias, junto con acciones coordinadas de la inmunidad innata y adaptativa [30,31]; además, tiene un papel significativo en el control del crecimiento tumoral: los TILs son una manifestación de la respuesta inmune del huésped y predicen mejor conclusión en algunos cánceres, como los del colon, ovario, pulmón y mama. [32–34].

La interacción entre sistema inmune y células cancerosas es crítica en el control y erradicación del crecimiento del cáncer y se regula a través de homeostasis entre señales activadoras e inhibitoras. Los TILs pueden eliminar las células tumorales o permitir al tumor escapar de la vigilancia inmune (inmunoedición del cáncer). Se ha postulado que el control del crecimiento tumoral por parte de los TILs se realiza mediante un mecanismo citotóxico, gracias a la producción de citoquinas como interferón- $\gamma$ , que potencian una respuesta inmune celular. Entonces, sería deseable una infiltración del sitio tumoral por linfocitos CD8+, en la que se requeriría células CD4+ para funcionar adecuadamente [22, 35].

Parece haber una asociación significativa con el número de TILs presentes al momento del diagnóstico con la eficacia terapéutica y el pronóstico en el cáncer de mama temprano, en el escenario de una terapia neoadyuvante y adyuvante. La quimioterapia con Trastuzumab podría aliviar la supresión de la inmunidad efectora antitumoral al favorecer la liberación masiva de neoantígenos relacionados con el tumor, después de la muerte celular inmunogénica (mediada por citotoxicidad), que puede suprimir la acción de los linfocitos CD4+, inhibiendo la acción antitumoral y restaurando la acción de los linfocitos CD8+ [35, 36]

---

## Inmunofenotipo triple negativo

El inmunofenotipo triple negativo comprende aproximadamente 15-20% de todos los cánceres de mama y un 30% de las muertes asociadas a ellos. Tienen mayor grado histológico, se presentan en edades más tempranas, con estadios clínicos avanzados, comportamiento agresivo y peor pronóstico clínico que en los demás subtipos [11, 19]. No son elegibles para terapias hormonales ni dirigidas a HER2: el tratamiento se basa en quimioterapia citotóxica con supervivencia media de 13 a 18 meses [35, 37].

Este inmunofenotipo es pobremente diferenciado y muestra un alto grado de inestabilidad genómica, que puede estar relacionada con mutaciones en genes de reparación del ADN como BRCA1 y BRCA2. Estos procesos pueden permitir el desarrollo de péptidos neomutantes, que podrían convertirse en neoantígenos tumorales específicos que serían presentados a los linfocitos T después de ser reconocidos por las células presentadoras de antígenos [35]. Además, esto puede explicar por qué los cánceres de mama triple negativo suelen estar enriquecidos por infiltrados inflamatorios en comparación con los positivos para receptores hormonales [35, 38].

---

## Inmunofenotipo rico en HER2

El HER2 pertenece a una familia de receptores transmembrana de cuatro cinasas de tirosina que median el crecimiento, diferenciación y supervivencia de las células [10, 39]. En alrededor del 20% de los cánceres de mama se encuentra amplificación del gen HER2, localizado en el cromosoma 17. Esta amplificación está asociada con sobreexpresión de la proteína codificada; por lo tanto, se asocia a un curso más agresivo de la enfermedad, mayor tasa de recurrencia en enfermedad localizada y menor tasa de supervivencia [40, 41].

Los anticuerpos desarrollados como terapia anti HER2, en especial el Trastuzumab, han mejorado el pronóstico de este subgrupo de pacientes [42]. El modo de acción del Trastuzumab está relacionado tanto con la inhibición de la señalización oncogénica mediante la unión a los receptores HER2 de la célula tumoral y la estimulación de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA) [43]. La CCDA está mediada por medio de la activación de receptores Fc (RsFc) en las células del sistema inmune. Estudios previos con animales han demostrado que la actividad antitumoral del Trastuzumab se redujo significativamente en los ratones con deficiencia de RsFc, lo que podría demostrar que la CCDA juega un papel crítico en la actividad del Trastuzumab [40, 43].

Además, se ha asociado un aumento de la infiltración tumoral por células NK asociado a la administración de Trastuzumab. La infiltración por otras células inmunes también está asociada con la eficiencia del Trastuzumab y el aumento de las tasas de supervivencia en cánceres de mama HER2+ [40].

