

Protagonismo del sistema inmune en el microambiente de los tumores malignos de la mama

Role of the immune system in the microenvironment of malignant tumors of breast

María del Carmen Arango Prado^I, Cristina Rodríguez-Padilla^{II}

^I Instituto de Nacional de Oncología y Radiobiología. La Habana, Cuba.

^{II} Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL). México.

RESUMEN

Los avances recientes en la comprensión de los mecanismos génicos y moleculares del cáncer de mama han revelado que el sistema inmune protagoniza los eventos responsables del desarrollo y la progresión del tumor. Las células de la respuesta inmune innata y adaptativa, así como diversos mediadores solubles liberados por ellas, pueden establecer una respuesta antitumoral protectora o, por el contrario, inducir eventos de inflamación crónica que favorezcan la promoción y progresión de esta enfermedad. Esta dualidad, se protagoniza en el microambiente del tumor, el cual puede regular la carcinogénesis en dependencia del infiltrado de células inmunes que predominen. Esta revisión, pretende resumir los conocimientos actuales de la relación sistema inmune-cáncer de mama, enfatizando en las células inmunes del microambiente del tumor y su importancia como biomarcadores de evolución clínica de la enfermedad.

Palabras clave: cáncer de mama, respuesta inmune, inflamación crónica, linfocitos que infiltran tumor (TIL), microambiente del tumor.

ABSTRACT

The recent advances in the understanding of the genetic and molecular mechanisms of breast cancer have demonstrated that immune system plays important events responsible for the development and progression of the tumor. The cells of the innate and adaptive immune system, as well as diverse soluble mediators, may establish a protective anti-tumor response or, on the contrary, to induce events of chronic inflammation that favor promotion and progression of disease. This duality occurs in the tumor microenvironment, which can regulate the carcinogenesis depending on the predominant immune cells. This revision summarizes the current knowledge of the relationship between immune system - breast cancer, emphasizing in the immune cells of the tumor microenvironment and its importance as biological markers of the clinical evolution of the disease.

Keywords: breast cancer, immune response, chronic inflammation, tumor microenvironment, tumor-infiltrating lymphocytes (TIL).

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama ocupa uno de los primeros lugares en cuanto a incidencia por neoplasias malignas a nivel mundial. Se estima que cada año un millón de nuevos casos son diagnosticados, por tanto la investigación de sus bases biológicas y moleculares constituye una prioridad en la actualidad^{1,2}. Esta neoplasia maligna, agrupa un número considerable de enfermedades en términos de presentación, morfología, características biológicas, patrón molecular, comportamiento clínico y respuesta a la terapia. Los tumores se caracterizan por presentar un curso variable de desarrollo y un ritmo lento de crecimiento de sus células, con un intervalo de años desde la aparición de las primeras células malignas hasta el diagnóstico, o menos frecuentemente, un crecimiento rápido³⁻⁵.

La relación sistema inmune-cáncer de mama, está condicionada por múltiples factores, entre los que se destacan la variedad histológica, el tamaño tumoral, los ganglios linfáticos, así como las diversas células, moléculas y citocinas presentes a nivel del microambiente tumoral. Aunque las pacientes tengan su sistema inmune aparentemente competente, puede prevalecer un estado de supresión local que confiere una resistencia a la lisis del tumor, lo que favorece su progresión.

El concepto de que el sistema inmune regula el desarrollo de los tumores, ha revolucionado los conocimientos actuales de la oncoinmunología, y las teorías clásicas de la *Inmunovigilancia* y la *Edición Inmunológica* se han perfeccionado, explicando como el sistema inmune puede facilitar la progresión del tumor esculpiendo un inmunofenotipo supresor. Hoy se conoce que el sistema inmune tiene una dualidad de funciones en el cáncer: puede suprimir su crecimiento (por inhibición o lisis de las células tumorales) o puede promover su progresión. En este último caso, el sistema inmune puede facilitar la selección de células del tumor capaces de sobrevivir a su acción efectora o puede establecer en el tumor un microambiente inflamatorio crónico supresor que facilite la inmunoevasión y la progresión⁶⁻⁹.

Aunque en el cáncer de mama, las características histopatológicas siguen considerándose por muchos oncólogos los factores pronósticos más útiles, cada vez son más numerosas las investigaciones que permiten definir diferentes subtipos moleculares, lo cual corrobora la heterogeneidad de esta enfermedad y la necesidad de estratificar a los pacientes eficazmente. Investigaciones recientes en cáncer de mama, han demostrado que factores del sistema inmune tienen una importancia vital en el pronóstico y la respuesta al tratamiento. Estos incluyen la magnitud y el tipo de células presentes en el infiltrado leucocitario del microambiente del tumor, así como las moléculas y mediadores solubles asociados a estas células.

