



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD  
HOSPITAL DE GINECO OBSTETRICIA No. 4  
“LUIS CASTELAZO AYALA”**

**ASOCIACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO PATOLÓGICAS  
CON LA INFILTRACIÓN LINFOCITARIA TUMORAL (ILT) EN  
PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA INVASOR.**

**TESIS  
PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN  
GINECOLOGÍA ONCOLÓGICA**

**PRESENTA  
DR. ABISAÍ MONTAÑO MARTÍNEZ**

**ASESORES:  
DRA. JANETT CABALLERO JASSO  
DR. VÍCTOR ALBERTO OLGUÍN CRUCES**



**GRADUACIÓN FEBRERO DE 2022**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Índice

Carta de aceptación del trabajo de tesis	3
Agradecimientos	4
Resumen	5
Abstract	6
Antecedentes científicos	7
Objetivo	10
Justificación	11
Planteamiento del problema	12
Material y métodos	13
Procedimientos para la recolección de datos	14
Análisis estadístico	15
Consideraciones éticas	16
Resultados	17
Discusión	19
Conclusiones	21
Tablas	22
Gráficos	23
Bibliografía	28
Anexos	31

**Carta de aceptación del trabajo de tesis**

Por medio de la presente informo que el Dr. Abisaí Montaña Martínez, residente de la especialidad de rama en Ginecología Oncológica ha concluido la escritura de su tesis “ASOCIACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO PATOLÓGICAS CON LA INFILTRACIÓN LINFOCITARIA TUMORAL (ILT) EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA INVASOR” y otorgamos la autorización para la presentación y defensa de la misma.

Registro del Comité Local de Investigación

**R-2020-3606-033**

---

**Dr. Oscar Moreno Álvarez**

Director General  
Unidad Médica de Alta Especialidad  
Hospital de Gineco Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala”  
Instituto Mexicano del Seguro Social

---

**Dr. Juan Carlos Martínez Chéquer**

Director de Educación e Investigación en Salud  
Unidad Médica de Alta Especialidad  
Hospital de Gineco Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala”  
Instituto Mexicano del Seguro Social

---

**Dr. Sebastián Carranza Lira**

Jefe de la División de Investigación en Salud  
Unidad Médica de Alta Especialidad  
Hospital de Gineco Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala”  
Instituto Mexicano del Seguro Social

---

**Dra. Janett Caballero Jasso**

Médico Adscrito al Servicio de Oncología Mamaria  
Unidad Médica de Alta Especialidad  
Hospital de Gineco Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala”  
Instituto Mexicano del Seguro Social

---

**Dr. Víctor Alberto Olguín Cruces**

Médico Adscrito al Servicio de Patología  
Unidad Médica de Alta Especialidad  
Hospital de Gineco Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala”  
Instituto Mexicano del Seguro Social

## Agradecimientos

*La oncología es la medida del caos, una respuesta a voces a la intemporalidad.  
Cuando el resto de la ciencia cree estar llena de certezas, la oncología está plena de dudas, y eso  
la hace y hará siempre insaciable.*

A mis padres, por concederme todas las posibilidades de ser. Con ellos tengo la impresión de que nada es imposible.

A mis asesores de tesis, Dra. Janett Caballero Jasso y Dr. Víctor Alberto Olguín Cruces, por permitirme formar parte de este proyecto.

A mis maestros, auténticos guías en este camino; por confirmarme que no me equivoqué al elegir el lugar correcto para mi formación. He aprendido a nunca dejar de aprender.

A mis amigos, por la mano incondicional aún en tiempos borrascosos.

Este grado es de todos ustedes.

## Resumen

**Antecedentes.** El cáncer de mama es la primera neoplasia maligna diagnosticada con mayor frecuencia solo superada por el cáncer de pulmón<sup>1</sup>. Las neoplasias representan un grupo extenso de enfermedades heterogéneas con múltiples alteraciones genómicas y proteómicas que confieren a cada neoplasia un fenotipo particular<sup>4</sup>. Se ha demostrado que la infiltración leucocitaria, particularmente de linfocitos infiltrantes de tumor (TILs) mejora el pronóstico en diferentes neoplasias como colon, ovario y pulmón. La presencia de infiltrados linfocitarios refleja la respuesta inmune del paciente frente a las neoplasias. La evaluación patológica del infiltrado linfocitario aún no se considera un factor pronóstico en las pacientes con cáncer de mama debido a que no existen guías estandarizadas que validen su relevancia, la cual aún parece ser no entendida completamente ya que las opiniones aún son diversas e inconsistentes<sup>21</sup>.

**Objetivo.** Describir la asociación de las características clínico patológicas y perfil inmunofenotípico con la infiltración linfocitaria tumoral en pacientes con cáncer de mama.

**Material y métodos.** Se realizó un estudio observacional, retrospectivo y comparativo para mostrar la asociación de las características clínico patológicas y perfil inmunofenotípico con la infiltración linfocitaria tumoral en pacientes con reporte histopatológico de cáncer de mama en el servicio de Anatomía patológica de la UMAE Hospital de Gineco – Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala” durante el periodo de enero de 2019 a diciembre de 2019. Se utilizó estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de dispersión para las variables demográficas cuantitativas, además de tablas o gráficos de frecuencias para las variables cualitativas. Se realizaron inferencias con las estadísticas existentes en la literatura a manera de discusión y se redactaron conclusiones.

**Resultados.** Durante el periodo del 01 de enero al 31 de diciembre de 2019, se analizaron 296 casos de cáncer de mama, con una mediana de edad de 59 años (rango 25 – 89 años). La histología más frecuente fue el carcinoma invasor sin patrón específico que representó el 78.4% (n=232), le siguieron en orden de frecuencia el carcinoma lobulillar invasor con 8.8% (n=26) y el carcinoma mixto con el 7.4% (n=22). Luminal A fue el inmunofenotipo predominante con el 69.9% (n=207). Las etapas tempranas representaron el 52.7% de los casos (n=156). El 65.2% de los casos (n= 193) presentó infiltración linfocitaria tumoral. Las variables estadísticamente significativas fueron la edad, la histología, el inmunofenotipo, grado histológico y estado ganglionar.

**Conclusiones.** A medida que aumenta la evidencia de que los TILs tienen un valor pronóstico y predictivo, se requiere de forma imperativa un enfoque de evaluación estandarizado; por lo cual consideramos, que el reporte histopatológico incluya el informe de los TILs como un factor pronóstico adicional que complemente a los ya establecidos como el perfil molecular, el tamaño tumoral y el estado ganglionar, y que pueda ser de utilidad para identificar subgrupos pronósticos específicos que se beneficien de un plan de tratamiento más individualizado.