---

## Conteo de TILs

Los TILs están constituidos por una mezcla de diferentes tipos celulares, usualmente dominados por linfocitos T, con proporciones variables de linfocitos B, células NK (natural killer), macrófagos y células dendríticas. Por esto, la cuantificación y caracterización de los TILs se ha usado como un auxiliar para la evaluación de la inmunogenicidad tumoral [31].

Como ya se ha mencionado, los TILs se han correlacionado con un buen pronóstico en varias cohortes [40, 43,44]. Los tumores infiltrados por células inmunes son frecuentemente observados, pero la composición de células es variable entre tumores y órganos. En modelos murinos se identificaron leucocitos de derivación mieloide -se incluyen macrófagos, células dendríticas y células supresoras derivadas mieloides- que le dan forma al microambiente mediante las sustancias que producen, sea como un ambiente inmunoestimulador antitumoral o un microambiente promotor del tumor [36,45].

Los linfocitos T antitumorales pueden activarse o suprimirse. Estos regulan la polarización de los macrófagos en sus fenotipos funcionales M2 (protumorigénicos) o M1 (antitumorales), resaltando la importancia de la comunicación cruzada en la formación del microambiente tumoral [45].

La detección de linfocitos T se realiza mediante inmunohistoquímica: los citotóxicos con el marcador CD8; los reguladores, con el marcador FOXP3 [32]. Sin embargo, el método más común de detección y cuantificación de TILs es por medio de la microscopía óptica de láminas histológicas de muestras tumorales teñidas con hematoxilina y eosina (H&E), mediante

visualización directa y medición de las células mononucleares en secciones tumorales representativas. El International Immuno-Oncology Biomarker Working Group (Grupo de Trabajo Internacional de Biomarcadores Inmuno-oncológicos) ha hecho recomendaciones para maximizar la reproducibilidad con esfuerzos hacia la estandarización (Figuras 2, 3 y 4; Tabla 2) [31, 45, 46].

**Tabla 2.** Criterios para conteo de linfocitos [45]

Criterios	
1.	Los linfocitos infiltrantes al tumor (TILs) deberían reportarse por el compartimiento estromal (= % TILs estromales). El denominador usado para determinar el %TILs estromales es el área de tejido estromal (el área ocupada por células inflamatorias mononucleares sobre el área estromal intratumoral total), no el número de células totales (la fracción de los núcleos estromales totales que representen núcleos de células inflamatorias mononucleares)
2.	Los TILs deben ser evaluados dentro de las fronteras tumorales del tumor infiltrante.
3.	Excluir los TILs fuera del borde tumoral y alrededor de DCIS y lóbulos normales
4.	Excluir los TILs en zonas tumorales con artefactos por aplastamiento, necrosis, hialinización regresiva, al igual que en el sitio previo de biopsia <i>core</i> .
5.	Todas las células mononucleares (incluyendo linfocitos y plasmocitos) deberían puntuarse, pero los leucocitos polimorfonucleares se excluyen.
6.	Una sección (4-5 micrómetros, magnificación x200-400) por paciente se considera suficiente.
7.	Se prefieren secciones enteras a las biopsias siempre que sea posible. Los <i>cores</i> pueden ser usados en terapia neoadyuvante: al momento, no hay metodología validada para puntuar TILs después del tratamiento neoadyuvante.
8.	Debería utilizarse una valoración completa del patólogo de los TILs promedio en el área tumoral.
9.	Los TILs pueden proveer más información biológica relevante si se puntúan como una variable continua, ya que permitirá análisis estadísticos más certeros que pueden en el futuro ser categorizados en diferentes límites. El patólogo debería reportar sus puntajes en tanto detalle en cuanto permita su comodidad.
10.	Los TILs deberían ser evaluados como un parámetro continuo. El porcentaje de TILs estromales es un parámetro semicuantitativo para esta valoración. El patrón de crecimiento disociado de los linfocitos necesita tomarse en consideración. Típicamente, los linfocitos no forman agregados celulares sólidos; por lo tanto, la designación "100% de TILs estromales" permitiría algún espacio vacío tisular entre los linfocitos individuales.

