



**ULPGC**  
**Universidad de**  
**Las Palmas de**  
**Gran Canaria**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Escuela de doctorado de la ULPGC

Programa de Doctorado: Investigación Aplicada a las Ciencias Sanitarias

## TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE FACTORES CLÍNICOS Y ANATOMOPATOLÓGICOS EN LA  
IMPLEMENTACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE CÁNCER DE ENDOMETRIO CON  
FENOTIPO DE INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES:  
MODELO PREDICTIVO

Isabel González Villa

Las Palmas de Gran Canaria, 2023



## **UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA**

ESCUELA DE DOCTORADO DE LA ULPGC

PROGRAMA DE DOCTORADO

INVESTIGACIÓN APLICADA A LAS CIENCIAS SANITARIAS POR LA  
UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA, UNIVERSIDAD DE  
LEÓN Y UNIVERSIDAD TRAS OS MONTES E ALTO DOURO (PORTUGAL)

### **Título de la tesis**

Estudio de factores clínicos y anatomopatológicos en la  
implementación del diagnóstico de cáncer en endometrio con fenotipo  
de inestabilidad de microsatélites: Modelo predictivo

Tesis doctoral presentada por:

D<sup>a</sup> Isabel González Villa

Dirigida por:

Dr. D Juan José Cabrera Galván

Dr. D Juan Francisco Loro Ferrer

**Directores**



**Doctoranda**





D. Juan José Cabrera Galván

Catedrático Emérito

Departamento de Morfología

D. Juan Francisco Loro Ferrer

Profesor titular

Departamento de Ciencias Clínicas

**INFORMAN:**

Que el trabajo de investigación titulado “Estudio de factores clínicos y anatomopatológicos en la implementación del diagnóstico de cáncer en endometrio con fenotipo de inestabilidad de microsatélites: Modelo predictivo”, ha sido realizado por Doña Isabel González Villa, en el departamento de Morfología de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, bajo su dirección y asesoramiento técnico y científico, y que una vez revisada la presente memoria, la encuentran apta para su defensa ante tribunal.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, extiende el presente certificado en Las Palmas de Gran Canaria a 12 de junio de  
2023







**ULPGC**  
**Universidad de**  
**Las Palmas de**  
**Gran Canaria**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Escuela de doctorado de la ULPGC

Programa de Doctorado

Investigación Aplicada a las Ciencias Sanitarias

## TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE FACTORES CLÍNICOS Y ANATOMOPATOLÓGICOS EN LA  
IMPLEMENTACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE CÁNCER DE ENDOMETRIO CON  
FENOTIPO DE INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES:  
MODELO PREDICTIVO

**Isabel González Villa**

Las Palmas de Gran Canaria, 2023





*A mi estrella,  
la que más brilla*



# AGRADECIMIENTOS

Aquellos que han pasado por este trance saben que la redacción de una tesis es un camino duro. Es una senda compleja, llena de altibajos que, transitada en soledad, puede acabar incluso con la voluntad del doctorando más motivado. Afortunadamente, yo no he estado sola en este proceso. Son muchas las personas que han contribuido en mayor o menor medida a que el presente documento vea la luz, siendo igualmente muchos los agradecimientos debidos.

En primer lugar, quiero agradecer a mi director, el doctor Juan José Cabrera, su paciencia y dedicación. Gracias por encontrar siempre la forma de motivarme a continuar, por guiarme con su experiencia y buen criterio, por mostrarme que “de una tesis también se sale”. Ha sido un auténtico privilegio poder contar con su guía.

A mi tutor, el doctor Juan Francisco Loro, y en su nombre a la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, agradezco el apoyo recibido para llevar a cabo este proyecto.

Quiero dar las gracias también a mi tío Enrique que, con generosidad y desinteresada disposición, me ha ayudado a gestionar y dar sentido a los elementos más complejos que conforman esta tesis. Sin su colaboración este trabajo no podría haber salido adelante.