**Palabras clave.** TILs, cáncer, mama, infiltrado linfocitario, inmunofenotipo.

## Abstract

**Background.** Breast cancer is the first most frequently diagnosed malignant neoplasm, second only to lung cancer<sup>1</sup>. Neoplasms represent a large group of heterogeneous diseases with multiple genomic and proteomic alterations that give each neoplasm a particular phenotype<sup>4</sup>. It has been shown that leukocyte infiltration, particularly of tumor infiltrating lymphocytes (TILs), improves prognosis in different neoplasms such as colon, ovarian and lung. The presence of lymphocytic infiltrates reflects the patient's immune response to neoplasms. The pathological evaluation of the lymphocyte infiltrate is still not considered a prognostic factor in breast cancer patients because there are no standardized guidelines that validate its relevance, which still seems to be not fully understood since opinions are still diverse and inconsistent<sup>21</sup>.

**Objective.** To describe the association of clinicopathological characteristics and immunophenotypic profile with tumor lymphocytic infiltration in breast cancer patients.

**Material and methods.** An observational, retrospective and comparative study was conducted to show the association of clinicopathological characteristics and immunophenotypic profile with tumor lymphocytic infiltration in patients with histopathological report of breast cancer in the Anatomic Pathology Service of the UMAE Hospital de Gineco - Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala" during the period from January 2019 to December 2019. Descriptive statistics with measures of central tendency and dispersion were used for quantitative demographic variables, in addition to frequency tables or graphs for qualitative variables. Inferences were made with existing statistics in the literature for discussion purposes and conclusions were drawn.

**Results.** During the period from January 01 to December 31, 2019, 296 cases of breast cancer were analyzed, with a median age of 59 years (range 25 - 89 years). The most frequent histology was invasive carcinoma without specific pattern accounting for 78.4% (n=232), followed in order of frequency by invasive lobular carcinoma with 8.8% (n=26) and mixed carcinoma with 7.4% (n=22). Luminal A was the predominant immunophenotype with 69.9% (n=207). Early stages accounted for 52.7% of cases (n=156). Tumor lymphocytic infiltration was present in 65.2% of cases (n=193). Statistically significant variables were age, histology, immunophenotype, histologic grade and nodal status.

**Conclusions.** As evidence mounts that TILs have prognostic and predictive value, a standardized evaluation approach is imperative; therefore, we believe that histopathology reporting should include TILs as an additional prognostic factor that complements established factors such as molecular profile, tumor size, and nodal status, and may be useful in identifying specific prognostic subgroups that benefit from a more individualized treatment plan.

**Keywords.** TILs, cancer, breast, lymphocyte infiltrate, immunophenotype.

## Antecedentes científicos

El cáncer de mama es la primaria neoplasia maligna diagnosticada con mayor frecuencia solo superada por el cáncer de pulmón, y representa más de dos millones de casos cada año<sup>1</sup>. También es la principal causa de muerte por cáncer en mujeres en todo el mundo. En los Estados Unidos, el cáncer de mama es el cáncer femenino más común y la segunda causa más común de muerte por cáncer en mujeres<sup>2</sup>. En América Latina, el cáncer de mama es el cáncer más frecuente con 152,059 casos diagnosticados anualmente, una cuarta parte (24.9%) de los casos de cáncer en mujeres. Es también la principal causa de muerte por un tumor maligno en la mujer latinoamericana, con 43,208 defunciones y tasas de mortalidad de 13. En México, a partir del año 2006, el cáncer de mama desplaza al cáncer cérvico uterino para ubicarse como la primera causa de muerte por cáncer en la mujer. Anualmente se estima una ocurrencia de 20,444 casos en mujeres, con una incidencia de 35.4 casos por 100,000 mujeres. En el año 2013, se registraron 5,405 defunciones en mujeres con una tasa de 16.3 defunciones por 100,000 mujeres<sup>3</sup>.

Las neoplasias representan un grupo extenso de enfermedades heterogéneas con múltiples alteraciones genómicas y proteómicas que confieren a cada neoplasia un fenotipo particular<sup>4</sup>. En cáncer, la transformación neoplásica altera la estructura de los tejidos e induce una respuesta inmunológica que conduce a la eliminación de las neoplasias a través de la inmuno vigilancia; la falta de ésta resulta en un “escape” del control inmunológico conocido como *immunoediting*, proceso dinámico de progresión tumoral que consiste en tres fases: eliminación, equilibrio y escape; durante el cual el tumor desarrolla cambios en su inmunogenicidad debido a la interacción con el sistema inmunológico. En la fase de eliminación las células tumorales son eliminadas mediante el mecanismo de inmuno vigilancia; durante la fase de equilibrio las células transformadas persisten, pero se mantienen contenidas por el sistema inmune, y durante la fase de escape las células malignas evaden el control inmunitario e inician la progresión tumoral. Todo este proceso es mediado principalmente por leucocitos y citocinas<sup>5,6</sup>.

Se ha demostrado que la infiltración leucocitaria, particularmente de linfocitos mejora el pronóstico en diferentes neoplasias como colon, ovario y pulmón. Históricamente el cáncer de mama no se consideraba inmunológicamente activo, particularmente cuando se compara con neoplasias como el melanoma. La respuesta inmunitaria adaptativa en cáncer de mama puede observarse desde las lesiones precursoras con atipia, pasando por el carcinoma *in situ* hasta el carcinoma invasor<sup>7,8</sup>. La presencia de infiltrados linfocitarios refleja la respuesta inmune del paciente frente a las neoplasias. Frecuentemente se observan infiltrados linfocitarios en los tumores, aproximadamente el 75% son Linfocitos T, 20% Linfocitos B, menos del 10% monocitos y 5% células asesinas naturales (NK)<sup>9,10</sup>. La magnitud del infiltrado linfocitario no es el único factor que determina el desenlace clínico, sino también el fenotipo del infiltrado<sup>11,12</sup>. Una respuesta inmune citotóxica eficaz y específica contra un tumor requiere un complejo que evoluciona rápidamente la interacción, entre diversos tipos de células inmunes en el sistema adaptativo e innato. Los linfocitos CD8+ y subclases Th1 / Th2 de



linfocitos T CD4+ inician la distinción entre antígenos propios y no propios, mediante el reconocimiento en la "sinapsis inmune". Las células NK no requieren la presentación de antígenos por el complejo principal de histocompatibilidad para la actividad citotóxica, y expresan numerosas moléculas inhibitoras, en particular varios subtipos de receptores similares a inmunoglobulinas asesinas<sup>13</sup>. Los tipos de células adicionales, como FoxP3+ CD25+ CD4+ T regulador (Treg) y las células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) inhiben en gran medida la actividad de los linfocitos T citotóxicos<sup>14,15</sup>. Las células Th17, subconjuntos de células T CD4+ que secretan interleucina (IL) 17, están implicadas en la autoinmunidad y el cáncer<sup>16</sup>. Los macrófagos se diferencian en al menos dos fenotipos diferentes: macrófagos M1, que liberan interferón (IFN) gamma y son responsables de la fagocitosis, y macrófagos M2, que liberan citocinas como IL-4, IL-10, factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta), y amortiguar las respuestas inflamatorias y fomentar la tolerancia<sup>17</sup>.