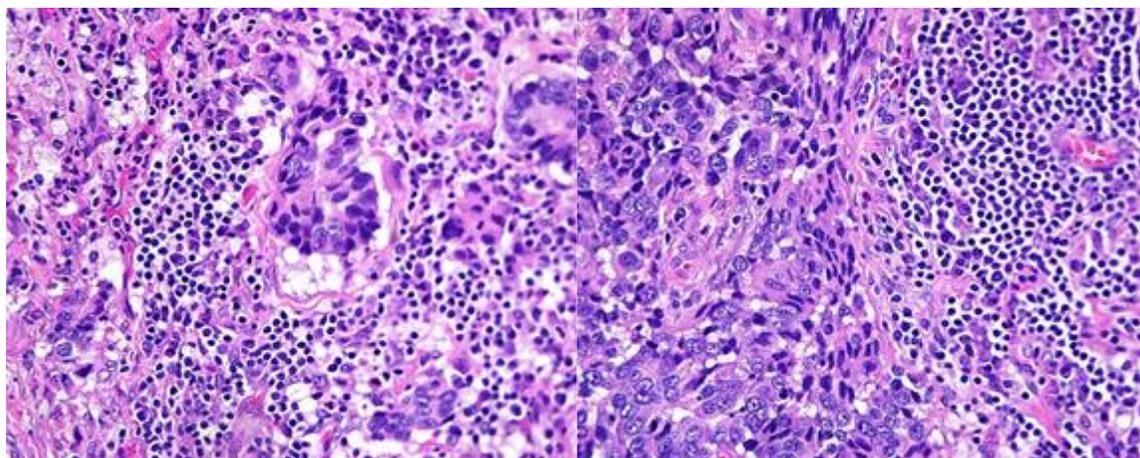
El área tumoral se divide en un compartimiento estromal y un compartimiento intratumoral. La mayoría de los estudios se realizan en ambos compartimientos, pero se considera que el compartimiento estromal es más representativo y reproducible pues allí los linfocitos son más abundantes, más homogéneos y más visibles. En consecuencia, las asociaciones con los parámetros clinicopatológicos y con el pronóstico de la enfermedad son mejor establecidas con los TILs estromales [31].

No existen consensos en la literatura para determinar el punto de corte para un grado de densidad alta o baja de TILs. Sin embargo, aunque no existe diferencia en el pronóstico de los carcinomas de mama con puntos de corte de "alto grado" en 25%, 35% y 50% de TILs, [47], se sugiere que los patólogos puntúen el porcentaje de TILs, como una variable continua, de la manera más precisa posible [48].

## TILs en cánceres HER2

Un nivel alto de infiltración linfocítica se asocia con una tasa significativamente mayor de pCR (respuesta completa histopatológica), supervivencia general y supervivencia libre de enfermedad. Además, el grado de TILs aumenta después del tratamiento con Trastuzumab, un anticuerpo monoclonal recombinante dirigido contra HER2 con actividad clínica en cáncer de mama avanzado con sobreexpresión de HER2, y que mejora ampliamente el pronóstico clínico. Un alto grado de TILs en el tumor residual se asocia con un pronóstico significativamente mejor, en comparación con los tumores residuales con un bajo grado de TILs [41, 49,50].

Los TILs en los cánceres HER2 se ubican de manera más prominente en el margen de invasión que en el centro del tumor, de manera contraria al cáncer colorrectal, donde los TILs del centro del tumor se asocian con mejor pronóstico [31, 51, 52]. El marcador CD8 tiene mejor valor pronóstico, lo que confiere importancia a los linfocitos T citotóxicos en el control tumoral [32, 33, 48]. Todavía no está claro si los TILs en este subtipo de cáncer están involucrados en la citotoxicidad de drogas anticancerígenas [40]. Vea un ejemplo en la Figura 2.

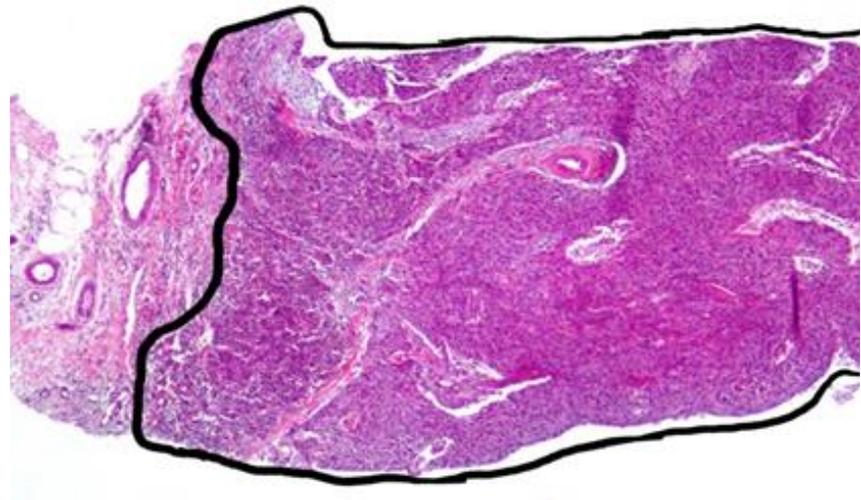


**Figura 2.** Carcinoma medular de mama con un conteo de aproximadamente 40% de TILs. Fuente: Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Carlos Andrade Marín, Quito.