Agradezco la ayuda prestada a mis compañeros del Servicio de Anatomía Patológica del HUC, que de un modo u otro han participado en la realización de esta tesis. Gracias a todos aquellos a los que tengo el honor de poder llamar amigos, especialmente a Idaira, Leynis, Ángel, Noé, Abián y Rafa. Su constante apoyo ha resultado imprescindible en cada uno de los pasos que conforman esta investigación.

Finalmente, me gustaría dar las gracias a los míos, a mi familia. Gracias por estar siempre ahí. Gracias por todas horas sacrificadas, por todos los quebraderos de cabeza padecidos, por todos los momentos de estrés sufridos en conjunto. Gracias por acompañarme siempre, dándome impulso para poder continuar. Gracias a mi padre, a mi hermana y, por supuesto, a los dos amores de mi vida: Carlos y Celia.



# GLOSARIO DE ABREVIATURAS

<b>AJCC</b>	American Joint Committee on Cancer (Comité Americano del Cáncer)
<b>BER</b>	Base excision repair (Reparación por escisión de bases)
<b>CCR</b>	Cáncer colorrectal
<b>DDR</b>	DNA Damage response (Vía de detección y respuesta al daño del ADN)
<b>dMMR</b>	Déficit de MMR
<b>ER</b>	Estrogen Receptor (Receptor de estrógenos)
<b>ESGO</b>	European Society of Gynaecological Oncology (Sociedad Europea de Ginecología Oncológica)
<b>ESMO</b>	European Society for Medical Oncology (Sociedad Europea de Oncología Médica)
<b>Exo-1</b>	Exonucleasa 1
<b>FIGO</b>	Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia
<b>HPV</b>	Human papillomavirus (Virus del Papiloma Humano)
<b>IGF</b>	Insulin-like growth factor (Factor de crecimiento similar a la insulina)
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>LOH</b>	Loss of heterozygosity (Pérdida de la heterogeneidad)
<b>Mb</b>	Megabase
<b>MELF</b>	Microquístico, elongado y fragmentado
<b>MLH1</b>	MutL homolog 1 (Homólogo 1 de MutL)
<b>MMR</b>	Mismatch repair (Reparación de errores en el emparejamiento del ADN)
<b>MSH2</b>	MutS homolog 2 (Homólogo 2 de MutS)
<b>MSH6</b>	MutS homolog 6 (Homólogo 6 de MutS)
<b>MSI</b>	Microsatellite instability (Inestabilidad de microsatélites)
<b>MSS</b>	Microsatellite stable (Estabilidad de microsatélites)

<b>mTOR</b>	Mammalian Target of Rampamycin (Diana de Rampamicina en células de mamífero)
<b>NCCN</b>	National Comprehensive Cancer Network (Red Nacional Integral del Cáncer)
<b>NCI</b>	National Cancer Institute (Instituto Nacional del Cáncer)
<b>NER</b>	Nucleotide excision repair (Reparación por escisión de nucleótidos)
<b>NSMP</b>	No specific molecular profile (Perfil mutacional no específico)
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PCNA</b>	Proliferating cell nuclear antigen (Antígeno nuclear de proliferación celular)
<b>PCR</b>	Polymerase chain reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)
<b>Pi3K</b>	Fosfatidilinositol 3 kinasa
<b>PMS2</b>	Post-meiotic Segregation increased 2 (Aumento de la segregación postmeiótica)
<b>POLB</b>	Polymerase beta (ADN polimerasa beta)
<b>POLE</b>	Polymerase épsilon (ADN polimerasa épsilon)
<b>POLG</b>	Polymerase gamma (ADN polimerasa gamma)
<b>PR</b>	Progesterone Receptor (Receptor de progesterona)
<b>pTNM</b>	Clasificación patológica sobre el tumor, los ganglios linfáticos y las metástasis
<b>RFC</b>	Replication factor C (Factor C de la replicación)
<b>RPA</b>	Replication protein A (Proteína A de la replicación)
<b>SEIC</b>	Serous endometrial intraepithelial carcinoma (Carcinoma intraepitelial endometrial seroso)
<b>SL</b>	Síndrome de Lynch
<b>TCGA</b>	The Cancer Genoma Atlas (Atlas del Genoma del Cáncer)