La existencia de complejos mecanismos inmunitarios, que pueden favorecer la inmunovigilancia o promover la carcinogénesis, ha permitido desarrollar diferentes formas de inmunoterapias o manipulaciones del sistema inmune, lo que constituye una importante arma terapéutica en el manejo de esta neoplasia. Algunas de estas variantes terapéuticas son protocolos de actuación clínica aprobados para determinados grupos de pacientes y otras formas de inmunoterapia se encuentran en diferentes fases de ensayos clínicos e investigaciones preclínicas, con resultados alentadores.

Esta revisión ofrece una actualización de la compleja interacción inmunidad-cáncer de mama, con énfasis en las células del sistema inmune presentes en el microambiente del tumor y su importancia como biomarcadores pronósticos y predictivos de respuestas terapéuticas en estas pacientes.

LA RESPUESTA INMUNE EFECTORA Y LA INFLAMACIÓN CRÓNICA. DOS ESCENARIOS PRESENTES EN LA EVOLUCIÓN DE LOS TUMORES DE MAMA

Durante la carcinogénesis las células mamarias expresan gran variabilidad antigénica; sin embargo, las alteraciones de la inmunidad innata y adaptativa hacen que la respuesta no sea suficiente para vencer los complejos mecanismos de evasión que desarrollan estos tumores. En pacientes con cáncer de mama, los estudios epidemiológicos tradicionales demuestran que la incidencia no aumenta en las poblaciones inmunosuprimidas; no obstante, numerosas investigaciones preclínicas y clínicas, evidencian que puede prevalecer un estado de supresión de la respuesta inmune, condicionado por múltiples factores sistémicos y locales¹⁰⁻¹².

La baja inmunogenicidad de estos tumores se debe a varios factores entre los que se encuentran: la expresión heterogénea de antígenos dentro del tumor primario o en sus metástasis, las modificaciones del perfil antigénico durante la progresión del tumor, los niveles bajos de expresión del complejo principal de histocompatibilidad (MHC/ del inglés: *major histocompatibility complex*) y las citocinas supresoras liberadas. Además, la expresión de moléculas responsables de los *lazos regulatorios* que bloquean la activación T, como por ejemplo: el antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4/ del inglés: *cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4*) y la molécula 1 de muerte programada (PD-1/ del inglés: *programmed death-1*); las cuales pueden actuar como factores inmunosupresores a nivel del microambiente del tumor, lo que favorece la evasión del tumor de la posible acción citotóxica de la respuesta inmune^{9,13}.

Aunque la expresión génica y los cambios epigenéticos que regulan la proliferación, supervivencia y diferenciación celular del epitelio mamario son los iniciadores de la carcinogénesis, está demostrado que las células del estroma pueden inducir en el tejido premaligno una respuesta que condicione eventos de promoción y progresión, así como aumentar la capacidad metastásica de las células epiteliales mamarias malignas. Estas células del estroma incluyen: los fibroblastos, las células endoteliales, las células especializadas de soporte del mesénquima y los leucocitos que infiltran tumor, estos últimos como orquestadores principales del desarrollo del tumor^{14,15}.

En 1863, Rudolf Virchow describió la presencia de infiltrado de leucocitos en tejidos neoplásicos, y fue el primero en postular que el cáncer podía originarse en sitios de inflamación crónica, hipótesis basada en que algunos irritantes causaban inflamación y podían promover la proliferación celular¹⁶.

La inflamación crónica puede favorecer eventos subsecuentes que lleven a la promoción y progresión de una célula mamaria transformada (en la iniciación). Las células del sistema inmune innato y adaptativo pueden ser protagonistas de estos eventos. Por tanto, las respuestas inmunes innatas mediadas por macrófagos, granulocitos, mastocitos, células dendríticas (DCs / del inglés: *dendritic cells*) y células asesinas naturales (NK/ del inglés: *natural killer*); y las adaptativas mediadas por linfocitos T y B, no solo pueden desencadenar una respuesta inmune antitumoral efectiva, sino también pueden promover una inflamación crónica, condicionar el escape de la acción del sistema inmune y el desarrollo neoplásico del tejido mamario¹⁷.