Existen diversas formas de medir la interacción entre el tumor y el sistema inmune, entre las más utilizadas se encuentran el análisis con tinción de Hematoxilina y Eosina (HyE), evaluación de subgrupos específicos de linfocitos por inmunohistoquímica y determinación de la expresión de genes relacionados con células inmunes<sup>9,10</sup>. En la evaluación en tinciones de HyE dependiendo del sitio donde se encuentra el infiltrado se clasifican en infiltrados linfocitarios estromales (stromal TILs) que se definen como los linfocitos dispersos en el estroma y los infiltrados linfocitarios intratumorales (intratumoral TILs) localizados dentro de los nidos de carcinoma que se encuentran en contacto directo con las células tumorales. En los estudios realizados se considera que los infiltrados estromales son marcadores más estables y reproducibles que los intratumorales ya que se encuentran con mayor frecuencia. El método inicial de medición de los infiltrados linfocitarios fue propuesto por Denkert y colaboradores en el 2010, posteriormente se organizó el *International TILs Working Group* con participantes experimentados que habían colaborado en estudios clínicos fase III estableciendo recomendaciones para el método de evaluación de los infiltrados<sup>6,7</sup>. En cáncer de mama invasor el mayor beneficio se ha observado en tumores con >50-60% de infiltrado denominados CMPL por cáncer de mama con predominio de linfocitos<sup>18</sup>.

Diferentes estudios han indicado la asociación entre la infiltración linfocitaria y el pronóstico. En el estudio publicado en 1992 por Aaltoma y colaboradores se reportó que la infiltración linfocitaria se asociaba con un mejor pronóstico, pero únicamente en tumores con rápida proliferación<sup>19,20</sup>. En el 2010, el significado clínico de los infiltrados linfocitarios como biomarcadores asociados a la respuesta patológica fue identificado por Denkert y colaboradores, su hallazgo más importante fue demostrar que el hallazgo de infiltrados linfocitarios previos a la quimioterapia es un factor predictivo de respuesta patológica incrementando las tasas de respuesta patológica completa independientemente del subtipo molecular<sup>20</sup>. De igual manera Loi y colaboradores en el estudio BIG 02-98 reportaron el papel pronóstico de los infiltrados linfocitarios en cáncer de mama triple negativo, observando que por cada 10% en el aumento del infiltrado linfocitario tumoral estromal disminuye 17% el riesgo de muerte<sup>21</sup>. El estudio FIN-HER sugiere que la presencia incrementada

de infiltrado linfocitario tumoral se asocia a una mejor respuesta con Trastuzumab adyuvante, ya que estos pacientes presentaron una sobrevida mayor en comparación con aquellos que no mostraron infiltrado linfocitario tumoral predominante<sup>22</sup>. Desde el punto de vista de Anatomía Patológica el concepto de tumor con infiltración linfocitaria predominante es similar al cáncer de mama medular clásico descrito por Moore en 1949, se ha observado que este tipo histológico en particular tiene buen pronóstico, sin embargo, el carcinoma medular puro es extremadamente raro<sup>23</sup>.

Cuando se relacionan los infiltrados linfocitarios con las características histopatológicas los resultados son diversos; Baker y colaboradores encontraron que existe un mejor pronóstico en pacientes con receptores hormonales negativos de alto grado que en los tumores con receptores hormonales positivos de bajo grado<sup>24</sup>. En otros estudios se ha observado una relación positiva respecto a la sobrevida con el grado histológico alto y la presencia de invasión linfovascular<sup>25</sup>, así como la ausencia de receptores de estrógenos y progesterona<sup>25,26</sup> incluso en adyuvancia; sin embargo, no se ha encontrado relación con el tamaño tumoral (T) y el estado ganglionar (N)<sup>27</sup>.

Posteriormente se han desarrollado múltiples estudios respecto al papel del sistema inmune en el cáncer de mama, especialmente en los tumores triple negativos y HER-2 positivos. Sin embargo, la evaluación patológica del infiltrado linfocitario aún no se considera un factor pronóstico en las pacientes con cáncer de mama debido a que no existen guías estandarizadas que validen su relevancia, la cual aún parece ser no entendida completamente ya que las opiniones aún son diversas e inconsistentes<sup>21</sup>.

**Objetivo**

Describir la asociación de las características clínico patológicas y perfil inmunofenotípico con la infiltración linfocitaria tumoral en pacientes con cáncer de mama invasor.

## **Justificación**

El cáncer de mama es un problema de salud pública, por lo que es indispensable la vigilancia y el estudio de los grupos de mujeres afectadas con esta enfermedad, con el propósito de detectar factores asociados o factores pronósticos que influyen en la sobrevida, respuesta al tratamiento y pronóstico.

Esta investigación está encaminada a describir las características moleculares de pacientes diagnosticadas con cáncer de mama, con la finalidad de que los resultados arrojados, puedan ser de utilidad en la implementación y mejora de terapias dirigidas a este grupo de población.

La finalidad de este estudio de investigación, es describir el comportamiento inmunogénico de los tumores de mama en mujeres atendidas en esta unidad, en relación a las características clínicas y patológicas.

**Planteamiento del problema**

¿Cuál es la asociación de las características clínico patológicas con la infiltración linfocitaria tumoral en pacientes con cáncer de mama invasor?

## **Material y métodos**

Se realizó un estudio observacional, retrospectivo y comparativo, el cual fue autorizado por el comité local de investigación y ética en investigación en salud de la UMAE Hospital de Gineco Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala" con número de registro **R-2020-3606-033**.

Se identificaron las muestras de biopsias por aguja gruesa que fueron realizadas por el servicio de oncología mamaria y fueron referidas al servicio de patología durante el periodo comprendido entre el 01 de enero del 2019 al 31 de diciembre del 2019.

Se incluyeron solo los casos de cáncer de mama invasor, con diagnóstico de primera vez, excluyendo los casos de biopsias de recurrencia.