# RESUMEN

El cáncer de endometrio es la patología ginecológica maligna más común. Se trata del sexto cáncer en incidencia en el mundo en mujeres y el cuarto en España, siendo, también, la cuarta neoplasia con mayor incidencia en mujeres en la comunidad autónoma de Canarias.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en su clasificación actual, propone cuatro categorías no superpuestas de cáncer de endometrio con diferentes características clínicas, patológicas y moleculares: POLE ultramutado, inestabilidad de microsatélites, p53 mutado y cáncer de endometrio con perfil mutacional no específico.

La presencia de mutaciones en los genes de reparación de los errores en el emparejamiento del ADN (MMR) en esta patología se estima entre un 17 y un 30%. Las proteínas del sistema MMR más importantes son MSH2, MSH6, MLH1 y PMS2. Estas cuatro proteínas realizan su función de reparación adquiriendo una arquitectura en heterodímeros, MSH2 junto a MSH6 y MLH1 junto a PMS2, donde MSH2 y MLH1 son los socios obligatorios. Una alteración en MSH2 o MLH1 produce su degradación proteolítica y la de su pareja de manera secundaria, resultando en una pérdida de expresión de las dos proteínas que conforman el dímero. Mientras que las mutaciones en los socios secundarios, MSH6 o PMS2, puede sustituirse en el heterodímero por otras proteínas (MSH3 o PMS1 y MLH3, respectivamente), por lo que una mutación en MSH6 o PMS2

no conlleva a la pérdida de expresión de MSH2 o MLH1. La alteración en alguna de ellas (déficit de MMR -dMMR-) se caracteriza por la progresiva acumulación de mutaciones en las secuencias de microsatélites (inestabilidad de microsatélites -MSI-) que se asocian con una mayor predisposición a una serie de cánceres.

Las pacientes con cáncer de endometrio que presentan dMMR podrían presentar características clínicas y anatomopatológicas diferentes de aquellas con el sistema MMR competente (microsatélites estables -MSS-). En esta línea, diversos estudios han demostrado que la supervivencia global en pacientes con cáncer de endometrio con fenotipo MSI es significativamente mejor a la supervivencia de pacientes con cáncer de endometrio con fenotipo MSS. Además, se considera la condición de déficit de MMR como un biomarcador pronóstico y predictivo de respuesta a inhibidores del *checkpoint* inmune. Por lo que el estudio del fenotipo MSI podría determinar en un futuro el tipo de tratamiento adyuvante que se le ofrecerá a la paciente, beneficiándose, en este caso (dMMR), del tratamiento con inhibidores del control inmunitario.

La valoración del estado del sistema MMR en tejido tumorales se puede realizar por dos vías: el estudio inmunohistoquímico de las proteínas MMR, que detecta la expresión proteica de MMR en las células tumorales o la prueba molecular de inestabilidad de microsatélites que detecta si existen cambios en las secuencias de los microsatélites.



El objetivo principal de este estudio fue determinar la correlación entre las características, clínicas y morfológicas, y el fenotipo MMR (fenotipo MSI o fenotipo MSS) valorado por inmunohistoquímica.

Se ha realizado un estudio prospectivo observacional de casos en el Complejo Hospitalario Universitario de Canarias durante 40 meses. Se recogieron datos clínicos y anatomopatológicos de 147 pacientes diagnosticadas de cáncer de endometrio tras la histerectomía total. Las variables clínicas estudiadas fueron la edad al diagnóstico, el índice de masa corporal (IMC), el estado pre o postmenopáusico, la presencia de patología tumoral previa y el exitus durante el estudio como consecuencia de esta patología. Por otro lado, las variables anatomopatológicas recogidas fueron la localización macroscópica del tumor, el tipo histológico y el grado de la FIGO, la presencia o ausencia de invasión linfocelular, la estadificación patológica y la presencia de patología no tumoral.