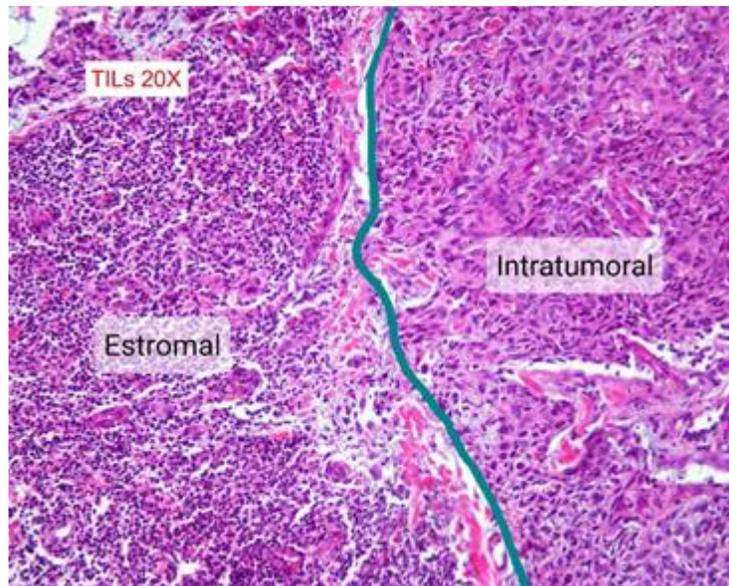
## TILs en TNBC

Ya se ha mencionado que el TNBC muestra un alto grado de inestabilidad genómica, asociada a mutaciones en los genes de reparación de ADN, como BRCA1 y BRCA2. Estos procesos harían desarrollar una serie de neoantígenos tumorales, que son reconocidos por las células presentadoras de antígenos y presentados a los linfocitos T; de esta manera, los TNBC son más frecuentemente enriquecidos por TILs que los demás tipos positivos para hormonas [35].

La infiltración linfocítica estromal constituye un marcador pronóstico robusto e independiente en TNBC tratados con terapia neoadyuvante: una alta respuesta inmune es predictiva de un riesgo significativamente menor de recurrencia o muerte, recurrencia distante y mortalidad general [53, 54]. La quimioterapia puede favorecer la liberación masiva de neoantígenos asociados al tumor, que es seguida de muerte celular inducida por citotoxicidad, suprime a los linfocitos T reguladores y restaura a los linfocitos T citotóxicos. Estas células CD8 y FOXP3, tienen un papel sustancial en la terapia neoadyuvante y conlleva una mejor pCR después de la misma [35, 53, 54]. Por lo contrario, los pacientes con TNBC y nivel bajo de TILs tienen una mayor tasa de recidiva [55].



**Figura 3.** Evaluación de los TILs dentro de las fronteras tumorales (área delimitada con una línea negra). Fuente: Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Carlos Andrade Marín, Quito



**Figura 4.** Distribución de los TILs según compartimentos intratumoral y estromal (área delimitada por una línea verde). Fuente: Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Carlos Andrade Marín, Quito.

#### Nota del Editor

La Revista Oncología Ecu permanece neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales en mapas publicados y afiliaciones institucionales.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Servicio de Anatomía Patológica del hospital Carlos Andrade Marín por las microfotografías utilizadas en esta publicación.

## Información administrativa

#### Abreviaturas

**CBC:** Carcinoma basocelular. **TC:** Tricoblastoma. **TE:** tricoepitelioma. **CK:** Citokeratinas. **OMS:** Organización Mundial de la Salud. **UVA:** Ultravioleta.

#### Archivos Adicionales

Ninguno declarado por los autores.

#### Fondos

Los fondos de la investigación fueron propios de los autores del presente artículo.

---

#### Disponibilidad de datos y materiales

Existe la disponibilidad de datos bajo solicitud al autor de correspondencia. No se reportan otros materiales.

---

#### Contribuciones de los autores

MABP y DVPR realizaron por igual: la Conceptualización, Conservación de datos, análisis formal, Adquisición de fondos, Investigación, Metodología, Administración de proyecto, Recursos, software, Supervisión, Validación, Visualización, Redacción - borrador original, Escritura: revisión y edición. Las autoras leyeron y aprobaron la versión final del artículo.