**Procedimientos para la recolección de datos**

1. Se revisó la base de datos del servicio de Patología, y se obtuvo el recuento de casos de biopsias de mama totales por el servicio de oncología mamaria realizados durante el periodo del 1 enero del 2019 al 31 de diciembre del 2019.
2. Se realizó la recolección de datos y se contabilizaron únicamente las laminillas con diagnóstico de cáncer de mama invasor, excluyendo los casos de recurrencia y los casos de carcinoma in situ.
3. Se analizaron las laminillas con cáncer de mama invasor para obtener el porcentaje de infiltrado linfocitario tumoral, de acuerdo a las recomendaciones del International TILs Working Group 2014.
4. Se procedió a buscar información en el expediente electrónico de los casos de cáncer de mama invasor analizados para el porcentaje de TILs, a fin de realizar la base de datos con las distintas variables clínico patológicas.
5. Se realizaron porcentajes y medidas de tendencia central de los casos registrados.
6. Se hicieron tablas de los casos obtenidos.
7. Se compararon los resultados obtenidos con lo mencionado en la literatura médica.
8. Se realizó discusión del tema y de los resultados obtenidos.
9. Se realizaron las conclusiones de los resultados obtenidos.

**Análisis estadístico**

Se describieron las características de los pacientes, se utilizó estadística descriptiva, los resultados se expresaron en mediana y porcentajes, así como medidas de tendencia central. Se aplicó la tabla de contingencia 2x2 y para establecer la asociación entre dos variables se empleó la prueba de chi cuadrada. Se aceptó como significativo cualquier valor de la  $p < 0.05$ .



### Consideraciones éticas

1. El investigador garantiza que este estudio tuvo apego a la legislación y a la reglamentación de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud, lo que brinda mayor protección a los sujetos del estudio.
2. De acuerdo al artículo 17 de Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud, este proyecto está considerado como **Investigación sin riesgo**, únicamente se consultaron registros del expediente clínico y electrónico.
3. Los procedimientos de este estudio, se apegaron a las normas éticas, al Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud y se llevaron a cabo en plena conformidad con los siguientes principios de la “Declaración de Helsinki” (y sus enmiendas en Tokio, Venecia, Hong Kong y Sudáfrica) donde el investigador garantiza que:
  - a. Se realizó una búsqueda minuciosa de la literatura científica sobre el tema a realizar.
  - b. Este proyecto fue sometido a evaluación por el Comité de Ética en Investigación y el Comité Local de Investigación en Salud de la UMAE HGO 4 “Luis Castelazo Ayala” del Instituto Mexicano del Seguro Social, siendo autorizado con el número **R-2020-3606-033** (Anexo 1).
  - c. Debido a que, para el desarrollo de este proyecto, únicamente se consultaron registros del expediente clínico y electrónico, y no se registraron datos confidenciales, que permitan la identificación de las participantes, no se requirió carta de consentimiento informado.
  - d. Este proyecto se realizó por personas científicamente calificadas, y bajo la supervisión de un equipo de médicos clínicamente competentes y certificados en su especialidad.
  - e. Este proyecto guardó la confidencialidad de las personas.
4. Se respetaron cabalmente los principios contenidos en el código de Núremberg y el informe Belmont.

## Resultados

Durante el periodo del 01 de enero al 31 de diciembre de 2019, se realizaron 391 biopsias por aguja de corte de tumores mamarios, de los cuales se excluyeron 95 casos debido a que correspondían a casos de cáncer in situ, biopsias por recurrencia, histologías distintas (linfomas y sarcomas) y por falta de datos en el expediente. Se analizaron 296 casos y se obtuvieron los siguientes resultados (Ver tabla 1):

### *Características demográficas*

La mediana de edad fue de 59 años, con un rango entre 25 y 89 años. Las pacientes jóvenes (40 años o menores) analizadas en el periodo de estudio representaron el 7.1% de los casos (n=21), y las pacientes mayores de 70 años correspondieron al 20.6% (n=61).

De los casos analizados, la mayoría se encontraba en estado post menopáusico, correspondiendo al 69.6% (n= 206), comparado con las pacientes pre menopáusicas con el 30.4% (n=90).

### *Características de la neoplasia*

La histología más frecuente documentada durante el periodo del análisis fue el carcinoma invasor sin patrón específico que representó el 78.4% (n=232), le siguieron en orden de frecuencia el carcinoma lobulillar invasor con 8.8% (n=26) y el carcinoma mixto con el 7.4% (n=22).

La proporción de casos analizados, respecto al perfil molecular, fue de la siguiente manera: Luminal A, como inmunofenotipo predominante con el 69.9% (n=207), le siguieron en orden de frecuencia los perfiles Luminal B con 14.2% (n=42), triple negativo con 13.2% (n=39) y Her2/neu puro con 2.7% (n=8).

En cuanto a la etapa clínica de presentación, la mayoría correspondió a etapas tempranas, representando el 52.7% de los casos (n=156); siendo la etapa clínica IA la más frecuente, con un registro del 30.4% (n=90) y la etapa IIA, con el 22.3% (n=66%). En orden de frecuencia, le siguió la etapa IIIA con 58 casos (19.6%). La etapa IV fue la menos frecuente con 3 casos (1%).

El tratamiento inicial que recibieron las pacientes fue acorde a la etapa clínica de presentación, siendo la cirugía el tratamiento más frecuente (79.4%), seguido de quimioterapia neoadyuvante (19.6%), y quimioterapia paliativa para los casos de enfermedad metastásica (1%).

### *Linfocitos infiltrantes tumorales*

De los 296 casos analizados en el presente estudio, el 65.2% (n= 193) presentó infiltración linfocitaria tumoral, definido como los linfocitos presentes en los nidos de las células tumorales y dispersos en el estroma peritumoral, en 10% o más.

La presencia de infiltrado linfocitario tumoral, se correlacionó con las diferentes variables clínico – patológicas, observando los siguientes resultados:

Para la edad, se encontró diferencia estadísticamente significativa (p=0.019), observando que, en pacientes de 70 años o menores, el porcentaje de TILs fue de 83.4%, comparado en el 16.6% de tumores con TILs en la población mayor de 70 años (OR 0.51, IC 95% 0.29-0.9). Ver gráfico 1.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la correlación con el tamaño tumoral ( $p = 0.495$ ), ni estado menopáusico ( $p=0.094$ ).

Las histologías desfavorables (carcinoma invasor sin patrón específico, metaplásico, micropapilar, papilar, mixto) presentaron mayor porcentaje de infiltración por linfocitos (67.9%) versus las histologías favorables, representadas por los carcinomas lobulillar, mucinoso, tubular, y tubulolobulillar (41.9%), diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.004$ ), con OR 2.93 (IC 95% 1.37-6.26). Ver gráfico 2.

En el análisis de subgrupos comparando las histologías más frecuentes (carcinoma invasor sin patrón específico vs carcinoma lobulillar invasor), se encontró diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de TILs, 68.1% vs 38.5% respectivamente ( $p=0.003$ ), OR 3.42 (IC 95% 1.48-7.89). Ver gráfico 3.