Se realizó el estudio inmunohistoquímico de las proteínas del sistema MMR, valorando la expresión nuclear de los marcadores MSH6 y PMS2 como screening primario y la de MSH2 y MLH1 respectivamente si las primeras presentaron expresión negativa. La expresión nuclear intacta de MSH6 y PMS2 fue considerada como fenotipo MSS, mientras que la pérdida de expresión en alguna de las cuatro proteínas se consideró fenotipo MSI.

La comparación de variables clínicas y anatomopatológicas entre los grupos definidos como fenotipo MSS y fenotipo MSI se llevó a cabo mediante un ANOVA o un test chi-cuadrado. Se construyó un modelo de regresión logística para la predicción de fenotipo MSI a partir de los datos clínicos y anatomopatológicos y los resultados inmunohistoquímicos. Se proporcionó la curva ROC de este modelo y se seleccionó el punto óptimo según el criterio del Índice de Youden, incluyendo su sensibilidad y especificidad.

El 22,4% de nuestras pacientes fueron fenotipo MSI, obteniendo diferencias estadísticamente significativas entre el histotipo endometriode y un mayor grado de la FIGO con el fenotipo MSI y el IMC mayor de 30 kg/m<sup>2</sup> con el fenotipo MSS. Dado los resultados estadísticos, se propuso una fórmula de predicción de probabilidad de ser fenotipo MSI teniendo en cuenta el subtipo histológico (carcinoma endometriode/ carcinoma no endometriode) y el grado de la FIGO (1/ 2/ 3), así como si el IMC es menor o mayor a 30 kg/m<sup>2</sup>.

$$p(\widehat{MSI}) = e^{\eta} / (1 + e^{\eta})$$

$$\eta = -2,369 + 0,911 * (\text{si } IMC < 30 \text{ kg/m}^2) + 0,459 * \\ (\text{si } Endometriode \text{ Grado } 1) + 1,134 * (\text{si } Endometriode \text{ Grado } 2) + 2,063 * \\ (\text{si } Endometriode \text{ Grado } 3)$$

El fenotipo MSI aparece en 1 de cada 4 mujeres con cáncer de endometrio.

Se determinó una asociación estadísticamente significativa entre el fenotipo MMR y el IMC, así como con el subtipo histológico y el grado de la FIGO.

Se propone una ecuación predictiva para obtener la probabilidad estimada de ser fenotipo MSI dado el subtipo histológico, el grado FIGO y el índice de masa corporal.

El modelo de predicción del fenotipo MSI puede ser utilizado para la priorización de la realización de diferentes tratamientos, incluso en los casos que el material de biopsia no permita el estudio inmunohistoquímico.



# ABSTRACT

Endometrial cancer is the most common malignant gynecological pathology. It is the sixth cancer in incidence in the world in women and the fourth in Spain, being also the fourth cancer with the highest incidence in women in the autonomous community of the Canary Islands.

The World Health Organization (WHO), in the current classification, proposes four non-overlapping categories of endometrial cancer with different clinical, pathological, and molecular characteristics: ultramutated POLE, microsatellite instability, p53 mutated, and endometrial cancer with non-specific mutational profile.

The presence of mutations in DNA mismatch repair (MMR) genes in this pathology is estimated at between 17 and 30%. The most important MMR system proteins are MSH2, MSH6, MLH1 and PMS2. These four proteins perform their repair function by acquiring an architecture in heterodimers, MSH2 together with MSH6 and MLH1 together with PMS2, where MSH2 and MLH1 are obligatory partners. An alteration in MSH2 or MLH1 causes their proteolytic degradation and that of their partner in a secondary way, resulting in a loss of expression of the two proteins that make up the dimer. While mutations in the secondary partners, MSH6 or PMS2, can be substituted in the heterodimer by other proteins (MSH3 or PMS1 and MLH3, respectively), so a mutation in MSH6 or PMS2 does not lead to loss of expression of MSH2 or MLH1. The alteration in any of them (MMR

deficiency -dMMR-) is characterized by the progressive accumulation of mutations in the microsatellite sequences (microsatellite instability -MSI-) that are associated with a greater predisposition to a series of cancers.