---

#### Consentimiento para publicación

No aplica para una revisión narrativa.

---

## Referencias

1. Instituto Nacional de Estadística y Censos. Estadísticas Vitales [Internet]. 2016. [cited 2018 Sep 27]. Available from: [http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Poblacion\\_y\\_Demografia/Nacimientos\\_Defunciones/2016/Presentacion\\_Nacimientos\\_y\\_Defunciones\\_2016.pdf](http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Poblacion_y_Demografia/Nacimientos_Defunciones/2016/Presentacion_Nacimientos_y_Defunciones_2016.pdf)
2. Tanca J, Real J, Jaramillo L, Quinto R. Cáncer en Guayaquil, Año 2015. Soc Lucha Contra el cáncer del Ecuador. 2019;52.
3. Cueva P, Yépez J, editors. Epidemiología del cáncer en Quito, 2006-2010. 15th ed. Quito: Registro Nacional de Tumores; 2014. SU: [issuu/solcaquito](#)
4. Vivacqua M, Méndez Ortiz V, Valenzuela D, Castelletto E, Fernández A, Terrier F, et al. La infiltración linfocitaria (TILs) como factor pronóstico en pacientes con cáncer de mama Triple Negativo que realizan quimioterapia neoadyuvante. Rev Argentina Mastología. 2019;38(140):34-47. LILACS: [bvsalud/1116266](#)
5. Galvez M, Castaneda CA, Sanchez J, Castillo M, Rebaza LP, Calderon G, et al. Clinicopathological predictors of long-term benefit in breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. World J Clin Oncol. 2018 Apr 10;9(2):33-41. doi: 10.5306/wjco.v9.i2.33. PMID: [29651385](#); PMCID: PMC5893995.
6. Wang K, Shen T, Siegal GP, Wei S. The CD4/CD8 ratio of tumor-infiltrating lymphocytes at the tumor-host interface has prognostic value in triple-negative breast cancer. Hum Pathol. 2017 Nov;69:110-117. doi: 10.1016/j.humpath.2017.09.012. Epub 2017 Oct 6. PMID: [28993275](#).
7. Dieci MV, Mathieu MC, Guarneri V, Conte P, Delalogue S, Andre F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in two phase III randomized adjuvant breast cancer trials. Ann Oncol. 2015 Aug;26(8):1698-704. doi: 10.1093/annonc/mdv239. Epub 2015 May 20. PMID: [25995301](#); PMCID: PMC4511223.
8. Wu Y, Sahin AA. Molecular Classification and Testing of Breast Carcinoma. In: Rosen's Breast Pathology. 2014. p. 1337-49. SU: [mdanderson](#)