Además de estas células, el balance regulatorio entre respuesta inmune antitumoral y la inflamación crónica está regulado por una compleja red de citocinas y mediadores solubles, direccionados por quimocinas y moléculas de adhesión, que actúan a nivel de microambiente del tumor y de los ganglios linfáticos^{18,19}.

La respuesta inmune innata, representa la primera línea de defensa cuando los mecanismos de homeostasis celular se alteran por los eventos iniciales de la carcinogénesis del tejido mamario. Así los macrófagos residentes en el tejido, los mastocitos y otras células, secretan mediadores solubles como citocinas y quimocinas que reclutan leucocitos polimorfonucleares, otros monocitos, células NK, y células provenientes de la circulación, lo cual pudiera contribuir a una respuesta inmune innata efectiva. Al mismo tiempo las DC reconocen los antígenos tumorales y migran a los ganglios linfáticos cercanos, lo que desencadena el procesamiento y presentación de antígenos a las células del sistema inmune adaptativo (linfocitos T y B), lo cual origina activación, proliferación, diferenciación y funciones efectoras antitumorales.

La activación inicial del sistema inmune innato puede asociarse a mecanismos de inflamación aguda y desencadenar mecanismos inmunes adaptativos, estos pueden ser efectivos en la etapa de eliminación de las células mamarias transformadas. En este escenario la respuesta se polariza a macrófagos asociados al tumor (TAMs/ del inglés: *tumor-associated macrophages*) tipo 1 y a linfocitos cooperadores (TH / del inglés: *T helper*) CD4+ del patrón TH1 (productores de interleucina (IL) 12, IL2 e interferón gamma (IFN- γ), además hay predominio de respuesta citotóxica por linfocitos T citotóxicos (CTL /del inglés: *cytolytic T lymphocyte*) CD8+ específicos y por células inespecíficas NK. También las células B median respuestas a través de la producción de anticuerpos que reconocen antígenos tumorales¹⁷.

Sin embargo, la perpetuación en el tejido mamario de estas células y sus mediadores, puede originar cambios inflamatorios crónicos que se asocian a la presencia de células supresoras de origen mieloide (MDSCs / del inglés: *myeloid-derived suppressor cells*), patrones de linfocitos CD4+ Th2 y células T reguladoras (T reg), las que inhiben la citotoxicidad de los CTL CD8+ y polarizan la respuesta a TAMs tipo 2, con la secreción de citocinas supresoras como IL-4, IL-13, IL-10, IL-6, el factor de crecimiento transformante β (TGF- β / del inglés: *transforming growth factor* β) y la secreción de factores angiogénicos como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF/ del inglés: *vascular endothelial growth factor*). Todos estos factores a nivel del microambiente condicionan la promoción y progresión del tumor^{17, 20-22}.

MICROAMBIENTE INFLAMATORIO SUPRESOR EN TUMORES DE MAMA

El microambiente del tumor, se define como una compleja red de células, moléculas y citocinas, que integran la masa del tumor y que generalmente favorecen su promoción, crecimiento y progresión, fundamentalmente debido a múltiples señales supresoras del sistema inmune.

La red celular incluye, además de las células del tumor, las células de la respuesta inmune innata (NK, monocitos, macrófagos, DCs, MDSC), los linfocitos T (subpoblaciones de TH1, TH2, TH17, T reg, CTL), los linfocitos B; así como también células estromales, endoteliales y epiteliales. Esta compleja red de células, es coordinada por señalizaciones moleculares y factores solubles (citocinas y quimocinas), que establecen una respuesta inflamatoria crónica y, generan un estado de inmunosupresión que favorece la carcinogénesis, la promoción y progresión de los tumores mamarios²³.

Estas células tumorales, en el microambiente supresor, tienen una baja expresión de antígenos, pérdida de las moléculas coestimuladoras y del sistema MHC clase I, así como aumento de las moléculas inmunosupresoras como: la indolamina 2,3 dioxigenasa (IDO/ del inglés: *indoleamine 2,3-dioxygenase*), el ligando de PD-1 (*PD-L1*), el CD39, el CD73 y los receptores de adenosina. Además, secretan citocinas como el VEGF, TGF- β , IL-6, y factores estimulantes de colonia de macrófagos (M-CSF/ del inglés: *macrophage colony-stimulating factor*), los cuales aumentan la angiogénesis, favorecen la migración de células supresoras al sitio del tumor e inhiben la respuesta de CTL específicos^{9,17,24}.