The assessment of the state of the MMR system in tumor tissue can be carried out in two ways: the immunohistochemical study of MMR proteins, which detects the protein expression of MMR in tumor cells, or the microsatellite instability molecular test, which detects whether there are changes in microsatellite sequences.

Endometrial cancer patients with dMMR could have different clinical and pathological characteristics from those with a competent MMR system (stable microsatellites -MSS-). Various studies have shown that overall survival in patients with MSI phenotype endometrial cancer is significantly better than the survival of patients with MSS phenotype endometrial cancer. In addition, the condition of MMR deficiency is considered as a prognostic and predictive biomarker of response to immune checkpoint inhibitors. Therefore, the MSI phenotype could determine in the future the type of adjuvant treatment that will be offered to the patient, benefiting, in this case (dMMR), from treatment with immune control inhibitors.

The main objective of this study was to assess the correlation between the clinical and morphological characteristics and the MMR phenotype (MSI phenotype or MSS phenotype) assessed by immunohistochemistry.

A prospective observational study of cases was carried out at the Complejo Hospitalario Universitario de Canarias for 40 months. Clinical and pathological data of 147 patients diagnosed with endometrial cancer after total hysterectomy were collected. The clinical variables studied were age at diagnosis, body mass index (BMI), pre- or postmenopausal status, presence of previous tumor pathology, and death during the study as a consequence of this pathology. On the other hand, the anatomopathological variables collected were the macroscopic location of the tumor, the histological type and the FIGO grade, the presence or absence of lymphovascular invasion, pathological staging and the presence of non-tumor pathology.

The immunohistochemical study of the MMR system proteins was performed, assessing the nuclear expression of the MSH6 and PMS2 markers as primary screening and that of MSH2 and MLH1 respectively if the former presented negative expression. Intact nuclear expression of MSH6 and PMS2 was considered the MSS phenotype, while the loss of expression in any of the four proteins was considered the MSI phenotype. The comparison of clinical and pathological variables between the groups defined as MSS phenotype and MSI phenotype was carried out using ANOVA or a chi-square test. A logistic regression model for the prediction of MSI phenotype was constructed from clinical and pathological data and immunohistochemical results. The ROC curve

of this model is provided, and the optimal point is selected according to the criteria of the Youden Index, including its sensitivity and specificity.

22.4% of our patients had the MSI phenotype, obtaining statistically significant differences between the endometrioid histotype and higher FIGO grade with the MSI phenotype and the BMI greater than 30 kg/m<sup>2</sup> with the MSS phenotype. Given the statistical results, a formula for predicting the probability of being an MSI phenotype was proposed, considering the histological subtype (endometrioid carcinoma/non-endometrioid carcinoma) and the FIGO grade (1/2/3), as well as whether the BMI is less than or greater than 30 kg/m<sup>2</sup>.

$$p(\widehat{MSI}) = e^{\eta} / (1 + e^{\eta})$$

$$\eta = -2,369 + 0,911 * (\text{if } IMC < 30 \text{ kg/m}^2) + 0,459 * \\ (\text{if } \textit{Endometrioid Grade 1}) + 1,134 * (\text{if } \textit{Endometrioid Grade 2}) + 2,063 * \\ (\text{if } \textit{Endometrioid Grade 3})$$

The MSI phenotype appears in 1 out of 4 women with endometrial cancer.

A statistically significant association was determined between the MMR phenotype and the BMI, as well as with the histological subtype and the FIGO grade.



A predictive equation is proposed to obtain the estimated probability of being an MSI phenotype given the histological subtype, FIGO grade, and body mass index.