En relación al inmunofenotipo, los subtipos Triple negativo y Her2/neu puro, presentaron mayor presencia de infiltrado linfocitario, independientemente de la localización, con significancia estadística ( $p = 0.003$ ); y al realizar el análisis de la localización del infiltrado también se observó significancia estadística ( $p= 0.005$ ), siendo el infiltrado intratumoral más frecuente en estos perfiles. Los perfiles que presentaron menor porcentaje de TILs fueron los luminales A y B. Ver gráfico 4.

Respecto al grado histológico, los tumores con mayor grado de diferenciación mostraron mayor infiltración linfocitaria ( $p = 0.001$ ) predominantemente intratumoral ( $p = 0.001$ ).

En cuanto al estado ganglionar, se observó una fuerte relación entre la cantidad de ganglios afectados (N0, N1, N2 y N3) y la presencia de infiltrados linfocitarios ( $p = 0.027$ ), con evidencia de que el estado ganglionar positivo se relacionó con TILs predominantemente intratumorales, asociación estadísticamente significativa ( $p = 0.059$ ). Ver gráfico 5.

## Discusión

En la UMAE Hospital de Gineco Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala” del IMSS se cuenta con el servicio de Oncología Mamaria, en donde se otorga atención a la población derechohabiente con patología mamaria benigna y maligna. En cuanto a la atención de pacientes con cáncer de mama, las etapas clínicas de mayor presentación corresponden a las etapas tempranas, tal como lo demuestran los resultados de este estudio.

La evaluación morfológica de los linfocitos infiltrantes de tumores en el cáncer de mama está ganando impulso a medida que la evidencia refuerza la relevancia clínica y pronóstica de este biomarcador inmunológico, en particular en los subtipos HER2 + y triple negativo. Sin embargo, aún no se ha logrado la implementación como un biomarcador de rutina<sup>21</sup>.

El cáncer de mama es una enfermedad muy heterogénea, y diversos estudios han demostrado la inmunogenicidad de esta neoplasia, la cual ha sido ampliamente debatida; observando que las variantes de mejor pronóstico exhiben menor porcentaje de infiltración de linfocitos, mientras que las variantes más agresivas, presentan mayor infiltración linfocitaria; esto se ha descrito en los subtipos moleculares triple negativo y HER2 positivo, que están documentados como las condiciones más inmunogénicas<sup>24</sup>. La concentración de TILs en estos casos es alta, lo que concuerda con los resultados de nuestro estudio, en donde los inmunofenotipos biológicamente más agresivos mostraron mayores porcentajes de infiltrado linfocitario. En un análisis agrupado de 4 ensayos prospectivos, Kotoula y colaboradores encontraron que los niveles elevados de TILs fueron significativamente más frecuentes en los tumores con receptores hormonales negativos<sup>28</sup>. En el ensayo BIG 02-98, el porcentaje medio de TILs fue más alto en los tumores con receptores de estrógeno y HER2 negativos<sup>21</sup>.

Se han publicado varias estrategias para medir la interacción entre el tumor y el sistema inmunológico. Estos incluyen análisis por tinción con hematoxilina / eosina (HyE), evaluación de subgrupos específicos de células inmunes por inmunohistoquímica, inmunofluorescencia o citometría de flujo, así como la medición de la expresión de genes relacionados con el sistema inmunológico. El método aplicado con más frecuencia para detectar TILs es la evaluación semicuantitativa por microscopía óptica en portaobjetos teñidos con HyE<sup>29</sup>. La evaluación de las muestras de nuestro estudio utilizó tinción con HyE, ya que es un análisis que ahorra tiempo y es económico. La desventaja, es que este método no permite la evaluación de los subtipos específicos de células inmunes que comprenden los TILs, como las células T, las células B, las células NK o los macrófagos, cada uno de los cuales puede contribuir de manera diferente a la actividad antitumoral<sup>29</sup>.

Los estudios iniciales de TILs en cáncer de mama han evaluado los linfocitos estromales e intratumorales por separado. Para fines de diagnóstico en secciones teñidas con HyE, la mayoría de los estudios actuales han encontrado que los TILs estromales son un parámetro superior y más

reproducibles. Para fines de análisis del presente estudio, se evaluaron los linfocitos estromales e intratumorales de forma separada.

La mayoría de los estudios publicados no han evaluado formalmente las diferencias intra e interpersonales de puntuación de los patólogos. En la actualidad, no existen umbrales establecidos para TILs. En este presente estudio, la evaluación fue por porcentajes, siguiendo las recomendaciones del protocolo del International TILs Working Group 2014.

El cáncer de mama no se ha considerado tradicionalmente como un tumor inmunogénico típico. Sin embargo, es bien sabido que esta enfermedad es una mezcla heterogénea de diferentes subtipos moleculares y que los linfocitos que infiltran el tumor son relevantes para la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante y la supervivencia en ciertos subconjuntos de tumores.

Ali et al. y otros grupos muestran que ciertos subtipos de cáncer de mama, en particular los tumores RE negativos y RE positivos / HER2 positivos muestran evidencia de una importante interacción del tumor con el sistema inmune<sup>27</sup>. Evidentemente, la inmunidad antitumoral no es lo suficientemente eficaz para eliminar el tumor; sin embargo, la presencia de TILs representa una modulación del sistema inmunológico que podría ser útil en el desarrollo de nuevos tratamientos, por ejemplo, mediante la evaluación clínica de inhibidores de puntos de control inmunitarios. Los resultados sugieren que es importante que los estudios futuros se centren en los subtipos de cáncer de mama inmunogénicos relevantes.

La asociación de la edad con la presencia de TILs, de acuerdo a los hallazgos en este estudio, puede explicarse debido a la inmunosenescencia, que es un proceso de disfunción inmunológica que ocurre con la edad e incluye la remodelación de los órganos linfoides, lo que conduce a cambios en la función inmunológica en el envejecimiento, que está estrechamente relacionada con el desarrollo de infecciones, enfermedades autoinmunes y tumores malignos. En general, los parámetros inmunológicos son diferentes en relación a la edad; aunque actualmente hay pocos estudios sistemáticos sobre inmunosenescencia<sup>30</sup>.

Al igual que en otros estudios realizados, en este análisis no se observó asociación de TILs con el tamaño tumoral.

No existen estudios previos que describan la asociación de infiltrados linfocitarios con la histología y el grado de diferenciación, los hallazgos de este análisis demostraron que la presencia de TILs predomina en los carcinomas invasores sin patrón específico, así como en otras histologías desfavorables de menor incidencia. Respecto al grado histológico, se demostró una asociación directamente proporcional entre el grado y el porcentaje de TILs, es decir, los carcinomas más indiferenciados presentan mayor inmunogenicidad.

La significancia estadística encontrada en este análisis respecto a la asociación del estado ganglionar con el infiltrado linfocitario no ha sido descrita en la literatura previamente. Consideramos que esta asociación pudiera ser útil para estudios posteriores con el objetivo de demostrar si los TILs representan un parámetro predictor del estado ganglionar.