9. Rakha EA, Green AR. Molecular classification of breast cancer: what the pathologist needs to know. *Pathology*. 2017 Feb;49(2):111-119. doi: 10.1016/j.pathol.2016.10.012. Epub 2016 Dec 28. PMID: [28040199](#).
10. Irigoyen MA, García FV, Iturriagagoitia AC, Beroiz BI, Martínez MS, Guillén Grima F. Subtipos moleculares del cáncer de mama: implicaciones pronósticas y características clínicas e inmunohistoquímicas [Molecular subtypes of breast cancer: prognostic implications and clinical and immunohistochemical characteristics]. *An Sist Sanit Navar*. 2011 May-Aug;34(2):219-33. Spanish. doi: 10.4321/s1137-66272011000200008. PMID: [21904404](#).
11. Vuong D, Simpson PT, Green B, Cummings MC, Lakhani SR. Molecular classification of breast cancer. *Virchows Arch*. 2014 Jul;465(1):1-14. doi: 10.1007/s00428-014-1593-7. Epub 2014 May 31. PMID: [24878755](#).
12. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, Gutheil JC, Harris LN, Fehrenbacher L, Slamon DJ, Murphy M, Novotny WF, Burchmore M, Shak S, Stewart SJ, Press M. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2002 Feb 1;20(3):719-26. doi: 10.1200/JCO.2002.20.3.719. PMID: [11821453](#).
13. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2018 Feb;243(3):213-221. doi: 10.1177/1535370217750088. PMID: [29405771](#); PMCID: PMC5813875.
14. Biomarkers Definitions Working Group.. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001 Mar;69(3):89-95. doi: 10.1067/mcp.2001.113989. PMID: [11240971](#).
15. International Agency for Research on Cancer. WHO Classification of Tumours of the Breast. 2012.
16. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lønning PE, Børresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000 Aug 17;406(6797):747-52. doi: 10.1038/35021093. PMID: [10963602](#).
17. Collins LC. Breast. In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 2018. p. 1434–512.
18. Hornychova H, Melichar B, Tomsova M, Mergancova J, Urminska H, Ryska A. Tumor-infiltrating lymphocytes predict response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast carcinoma. *Cancer Invest*. 2008 Dec;26(10):1024-31. doi: 10.1080/07357900802098165. PMID: 19093260.
19. Saraiva DP, Guadalupe Cabral M, Jacinto A, Braga S. How many diseases is triple negative breast cancer: the protagonism of the immune microenvironment. *ESMO Open*. 2017 Sep 14;2(4):e000208. doi: 10.1136/esmoopen-2017-000208. PMID: [29018573](#); PMCID: PMC5604720.
20. Nakamura K, Smyth MJ. Targeting cancer-related inflammation in the era of immunotherapy. *Immunol Cell Biol*. 2017 Apr;95(4):325-332. doi: 10.1038/icb.2016.126. Epub 2017 Jan 10. PMID: 27999432.
21. Herberman RB. Immunogenicity of tumor antigens. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer [Internet]*. 1977 Dec;473(2):93–119. SU: [linkinghub](#)
22. Drescher KM, Lynch HT. Tumor infiltrating lymphocytes (TILs): Lessons learned in 30 years of study. *Clin Appl Immunol Rev*. 2005;5(3):149–66. SU: [creighton](#)
23. FOLEY EJ. Antigenic properties of methylcholanthrene-induced tumors in mice of the strain of origin. *Cancer Res*. 1953 Dec;13(12):835-7. PMID: [13116120](#).
24. Rivas Gonzales M, Campos Rey De Castro. Características anatomopatológicas determinantes en la evolución del cáncer de mama [Determining anatomopathologic characteristics in the evolution of breast cancer]. *An Fac Med Lima*. 1967 Jan-Mar;50(1):124. Spanish. PMID: [5596965](#).