The MSI phenotype prediction model can be used to prioritize the performance of different treatments, even in cases where the biopsy material does not allow the immunohistochemical study.



# ÍNDICE

<b>GLOSARIO DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>I</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>III</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>IX</b>
<b>ÍNDICE</b> .....	<b>XV</b>
<b>PRESENTACIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>5</b>
1.1. CÁNCER DE ENDOMETRIO .....	7
1.1.1. Datos epidemiológicos.....	7
1.1.2. Presentación clínica.....	11
1.1.3. Diagnóstico clínico.....	12
1.1.4. Factores de riesgo .....	13
1.1.4.1. Obesidad, factores reproductivos y metabólicos .....	13
1.1.4.2. Factores genéticos.....	16
1.1.5. Clasificación del cáncer de endometrio.....	16
1.1.5.1. Patogenicidad. Teoría dualista de Bokhman .....	17
1.1.5.2. Clasificación histológica de la OMS de los tumores epiteliales endometriales .....	20
Endometriode .....	22
Seroso .....	25
De células claras .....	27
Indiferenciado y desdiferenciado.....	28
Mixto.....	29
Otros carcinomas endometriales.....	30
Adenocarcinoma mesonéfrico.....	30
Adenocarcinoma tipo mesonéfrico .....	31
Carcinoma escamoso primario.....	31
Carcinoma mucinoso tipo gastrointestinal .....	31
Carcinosarcoma.....	32
1.1.5.3. Clasificación molecular del cáncer de endometrio .....	33
POLE ultramutado .....	35
Déficit de MMR .....	35
p53 mutado.....	37
Perfil mutacional no específico (NSMP) .....	37
1.1.5.4. Clasificación del cáncer de endometrio desde las 3 dimensiones .....	38
1.1.6. Tratamiento .....	39
1.1.6.1. Quirúrgico.....	39
1.1.6.2. Adyuvante.....	40
1.1.7. Supervivencia .....	42
1.2. VÍAS DE REPARACIÓN DEL ADN.....	44
1.2.1. Reparación de errores en el emparejamiento del ADN (MMR).....	45
1.2.2. Pasos de la vía de reparación MMR .....	46
1.2.2.1. Reconocimiento .....	46
1.2.2.2. Escisión.....	47
1.2.2.3. Resíntesis.....	49
1.3. INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES .....	51
1.3.1. Defectos en MMR.....	51
1.3.2. Importancia del análisis de las proteínas MMR en el cáncer de endometrio.....	54
1.4. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y MORFOLÓGICAS RELACIONADAS CON EL DÉFICIT DE MMR EN EL CÁNCER DE ENDOMETRIO .....	56

1.5. VALORACIÓN DEL SISTEMA MMR EN CÁNCER DE ENDOMETRIO .....	60
1.5.1. Técnicas .....	60
1.5.1.1. Inmunohistoquímica .....	60
1.5.1.2. Pruebas moleculares .....	63
1.5.2. Problemas y <i>pitfalls</i> en la interpretación de dMMR por inmunohistoquímica .....	65
<b>PLANTEAMIENTO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>69</b>
2.1. PLANTEAMIENTO .....	71
2.2. HIPÓTESIS .....	73
2.3. OBJETIVOS DE LA TESIS DOCTORAL .....	75
<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>77</b>
3.1. TIPO DE ESTUDIO .....	79
3.1.1. Aspectos demográficos.....	79
3.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN .....	80
3.3. DATOS CLÍNICOS .....	81
3.4. ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS .....	82
3.5. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO.....	85
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	87
3.7. ASPECTOS ÉTICOS.....	89
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>91</b>
4.1. DATOS CLÍNICOS .....	93
4.2. ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS .....	95
4.3. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO.....	104
4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	107
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>113</b>
5.1. CONCEPTOS dMMR Y MSI.....	115
5.2. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO FRENTE A ESTUDIO MOLECULAR .....	115
5.3. EVALUACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA .....	116
5.4. ALGORITMO DE ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO DE DOS PROTEÍNAS MMR.....	118
5.5. FENOTIPO MSI.....	119
5.6. ASPECTOS CLÍNICOS Y MORFOLÓGICOS.....	120
5.6.1. Aspectos morfológicos.....	121
5.6.1.1. Subtipo histológico.....	121
5.6.1.2. Grado FIGO.....	122
5.6.1.3. Otras características anatomopatológicas.....	122
5.6.2. Aspectos clínicos.....	123
5.6.2.1. Obesidad.....	124