Debido a los mecanismos moleculares de la transición epitelio mesenquimal (EMT/ del inglés: *epithelial-mesenchymal transition*), la invasión inicial de células del tumor en el estroma cercano ha sido sugerida como determinante para la progresión y supervivencia de varios tipos de tumores sólidos, entre los que se destacan el cáncer de mama^{25,26}.

El microambiente tumoral o inflamatorio favorece estos eventos de invasión, los cuales son iniciales en la cascada de formación de metástasis. En particular en el cáncer de mama, estudios recientes han evidenciado una recíproca interacción entre las células tumorales que emergen al estroma y la respuesta del microambiente supresor antitumoral²⁷.

CÉLULAS SUPRESORAS EXISTENTES EN EL MICROAMBIENTE DEL TUMOR DE MAMA

Entre estas células se destacan los TAMs2, las MDSCs, las células Treg, y los linfocitos B. Las células pertenecientes al linaje monocítico-macrofágico son las principales componentes de los infiltrados inflamatorios en tumores.

Los macrófagos asociados al tumor (TAMs), se identifican frecuentemente con el marcador CD68 y se originan a partir de monocitos circulantes. Su reclutamiento y supervivencia *in situ* son causados por la producción de citocinas y quimiocinas que interactúan con sus receptores. Los TAMs, son una población de macrófago reclutados y educados por las células del tumor donde existe un proceso de polarización de respuesta similar al descrito por células Th en su dicotomía Th1/Th2. La polarización de los TAMs a tipo I (TAMs1) o tipo II (TAMs2), depende de su activación por IFN- γ o IL-4, respectivamente. Sus diferencias radican en la producción de quimiocinas y citocinas, así como por su función efectora. Los TAM1 son potentes efectores citotóxicos que destruyen células tumorales y producen grandes cantidades de citocinas proinflamatorias. En cambio, los TAMs2 modulan la inflamación, son protumorales, promueven la remodelación de la matriz y la reparación del daño²⁸.

El microambiente inflamatorio crónico en cualquier tipo de cáncer, se relaciona más estrechamente con los TAMs2 y su establecimiento depende de la acción de citocinas como IL-10, TGF β beta y M-CSF. A nivel del microambiente, los TAMs2 producen citocinas y moléculas inmunosupresoras que inhiben las células efectoras de la respuesta inmune; además, reclutan células supresoras, promueven la angiogénesis, la invasión y progresión^{28,29}.

En los tumores mamarios, se ha demostrado una relación paracrina entre los TAMs y las células del tumor, ya que los TAMs expresan receptores M-CSF (M-CSFR), mientras que las células tumorales secretan un grupo de citocinas entre las que se destacan precisamente los factores estimulantes de colonia, como el M-CSF. Recíprocamente, los TAMs secretan el factor de crecimiento epidérmico (EGF/ del inglés: *epidermis growth factor*) y activan su receptor (EGFR), que se expresa en las células del tumor. Esto permite la comigración de los dos tipos celulares, aumenta la motilidad y la invasión subsecuente al tejido circundante, así como la migración de las células transformadas al interior de los vasos sanguíneos lo que favorece su diseminación³⁰.

Los linfocitos T reguladores (Treg), son una población de células fundamentalmente CD 4+, que constitutivamente expresan altos niveles de CD 25 (cadena α del receptor de IL 2) y un factor de transcripción denominado Forkhead box P3 (FOXP3). Otros marcadores de las células Treg son: el GITR (miembro de la familia de receptores del factor de necrosis tumoral α inducido por glucocorticoides), el CD11a, CD44, CD54, CD45RB, CD122, CD134, CD62L, y el CTLA-4, además altos niveles de receptores de quimiocinas y bajos niveles de CD127. Además, existen otras células con propiedades reguladoras, como las células T reg CD8+, doble negativas, NKTreg, B reg y T $\gamma\delta$. Se han caracterizado dos tipos fundamentales de linfocitos Treg: los linfocitos Treg naturales (nTregs) que son FOXP3+, se originan en el timo (vía señalización dependiente del reconocimiento de antígenos por el receptor de células T y el coreceptor CD28) y los T reg inducidos (iTregs), que se origina en los órganos linfáticos periféricos a partir de linfocitos vírgenes T CD4+CD25-FOXP3-³¹⁻³³.

Las células Treg naturales e inducidas están presentes entre los linfocitos que infiltran tumor (*tumor-infiltrating lymphocytes/TIL*) de diferentes tipos de tumores y suprimen la respuesta inmune antitumoral en el microambiente. En el cáncer de mama el porcentaje de células Treg FOXP3+ se incrementa con el desarrollo de la enfermedad y en pacientes con carcinoma ductal invasivo se ha asociado a un pronóstico desfavorable como disminución del tiempo a la progresión y de la supervivencia global ³⁴⁻³⁶.