25. Holmes EC. Immunology of tumor infiltrating lymphocytes. *Ann Surg.* 1985 Feb;201(2):158-63. doi: 10.1097/0000658-198502000-00004. PMID: [3155935](#); PMCID: PMC1250634.
26. Aaltomaa S, Lipponen P, Eskelinen M, Kosma VM, Marin S, Alhava E, Syrjänen K. Lymphocyte infiltrates as a prognostic variable in female breast cancer. *Eur J Cancer.* 1992;28A(4-5):859-64. doi: 10.1016/0959-8049(92)90134-n. PMID: [1524909](#).
27. Munn LL. Cancer and inflammation. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 2017 Mar;9(2):10.1002/wsbm.1370. doi: 10.1002/wsbm.1370. Epub 2016 Dec 12. PMID: [27943646](#); PMCID: PMC5561333.
28. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011 Mar 4;144(5):646-74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013. PMID: [21376230](#).
29. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Neoplasia. In: Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 2015. p. 265–338. [https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=jJIBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Neoplasia.+In:+Robbins+and+Cotran+Pathologic+Basis+of+Disease&ots=Afr\\_DT5Y6U&sig=cUek4Qz3L5ZHUu2\\_ifqFyrPrmNw#v=onepage&q=Neoplasia.%20In%3A%20Robbins%20and%20Cotran%20Pathologic%20Basis%20of%20Disease&f=false](https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=jJIBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Neoplasia.+In:+Robbins+and+Cotran+Pathologic+Basis+of+Disease&ots=Afr_DT5Y6U&sig=cUek4Qz3L5ZHUu2_ifqFyrPrmNw#v=onepage&q=Neoplasia.%20In%3A%20Robbins%20and%20Cotran%20Pathologic%20Basis%20of%20Disease&f=false)
30. Demaria S, Pikarsky E, Karin M, Coussens LM, Chen YC, El-Omar EM, et al. Cancer and inflammation: promise for biologic therapy. *J Immunother.* 2010 May;33(4):335-51. doi: 10.1097/CJI.0b013e3181d32e74. PMID: [20386472](#); PMCID: PMC2941912.
31. Luen SJ, Savas P, Fox SB, Salgado R, Loi S. Tumour-infiltrating lymphocytes and the emerging role of immunotherapy in breast cancer. *Pathology.* 2017 Feb;49(2):141-155. doi: 10.1016/j.pathol.2016.10.010. Epub 2016 Dec 31. PMID: [28049579](#).
32. Ali HR, Provenzano E, Dawson SJ, Blows FM, Liu B, Shah M, et al. Association between CD8+ T-cell infiltration and breast cancer survival in 12,439 patients. *Ann Oncol.* 2014 Aug;25(8):1536-43. doi: 10.1093/annonc/mdu191. Epub 2014 Jun 9. PMID: [24915873](#).
33. Stanton SE, Disis ML. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer. *J Immunother Cancer [Internet].* 2016;4(1):1–7. doi: [10.1186/s40425-016-0165-6](#)
34. McCuaig R, Wu F, Dunn J, Rao S, Dahlstrom JE. The biological and clinical significance of stromal-epithelial interactions in breast cancer. *Pathology.* 2017 Feb;49(2):133-140. doi: 10.1016/j.pathol.2016.10.009. Epub 2016 Dec 29. PMID: [28040198](#).
35. Carbognin L, Pilotto S, Nortilli R, Brunelli M, Nottegar A, Sperduti I, et al. Predictive and Prognostic Role of Tumor-Infiltrating Lymphocytes for Early Breast Cancer According to Disease Subtypes: Sensitivity Analysis of Randomized Trials in Adjuvant and Neoadjuvant Setting. *Oncologist.* 2016 Mar;21(3):283-91. doi: 10.1634/theoncologist.2015-0307. Epub 2016 Feb 10. PMID: [26865589](#); PMCID: PMC4786352.
36. Loi S, Michiels S, Salgado R, Sirtaine N, Jose V, Fumagalli D, et al.. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. *Ann Oncol.* 2014 Aug;25(8):1544-50. doi: 10.1093/annonc/mdu112. Epub 2014 Mar 7. PMID: [24608200](#).
37. Carbognin L, Pilotto S, Nortilli R, Brunelli M, Nottegar A, Sperduti I, et al. Predictive and Prognostic Role of Tumor-Infiltrating Lymphocytes for Early Breast Cancer According to Disease Subtypes: Sensitivity Analysis of Randomized Trials in Adjuvant and Neoadjuvant Setting. *Oncologist [Internet].* 2016;21(3):283–91. *Ann Oncol.* 2014 Aug;25(8):1544-50. doi: 10.1093/annonc/mdu112. Epub 2014 Mar 7. PMID: [24608200](#).
38. Garrido-Castro AC, Lin NU, Polyak K. Insights into Molecular Classifications of Triple-Negative Breast Cancer: Improving Patient Selection for Treatment. *Cancer Discov.* 2019 Feb;9(2):176-198. doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-1177. Epub 2019 Jan 24. PMID: [30679171](#); PMCID: PMC6387871.
39. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast

- cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol*. 2013 Mar 1;31(7):860-7. doi: 10.1200/JCO.2011.41.0902. Epub 2013 Jan 22. PMID: [23341518](#).
40. García-Romo GS, García-Castillo KG, Díaz-Rodríguez Á, Reyes-Hernández D, Pedroza-González A. Principales mecanismos inmunorreguladores que favorecen el desarrollo del cáncer de mama [Main immunoregulatory mechanisms that favor breast cancer development]. *Gac Med Mex*. 2017 Mar-Apr;153(2):229-237. Spanish. PMID: [28474709](#).
  41. Honkanen TJ, Moilanen T, Karihtala P, Tiainen S, Auvinen P, Väyrynen JP, et al. Prognostic and predictive role of spatially positioned tumour infiltrating lymphocytes in metastatic HER2 positive breast cancer treated with trastuzumab. *Sci Rep*. 2017 Dec 21;7(1):18027. doi: 10.1038/s41598-017-18266-1. PMID: [29269742](#); PMCID: PMC5740084.
  42. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, et al. Trastuzumab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2006;353(16):1659-72. Available from: [medicine.wisc.edu](#)
  43. Eliyatkin N, Yalçın E, Zengel B, Aktaş S, Vardar E. Molecular Classification of Breast Carcinoma: From Traditional, Old-Fashioned Way to A New Age, and A New Way. *J Breast Health*. 2015 Apr 1;11(2):59-66. doi: 10.5152/tjbh.2015.1669. PMID: [28331693](#); PMCID: PMC5351488.
  44. Kashiwagi S, Asano Y, Goto W, Takada K, Takahashi K, Hatano T, et al. Using TILs to Predict Therapeutic Effect of Chemotherapy (Pertuzumab, Trastuzumab, Docetaxel) on HER2-positive Breast Cancer. *Anticancer Res*. 2017 Oct;37(10):5623-5630. doi: 10.21873/anticancer.11997. PMID: [28982879](#).
  45. Luen SJ, Salgado R, Fox S, Savas P, Eng-Wong J, Clark E, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes in advanced HER2-positive breast cancer treated with pertuzumab or placebo in addition to trastuzumab and docetaxel: a retrospective analysis of the CLEOPATRA study. *Lancet Oncol*. 2017 Jan;18(1):52-62. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30631-3. Epub 2016 Dec 7. Erratum in: *Lancet Oncol*. 2018 Dec;19(12):e667. PMID: [27964843](#); PMCID: PMC5477653.
  46. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruner G, et al. International TILs Working Group 2014. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol*. 2015 Feb;26(2):259-71. doi: 10.1093/annonc/mdu450. Epub 2014 Sep 11. PMID: [25214542](#); PMCID: PMC6267863.
  47. Kos Z, Roblin E, Kim RS, Michiels S, Gallas BD, Chen W, et al; International Immuno-Oncology Biomarker Working Group. Pitfalls in assessing stromal tumor infiltrating lymphocytes (sTILs) in breast cancer. *NPJ Breast Cancer*. 2020 May 12;6:17. doi: 10.1038/s41523-020-0156-0. PMID: [32411819](#); PMCID: PMC7217863.
  48. Kotoula V, Chatzopoulos K, Lakis S, Alexopoulou Z, Timotheadou E, Zagouri F, et al. Tumors with high-density tumor infiltrating lymphocytes constitute a favorable entity in breast cancer: a pooled analysis of four prospective adjuvant trials. *Oncotarget*. 2016 Jan 26;7(4):5074-87. doi: 10.18632/oncotarget.6231. PMID: [26506242](#); PMCID: PMC4826267.
  49. Dieci MV, Radosevic-Robin N, Fineberg S, van den Eynden G, Ternes N, Penault-Llorca F, 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* [Internet]. 2018;52(October 2017):16-25. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.10.003>
  50. Kurozumi S, Inoue K, Matsumoto H, Fujii T, Horiguchi J, Oyama T, et al. Prognostic utility of tumor-infiltrating lymphocytes in residual tumor after neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab for HER2-positive breast cancer. *Sci Rep*. 2019 Feb 7;9(1):1583. doi: 10.1038/s41598-018-38272-1. PMID: [30733496](#); PMCID: PMC6367461.
  51. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Lederer B, Heppner BI, Weber KE, 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 Jan;19(1):40-50. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30904-X. Epub 2017 Dec 7. PMID: [29233559](#).
52. Azab B, Bhatt VR, Phookan J, Murukutla S, Kohn N, Terjanian T, Widmann WD. Usefulness of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in predicting short- and long-term mortality in breast cancer patients. *Ann Surg Oncol.* 2012 Jan;19(1):217-24. doi: 10.1245/s10434-011-1814-0. Epub 2011 Jun 3. PMID: [21638095](#).
  53. Ochi T, Bianchini G, Ando M, Nozaki F, Kobayashi D, Criscitiello C, et al. Predictive and prognostic value of stromal tumour-infiltrating lymphocytes before and after neoadjuvant therapy in triple negative and HER2-positive breast cancer. *Eur J Cancer.* 2019 Sep;118:41-48. doi: 10.1016/j.ejca.2019.05.014. Epub 2019 Jul 11. PMID: [31302586](#).
  54. Adams S, Gray RJ, Demaria S, Goldstein L, Perez EA, Shulman LN, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. *J Clin Oncol.* 2014 Sep 20;32(27):2959-66. doi: 10.1200/JCO.2013.55.0491. PMID: [25071121](#); PMCID: PMC4162494.
  55. Ono M, Tsuda H, Shimizu C, Yamamoto S, Shibata T, Yamamoto H, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes are correlated with response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2012 Apr;132(3):793-805. doi: 10.1007/s10549-011-1554-7. Epub 2011 May 12. PMID: [21562709](#).
  56. Hida AI, Sagara Y, Yotsumoto D, Kanemitsu S, Kawano J, Baba S, et al. Prognostic and predictive impacts of tumor-infiltrating lymphocytes differ between Triple-negative and HER2-positive breast cancers treated with standard systemic therapies. *Breast Cancer Res Treat.* 2016 Jul;158(1):1-9. doi: 10.1007/s10549-016-3848-2. Epub 2016 Jun 3. PMID: [27260189](#); PMCID: PMC4937092.