## **Conclusiones**

La evaluación del infiltrado linfocitario tumoral en el cáncer de mama es un parámetro válido, asequible y fácilmente disponible.

Representan un biomarcador, que parece tener más relevancia en el cáncer HER2 positivo y triple negativo; sin embargo, también podría tener relevancia al asociarse con otros factores pronósticos, como la edad, la histología, el grado y el estado ganglionar.

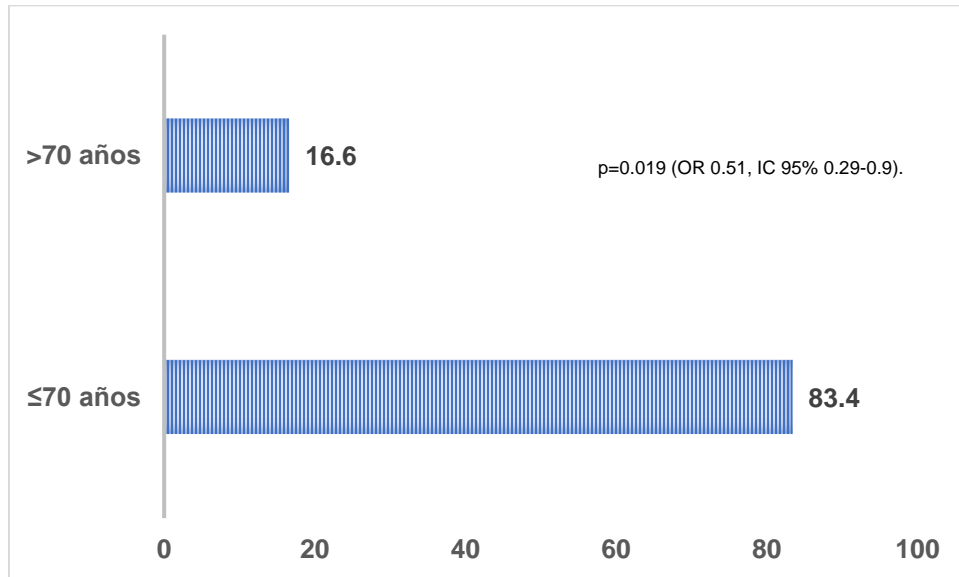
A medida que aumenta la evidencia de que los TILs tienen un valor pronóstico y predictivo, se requiere de forma imperativa un enfoque de evaluación estandarizado; por lo cual consideramos, que el reporte histopatológico incluya el informe de los TILs como un factor pronóstico adicional que complemente a los ya establecidos como el perfil molecular, el tamaño tumoral y el estado ganglionar, y que pueda ser de utilidad para identificar subgrupos pronósticos específicos que se beneficien de un plan de tratamiento más individualizado.

## Tablas

**Tabla 1.** Características demográficas, clínico patológicas y del tratamiento de la población estudiada.

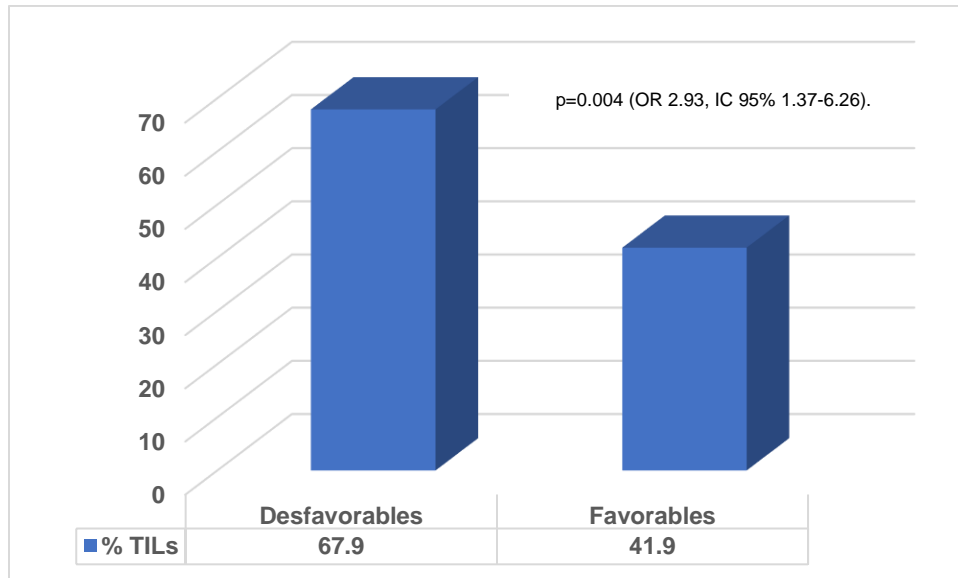
<b>Característica</b>	<b>% de pacientes (n)</b>
<b>No. de pacientes</b>	296
<b>Edad</b>	
≤40	7.1 (21)
41 – 50	22.3 (66)
51 – 60	24.3 (72)
61 – 70	25.7 (76)
>70	20.6 (61)
<b>Estado menopáusico</b>	
Premenopáusicas	30.4 (90)
Posmenopáusicas	69.6 (206)
<b>Etapa clínica</b>	
IA	30.4 (90)
IB	2.0 (6)
IIA	22.3 (66)
IIB	12.8 (38)
IIIA	19.6 (58)
IIIB	6.1 (18)
IIIC	5.7 (17)
IV	1.0 (3)
<b>Tratamiento primario</b>	
Cirugía	79.4 (235)
QT Neoadyuvante	19.6 (58)
QT Paliativa	1.0 (3)
<b>Tamaño tumoral (mm)</b>	
1 – 5	3.0 (9)
6 – 10	12.2 (36)
11 – 20	34.5 (102)
21 – 50	41.6 (123)
>50	8.8 (26)
<b>Estado ganglionar</b>	
N0	44.6 (132)
N1	25.7 (76)
N2	23.6 (70)
N3	6.1 (18)
<b>Histología</b>	
Invasor NST	78.4 (232)
Lobulillar	8.8 (26)
Mixto	7.4 (22)
Papilar	2.4 (7)
Micropapilar	1.0 (3)
Tubular	1.0 (3)
Metaplásico	0.3 (1)
Mucinoso	0.3 (1)
Tubulolobulillar	0.3 (1)
<b>Grado de diferenciación</b>	
Grado 1	13.5 (40)
Grado 2	51.0 (151)
Grado 3	35.5 (105)
<b>Inmunofenotipo</b>	
Luminal A	69.9 (207)
Luminal B	14.2 (42)
Triple negativo	13.2 (39)
Her2	2.7 (8)
<b>Infiltrado linfocitario tumoral</b>	
Ausente	34.8 (103)
Intratumoral	52.4 (155)
Estromal	12.8 (38)