Se ha reportado que la expresión de FOXP3 en tumores de mama, es mayor que en tejido sano y, que este se localiza en el citosol de las células transformadas y no en el núcleo como ocurre en las células sanas. Este fenómeno es indicador de una mutación en el gen codificante para dicho factor de transcripción, el cual se asocia a la proliferación celular y el desarrollo de metástasis por la expresión del receptor para la quimiocina CCL12 (CXC R4), el cual es un marcador del desarrollo de metástasis en carcinomas de la glándula mamaria. Por otra parte, se ha observado que el TGFβ, la IL10 y el FOXP3, se expresan en una proporción mucho más alta en carcinomas mamarios que en el tejido sano. Por tanto, en cáncer de mama, la observación de una población alta de linfocitos Treg en el infiltrado tumoral, con niveles de expresión de FOXP3 citosólico altos, así como presencia de citocinas supresoras (TGFβ, IL10) en el epitelio transformado, pudiera asociarse con la agresividad del tumor y la resistencia a la terapia ^{33,37}.

Existen investigaciones en estadios tempranos de la enfermedad donde se han evidenciado altos niveles de CTLA-4 y de moléculas de FOXP3, lo que sugiere que las T reg, que pueden expresar receptores inhibitorios tales como CTLA-4 y el PD-1, suprimen la respuesta inmune antitumoral y favorecen el crecimiento del tumor mamario^{17, 29,38}.

En el cáncer de mama, resulta interesante que las células Treg pueden ser inducidas por factores hormonales como el estradiol, lo cual es relevante en el proceso de carcinogénesis y se asocia a la producción del VEGF³⁹.

Las células supresoras de origen mielóide (MDSCs), representan una población heterogénea de células mieloides (de linaje monocítico o granulocítico) en diferentes estadios de diferenciación. Estas se clasifican por diferentes moléculas de superficie, que se expresan en dependencia del microambiente tumoral en donde se acumulen y actúan suprimiendo la respuesta inmune local por diversos mecanismos, entre los que se destacan: los relacionados a la expresión de arginasa (que cataboliza la L-arginina a ornitina y urea) y los que dependen de la expresión de laIDO (que cataboliza el triptófano) que producen eventos bioquímicos que inhiben fundamentalmente las CTL y las TH efectoras a nivel del microambiente^{40,41}.

La inducción de MDSCs ha sido reportada en diferentes tumores humanos, entre los que se destacan los carcinomas mamarios, siendo la definición de su fenotipo uno de los principales problemas para su caracterización a nivel tisular ⁴². Recientemente, se ha descrito en sangre periférica de pacientes con cáncer de mama, un incremento de una población de MDSCs de estirpe monocítica y fenotipo CD14⁺HLA-DR^{low/-}CD86^{low/-}CD80^{low/-}CD163^{low/-}, la cual es mayor durante la progresión y se correlaciona con el tamaño del tumor, así como con la presencia de metástasis linfáticas y viscerales ⁴³.

Tanto las MDSCs, como las Tregs, producen citocinas que pueden generar DCs inmaduras, que se caracterizan por expresar IDO, CTLA-4, PD-L1 y secretar citocinas como la IL10 y el TGF beta. Estas DCs no maduran de manera eficaz para el procesamiento y presentación antigénica y contribuyen a los efectos supresores en el microambiente ^{17,29}.

Los linfocitos B constituyen el 60 % de los TILs, y son expresados por, aproximadamente, el 20 % de los cánceres ductales invasivos de la mama. Existen evidencias de aumento significativo de células B maduras en ganglios centinelas de pacientes con tumores de mama, resultantes de un proceso de activación crónico mantenido de las células B, las cuales migran al microambiente y se localizan formando folículos ectópicos (acúmulos de células T y B en áreas perivacuolares). En estos folículos existen células B interdigitantes alrededor de DCs CD21+, y células plasmáticas maduras como indicador de cronicidad. Las células B desencadenan la quimioatracción de células supresoras de la inmunidad por la producción de MCSF, IL-6, e IL-10 y, promueven la progresión del tumor^{17,44}.