5.6.2.2. Otros factores clínicos.....	125
5.7. SEGUIMIENTO .....	126
5.8. ASPECTOS ESTADÍSTICOS.....	126
5.9. LIMITACIONES.....	128
5.10. PROPUESTAS DE FUTURO.....	128
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>129</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>135</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>i</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>iii</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>v</b>



## PRESENTACIÓN

Ante la pregunta de si existen características clínicas o morfológicas que nos puedan determinar la presencia de alteraciones en las proteínas MMR de reparación del ADN en las pacientes diagnosticadas de cáncer de endometrio, nos planteamos la realización de un estudio estadístico prospectivo observacional de casos.

Recogimos durante 40 meses datos clínicos y morfológicos de las pacientes a las que se le había realizado una histerectomía por cáncer de endometrio en nuestro centro hospitalario.

Los datos clínicos que añadimos a nuestra base de datos fueron la edad al diagnóstico, el índice de masa corporal, el estado pre o postmenopáusico, la presencia de patología tumoral previa o el exitus durante el tiempo que realizamos el estudio como consecuencia de esta patología. Mientras que los datos morfológicos recogidos fueron la localización macroscópica del tumor, el tipo y grado histológico, la presencia o ausencia de invasión linfocelular, la estadificación patológica y la presencia de patología no tumoral.

Todos estos datos los enfrentamos al resultado inmunohistoquímico de las proteínas de MMR, cuyo resultado dividimos en fenotipo MSS y fenotipo MSI.

Nuestro principal objetivo se centró en determinar la correlación entre las características, tanto clínicas como morfológicas, y el fenotipo de MMR.

A partir de estos resultados, hemos desarrollado una herramienta estadística que funciona como un algoritmo predictor, dándonos la probabilidad

## **Presentación**

---

de ser fenotipo MSI dadas las características clínicas y morfológicas que le facilitemos.

La presente memoria está estructurada en 6 grandes capítulos:

### Capítulo 1. Introducción

El primer capítulo lo dedicamos principalmente a la puesta al día en el cáncer de endometrio, desde los datos epidemiológicos publicados más actualizados hasta el tratamiento, pasando por las tres clasificaciones propuestas: patogénica, histológica y molecular.

Otros conceptos explicados en este capítulo son las vías de reparación del ADN, centrándonos en la vía de reparación de errores del emparejamiento (MMR), la inestabilidad de microsatélites y su valoración, y los aspectos clínicos y morfológicos relacionados con el déficit de MMR en el cáncer de endometrio.

### Capítulo 2. Planteamiento, hipótesis y objetivos

En el segundo capítulo exponemos nuestro planteamiento, las diferentes hipótesis y los objetivos que nos condujeron a la realización de nuestro estudio.

### Capítulo 3. Material y métodos

En el capítulo titulado “Material y métodos” se encuentran los datos, tanto clínicos como morfológicos, que recogimos y cómo realizamos el estudio inmunohistoquímico que nos llevó a dividir a nuestras pacientes en fenotipo MSS y fenotipo MSI.



Por último, se encuentra el análisis estadístico que realizamos para construir el algoritmo predictor.

### Capítulo 4. Resultados

El capítulo número 4 está destinado a los resultados. Por un lado, los resultados descriptivos de los datos clínicos, morfológicos e inmunohistoquímicos y, por otro, los resultados del modelo de regresión logístico y las diferentes constantes para la obtención del nuestro algoritmo predictor.