## Gráficos

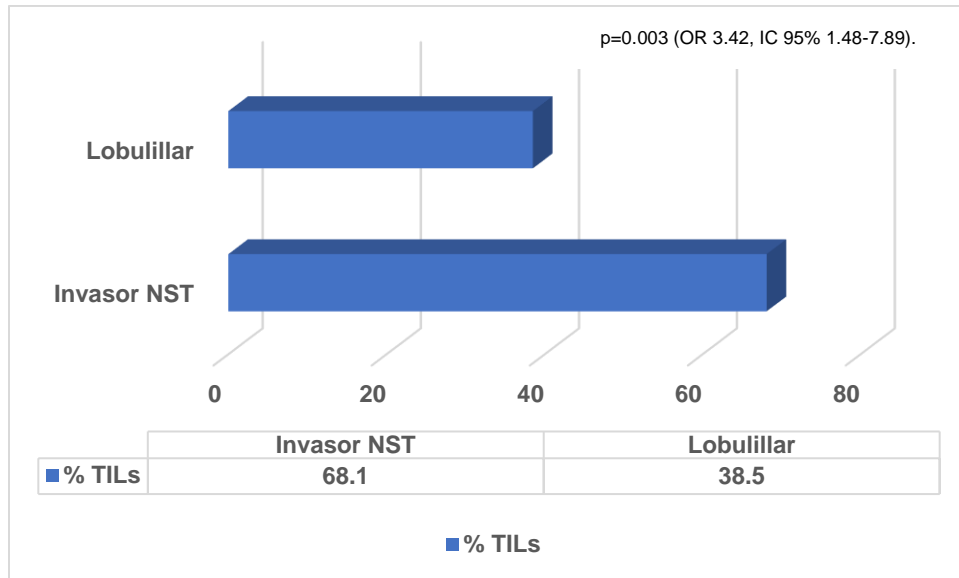


**Gráfico 1.** Asociación de los infiltrados linfocitarios tumorales con la edad.

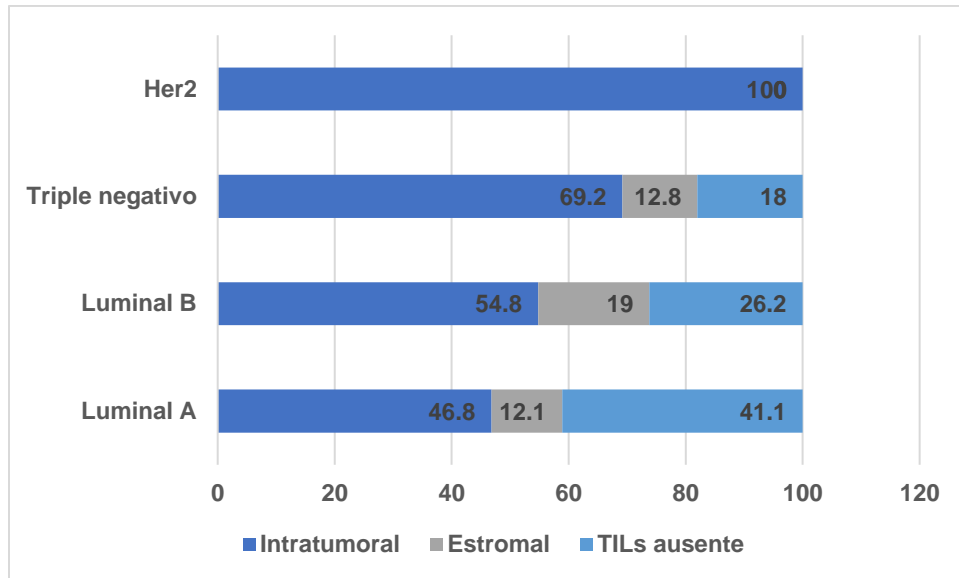




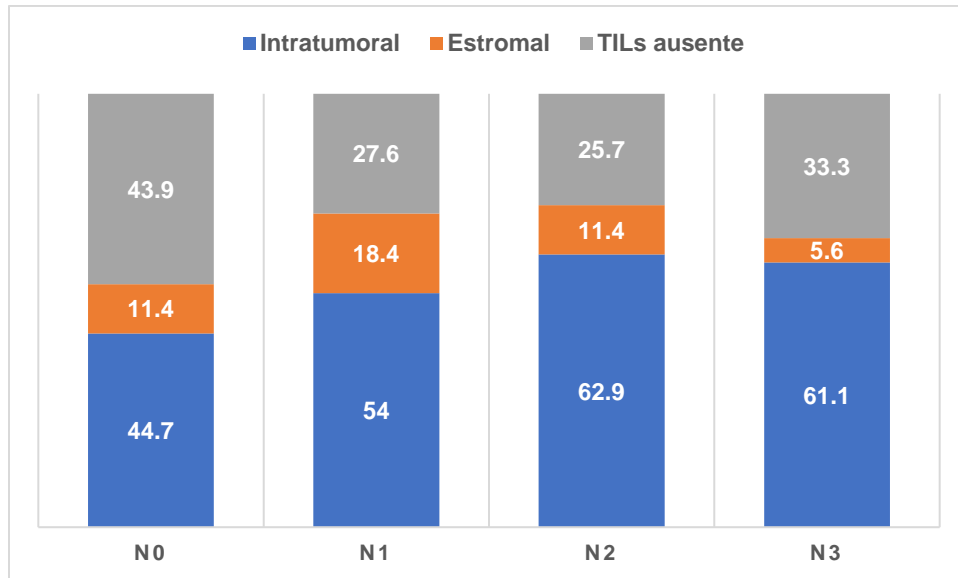
**Gráfico 2.** Asociación de los infiltrados linfocitarios tumorales con las histologías del cáncer de mama.



**Gráfico 3.** Asociación de los infiltrados linfocitarios tumorales con las histologías más comunes (invasor sin patrón específico vs lobulillar).



**Gráfico 4.** Asociación de los infiltrados linfocitarios tumorales y la localización con el inmunofenotipo.



**Gráfico 5.** Asociación de los infiltrados linfocitarios tumorales con el estado ganglionar y la localización del infiltrado.