LOS LINFOCITOS INFILTRANTES DE TUMOR (TILS) COMO BIOMARCADOR DE EVALUACIÓN CLÍNICA EN CÁNCER DE MAMA

La presencia de TILs se ha observado en algunos tumores de mama, asociado a un buen pronóstico, particularmente en tumores menores de 2 cm, con ganglios negativos y bajo grado de diferenciación. Además, se han correlacionado positivamente con el aumento de la supervivencia en pacientes con tumores que no expresan el receptor de estrógeno (RE) y negativamente con la edad al diagnóstico⁴⁵.

Recientemente los TILs se han considerado como un biomarcador pronóstico y predictivo en los subtipos moleculares triple-negativos (TN) y HER2-positivo. Estudios pretratamiento del infiltrado de TILs (CD3+ y CD20+) en pacientes TN que recibieron iguales esquemas de quimioterapia, mostraron diferencias significativas en el índice de supervivencia libre de progresión (a los 3 años). Para pacientes con elevado número de TILs (>30 %), el índice fue del 90 %, mientras que para pacientes con TILs < 30 %, el índice de supervivencia libre de progresión solo fue del 66 %, lo cual sugiere que la presencia de TILs se asocia a pronóstico favorable. En el caso de pacientes HER2+, los TILs no fueron considerados como marcador de buen pronóstico; sin embargo, se asociaron con respuestas clínicas favorables en pacientes HER2+ tratados con altas dosis de antraciclinas^{38,46,47}.

Los TILs han sido identificados como una variable independiente predictiva de respuesta a la quimioterapia neoadyuvante en pacientes con cáncer de mama. Esto significa, que los pacientes en donde existe una elevada infiltración linfocitaria puede haber una respuesta efectiva a la quimioterapia neoadyuvante, sugiriendo que la pre-existencia de células del sistema inmune puede favorecer la citotoxicidad mediada por la quimioterapia^{48,49}.

En la actualidad un factor muy importante en la valoración de la neoadyuvancia, lo constituye la evaluación de la respuesta patológica. Las pacientes con respuesta patológica completa (pCR/ del inglés: *pathological complete response*) a la quimioterapia neoadyuvante tienen mejor pronóstico clínico, con un aumento en la supervivencia global y en la supervivencia libre de progresión. Múltiples estudios asocian la presencia de TILs (fundamentalmente linfocitos T CD8, CD4) con la aparición de pCR^{47,50}.

En algunas investigaciones, se correlacionó significativamente el incremento de la expresión del marcador de células T CD3+ con la existencia de una pCR. Contradictoriamente otros estudios muestran una elevada infiltración por células T CD3+ y CD8+ en pacientes sin pCR^{47,49,50}.

La fuerte asociación entre infiltrado pretratamiento y la respuesta a la neoadyuvancia pudiera justificar la utilización de estrategias inmunoterapéuticas previas a la quimioterapia.

Paralelamente se ha reportado que la quimioterapia neoadjuvante (antraciclinas, sales de platino, taxanos) puede inducir " *muerte celular o apoptosis inmunogénica*", lo que aumenta los TILs CD8⁺ en determinados grupos de pacientes y esto se asocia con evolución clínica favorable. Lo anterior se debe a que la acción de los agentes quimioterapéuticos sobre el tumor provoca la liberación de antígenos o moléculas que se consideran como " *señales de peligro*". Estos son reconocidos por DCs y presentados a TH CD4⁺ y CTL CD8⁺ (presentación cruzada), para generar una respuesta citotóxica efectiva; por tanto los TILs modificados por la quimioterapia pueden tener implicaciones en el pronóstico^{38,47}.

Recientemente, se han identificado las características fenotípicas y genómicas de los TILs en pacientes con cáncer de mama y se han descrito principalmente células T (CD3+/CD4+ o CD3+/CD8+), así como células B (CD20+), mientras que las células NK (CD3+/C56+) se expresan en una minoría y las células de CD8+ no expresan *granzyme* B. Además se han definido patrones de metilación específica en genes relacionados con funciones en la migración, tal es el caso de quimosinas como CXCL9 CXCL13 y CCL5^{46,48}.