## Bibliografía

1. World Health Organization International Agency for Research on Cancer. The Global Cancer Observatory. 2020 statistics. (Consultado en enero de 2020). Disponible en: <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf>
2. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin* 2020;70:7-30.
3. Secretaría de salud. Estadísticas de cáncer de mama y cáncer cérvico uterino. Septiembre de 2018. (Consultado en enero de 2020). Disponible en: <http://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/informacion-estadistica>
4. Cruz-Merino L, Barco-Sanchez A, Henao FC, Nogales FE, Vallejo BA, Brugal MJ, et al. New insights into the role of the Immune Microenvironment in Breast Carcinoma. *Clin and Develop Immunol* 2013;4:1-21.
5. 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.
6. Dushyanthen S, Beavis PA, Savas P, Teo ZL, Zhou C, Mansour M, et al. Relevance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer. *BMC Medicine* 2015; 13: 202-214.
7. Stanton SE, Disis ML. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cáncer. *J Immunotherapy of Cancer* 2016;4:59-65.
8. Mao Y, Qu Q, Zhang Y, Liu J, Chen K. The Value of Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) for Predicting Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS ONE* 2014;12:1-21.
9. Sung GA, Joon J, Soon WH, Woo HJ. Current Issues and Clinical Evidence in Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer. *J Path and Transl Medicine* 2015;39:355-363.
10. Heppner BI, Loibl S, Denkerta C. Tumor-Infiltrating Lymphocytes: A Promising Biomarker in Breast Cancer. *Breast Care* 2016;11:96-100.
11. Stanton SE, Adams S, Disis ML. Variation in the Incidence and Magnitude of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer Subtypes a Sistematic Review. *JAMA Oncology* 2016;10:1354-1360.
12. Yu X, Zhang Z, Wang Z, Wu P, Qiu F, Huang J. Prognostic and Predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer: a sistematic review and meta-analysis. *Clin Transl Oncol* 2016;18:497-506.
13. Gras Navarro A, Björklund AT, Chekenya M. Therapeutic potential and challenges of natural killer cells in treatment of solid tumors. *Front Immunol* 2015;6:202-230.
14. Savage PA, Leventhal DS, Malchow S. Shaping the repertoire of tumor-infiltrating effector and regulatory T cells. *Immunol Rev* 2014;259:245-258.
15. Marvel D, Gabrilovich DI. Myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment: expect the unexpected. *J Clin Invest* 2015;125:3356-3364.

16. Bailey SR, Nelson MH, Himes RA, et al. Th17 cells in cancer: the ultimate identity crisis. *Front Immunol* 2014;5:276-289.
17. Laoui D, Van Overmeire E, De Baetselier P, et al. Functional Relationship between Tumor-Associated Macrophages and Macrophage Colony-Stimulating Factor as Contributors to Cancer Progression. *Front Immunol* 2014;5:489-505.
18. Loi S. Tumor-infiltrating lymphocytes, breast cancer subtypes and therapeutic efficacy. *Oncol Immunology* 2013;2(7):e24720-24723.
19. Wang K, Xu J, Zhang T, Xue D. Tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer predict the response to chemotherapy and survival outcome: a meta-analysis. *Oncotarget* 2016;7(28):44288-44298.
20. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller C, Müller BM, Komor M, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:105-113.
21. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, et al. Prognosis and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol* 2013;31:860-867.
22. Liu S, Foulkes WD, Leung S, Dongxia G, Sherman L, Kos Z, et al. Prognostic significance of FOXP3+ tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer depends on estrogen receptor and human epidermal growth factor receptor-2 expression status and concurrent cytotoxic T-cell infiltration. *Breast Cancer Res* 2014;16:432
23. Denkert C. Diagnostic and Therapeutic Implications of Tumor-infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2013;31(7):836-837.
24. Baker K, Lachapelle J, Zlobec I, Bismar TA, Terracciano L, Foulkes WD. Prognostic significance of CD8+ T lymphocytes in breast cancer depends upon both estrogen receptor status and histological grade. *Histopathology* 2011;58:1107-1116.
25. Mohammed ZMA, Going JJ, Edwards J, Elsberger B, Doughty JC, McMillan DC. The relationship between components of tumour inflammatory cell infiltrate and clinicopathological factors and survival in patients with primary operable invasive ductal breast cancer. *British Journal of Cancer* 2012;107:864-873.
26. Mahmoud SMA, Paish EC, Powe DG, Macmillan RD, Grainge MJ, Lee AHS, et al. Tumor-Infiltrating CD8+ Lymphocytes Predict Clinical Outcome in Breast Cancer. *J Clin Oncol*.29:1949-1955.
27. 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 12439 patients. *Ann Oncology* 2014;25:1536-1543.

28. 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;7(4):5074–5087.
29. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, et al. Assessing Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method from the International Immuno-Oncology Biomarkers Working Group. *Adv Anat Patol* 2017;24(6):311–335.
30. Lian J, Yue Y, Yu W, Zhang Y. Immunosenescence: a key player in cancer development. *J Hematol Oncol* 2020;13(1):151-168.

## Anexos



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



## Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud 3606  
HOSPITAL DE GINECO OBSTETRICIA NUM. 4 LUIS CASTELAZO AYALA

Registro COFEPRIS 17 CI 09 010 024

Registro CONBIOÉTICA CONBIOÉTICA 09 CEI 026 2016121

FECHA Lunes, 05 de octubre de 2020

M.E. JANETT CABALLERO JASSO

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **Asociación de las características clínico patológicas y perfil inmunofenotípico con la infiltración linfocitaria tumoral (ILT) en pacientes con cáncer de mama**, que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A P R O B A D O**

Número de Registro Institucional

R-2020-3606-033

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

Dr. Oscar Moreno Álvarez  
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3606

[Imprimir](#)

IMSS

SEGURIDAD Y SALUD PARA TODOS





INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
 UMAE HOSPITAL DE GINECO OBSTETRICIA No.4  
 "LUIS CASTELAZO AYALA"



## Declaración de Autenticidad y No Plagio

Por el presente documento, yo **Abisaí Montaña Martínez**, alumno de posgrado de la Especialidad en Ginecología Oncológica en la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Gineco Obstetricia "Luis Castelazo Ayala", del IMSS.

Informo que he elaborado el Trabajo de Investigación, tema de tesis denominado: **"Asociación de las características clínico patológicas con la infiltración linfocitaria tumoral (ILT) en pacientes con cáncer de mama invasor"**, y declaro que:

1. En este trabajo no existe plagio de ninguna naturaleza y es de carácter original, siendo resultado de mi trabajo personal, el cual no he copiado de otro trabajo de investigación, ni utilizado ideas, fórmulas, ni citas completas "strictu sensu", así como ilustraciones diversas, obtenidas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc., (en versión digital o impresa).
2. Asimismo, dejo constancia de que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo, por lo que no se ha asumido como propias las ideas vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos como en Internet.
3. Asimismo, afirmo que soy responsable de todo su contenido y asumo, como autor, las consecuencias ante cualquier falta, error u omisión de referencias en el documento. Sé que este compromiso de autenticidad y no plagio puede tener connotaciones éticas y legales.

Por ello, en caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a lo dispuesto en la Normatividad que implique al programa.

**Abisaí Montaña Martínez**

**NOMBRE COMPLETO DEL RESIDENTE**

**Ciudad de México, a 15 de junio de 2021**