Los niveles de expresión fenotípico y genómico de las células presentes en el microambiente del tumor de mama cambian en dependencia de múltiples factores clínicos, histopatológicos y moleculares, así como por las terapias recibidas (quimioterapia, radioterapia, o ambos). Múltiples investigaciones actuales se basan en validar las células del sistema inmune como biomarcadores; sin embargo, los resultados continúan siendo diversos y muy individualizados para el estrato de pacientes evaluados. Por tanto, existe la necesidad de realizar nuevas investigaciones prospectivas, donde se evalúen diferentes parámetros de la infiltración leucocitaria en tumores de mama, con la finalidad de poder determinar su real importancia como biomarcadores pronósticos o predictivos de respuesta terapéutica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015, 65 (2):87-108.
2. Fitzmaurice C, Dicker D, Pain A, Hamavid H, Moradi-Lakeh M, MacIntyre MF, et al. The Global Burden of Cancer 2013. *JAMA Oncol.* 2015, 1(4):505-27.
3. Skarin AT, Wardley A. *Breast Cancer.* New York: Mosby;2007.p.125-42.
4. Hellman S, Harris JR. *Diseases of the Breast.* Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins; 2000.p.407-23.
5. Devita V, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer: Principles and Practice of Oncology.*9thed. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins;2011.p.142-6.
6. Disis ML. Immune regulation of cancer. *J Clin Oncol.* 2010,28:4531-8.

7. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 2011, 331:1565-70.
8. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144: 646-74.
9. Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, Smyth MJ. New insights into cancer immunoediting and its three component phases-elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol*. 2014;27:16-25.
10. Stewart T, Tsai SC, Grayson H, Henderson R, Opelz G. Incidence of de-novo breast cancer in women chronically immunosuppressed after organ transplantation. *Lancet*.1995; 346: 796-8.
11. Arango MC, Faxas ME, Alvarez I, Camacho R, Rodríguez C. Compromiso del sistema inmune en pacientes con cáncer de mama. *Cancerología*. 2008;3 (4):191-7.
12. Hadden JW. The immunology and immunotherapy of breast cancer: an update. *Int J Immunopharmacol*.1999;21(2):79-101.
13. Mittendorf EA, Peoples GE, Singletary SE. Breast cancer vaccines: promise for the future or pipe dream? *Cancer*.2007;110:1677-86.
14. Balkwill F, Charles KA, Mantovani A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell*.2005;7:211-7.
15. de Visser KE, Coussens LM. The inflammatory tumor microenvironment and its impact on cancer development. *Contrib Microbiol*.2006;13:118-37.
16. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*.2001, 357:539-45.
17. De Nardo DG, Coussens LM. Inflammation and breast cancer. Balancing immune response: crosstalk between adaptive and innate immune cells during breast cancer progression. *Breast Cancer Res*. 2007;9:212.
18. Nicolini A, Carpi A, Rossi G. Cytokines in breast cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2006;17(5):325-37.
19. Rao VS, Dyer CE, Jameel JK, Drew PJ, Greenman J. Potential prognostic and therapeutic roles for cytokines in breast cancer. *Oncol Rep*. 2006;15(1):179- 85.
20. Mantovani A, Allavena P, Sica A. Tumour-associated macrophages as a prototypic type II polarised phagocyte population: role in tumour progression. *Eur J Cancer*.2004;40:1660-7.
21. Muraro E, Comaro E, Talamini R, Turchet E, Miolo G, Scalone S, et al. Improved Natural Killer cell activity and retained anti-tumor CD8 (+) T cell responses contribute to the induction of a pathological complete response in HER2-positive breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy. *JTransl Med*. 2015 Jun;13:204.

22. Parker KH, Beury DW, Ostrand-Rosenberg S. Myeloid-Derived Suppressor Cells: Critical Cells Driving Immune Suppression in the Tumor Microenvironment. *Adv Cancer Res.* 2015;128:95-139.
23. GujamFJ, McMillan DC, Mohammed ZM, Edwards J, Going JJ. The relationship between tumour budding, the tumour microenvironment and survival in patients with invasive ductal breast cancer. *Br J Cancer.* 2015 Sep 29;113(7):1066-74. doi: 10.1038/bjc.2015.287.
24. GajewskiTF, Schreiber H, Fu YX. Innate and adaptive immune cells in the tumour microenvironment. *Nat Immunol.* 2013;14:1014-22.
25. Dawson H, Lugli A. Molecular and pathogenetic aspects of tumor budding in colorectal cancer. *Front Med.* 2015;2:11.
26. Liang FL, Cao W, Wang YL, Li LR, Zhang GJ, Wang Z. The prognostic value of tumor budding in invasive breast cancer. *Pathol Res Pract.* 2013;209:269-75.
27. Gujam FJA, Edwards J, Mohammed ZMA, Going JJ, McMillan DC. The relationship between the tumour stroma percentage, clinicopathological characteristics and outcome in patients with operable ductal breast cancer. *Br J Cancer.* 2014 Jul 8;111(1):157-65. doi: 10.1038/bjc.2014.279.
28. Mantovani A, Allavena P, Sica A. Tumour- associated macrophages as a prototypic type II polarised phagocyte population: role in tumour progression. *Eur J Cancer.* 2004; 40:1660-7.
29. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008, 454:436-44.
30. Sousa S, Brion R, Lintunen M, Kronqvist P, Sandholm J, Mönkkönen J, et al. Human breast cancer cells educate macrophages toward the M2 activation status. *Breast Cancer Res.* 2015;17:101-4.
31. Schmetterer KG, Neunkirchner A, Pickl WF. Naturally occurring regulatory T cells: markers, mechanisms, and manipulation. *FASEB J.* 2012; 26(6):2253-76.
32. Chen X, Oppenheim JJ. Resolving the identity myth: key markers of functional CD4+FoxP3+ regulatory T cells. *Int Immunopharmacol.* 2011;11(10):1489-96.
33. Liu R, Li S, Yang W. IPEX Syndrome, FOXP3 and Cancer. *J Syndr.* 2013 Jun;1(1): 7.
34. Karanikas V, Speletas M, Zamanakou M. FOXP3 expression in human cancer cells. *J Transl Med.*2008;6:19-21.
35. Bates GJ, Fox SB, Han C, Leek RD. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse. *J Clin Oncol.* 2006; 24: 5373-80.
36. Chin Y, Janseens J, Vandepitte J. Phenotypic analysis of tumor infiltrating lymphocytes from human breast cancer. *Anticancer Res.*1992;12:1463-6.

37. Douglass S, Ali S, Meeson AP, Browell D, Kirby JA. The role of FOXP3 in the development and metastatic spread of breast cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2012; 31: 843-54.
38. Criscitiello C, Esposito A, Gelao L, Fumagalli L, Locatelli M, Minchella I, et al. Immune approaches to the treatment of breast cancer, around the corner? *Breast Cancer Res.* 2014;16:204-9.
39. Recchia F, Candeloro G, Necozone S, Desideri G, Cesta A, Recchia L, et al. Vascular endothelial growth factor expression and T-regulatory cells in premenopausal breast cancer. *Oncol Lett.* 2013;5 (4):1117-22.
40. Peranzoni E, Zilio S, Marigo I. Myeloid-derived suppressor cell heterogeneity and subset definition. *Curr Opin Immunol.* 2010; 22: 238-44.
41. Montero AJ, Diaz-Montero CM, Kyriakopoulos CE, Bronte B, Mandruzzatoz S. Myeloid-derived Suppressor Cells in Cancer Patients: A Clinical Perspective. *J Immunother.* 2012;35(2):107-14.
42. Diaz-Montero CM, Salem ML, Nishimura MI. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicincyclophosphamide chemotherapy. *Cancer Immunol Immunother.* 2009; 58: 49-59.
43. Bergenfelz C, Larsson AM, von Stedingk K, Gruvberger-Saal S, Aaltonen K, Jansson S, et al. Systemic Monocytic-MDSCs Are Generated from Monocytes and Correlate with Disease Progression in Breast Cancer Patients. *PLoS One.* 2015; May;10 (5): e0127028.
44. Coronella-Wood JA, Hersh EM: Naturally occurring B-cell responses to breast cancer. *Cancer Immunol Immunother.*2003;52:715-38.
45. Mahmoud SM, Paish EC, Powe DG, Macmillan RD, GraingeMJ, Lee AH, et al. Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2011;29:1949-55.
46. Ruffell B, Au A, Rugo HS, Esserman LJ, Hwang ES, Coussens LM. Leukocyte composition of human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109:2796-01.
47. Ladoire S, Mignot G, Dabakuyo S, Arnould L, Apetoh L, Rébé C, et al. In situ immune response after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer predicts survival. *J Pathol.* 2011;224:389-400.
48. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Müller BM, Komor M, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J ClinOncol.* 2010;28:105-13.
49. 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;26:1024-31.

50. Lee HJ, SeoJH, AhnJH, AhnSH, Gong G. Tumor-Associated Lymphocytes Predict Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer Patients. J Breast Cancer. 2013; 16 (1): 32-9.

Recibido: agosto 26, 2015.

Aceptado: enero 22, 2016.

Dra C. María del Carmen Arango Prado. Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología. Calle 29 esquina a F. Municipio Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba. Telef (53) 7 838 86 65.
Email: carmenap@infomed.sld.cu