### Capítulo 5. Discusión

Discutimos en este capítulo los diferentes conceptos utilizados, el tipo de estudio y la técnica inmunohistoquímica y su valoración, así como los resultados clínicos y morfológicos obtenidos y el porcentaje de cada fenotipo MMR comparados con los encontrados en la bibliografía revisada.

### Capítulo 6. Conclusiones

El último capítulo de la presente memoria aportamos nuestras conclusiones. Entre las diferentes conclusiones que presentamos, destaca la propuesta de la ecuación predictiva para obtener la probabilidad estimada de ser fenotipo MSI dado el subtipo histológico, el grado FIGO y el índice de masa corporal.



# **INTRODUCCIÓN**



## 1.1 CÁNCER DE ENDOMETRIO

### 1.1.1 Datos epidemiológicos

El cáncer de endometrio es la patología ginecológica maligna más común [1], siendo el sexto cáncer en incidencia a nivel mundial en mujeres, con una estimación de 417.367 nuevos diagnósticos en 2020 (Figura 1) [2].

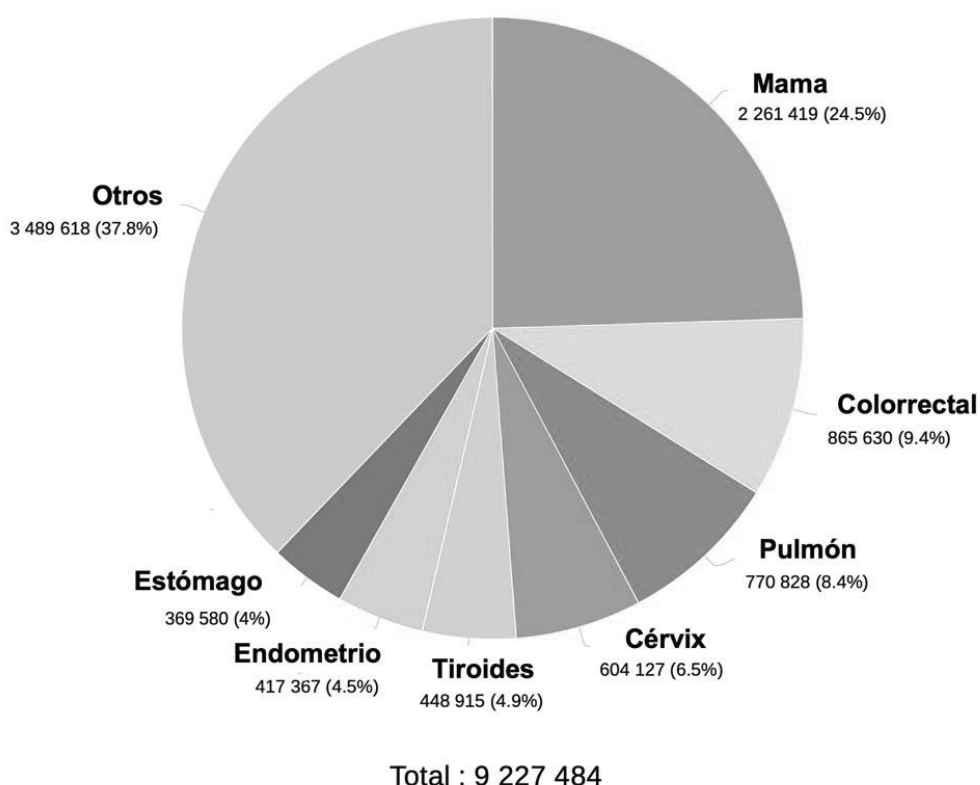


Figura 1. Estimación de la incidencia mundial de cáncer por localización en mujeres de todas las edades en el año 2020. Fuente: <https://gco.iarc.fr/> Global Cancer Observatory, International Agency for Research on Cancer [2].

Las tasas de incidencia de cáncer de endometrio más altas se encuentran en aquellos países con un poder socioeconómico más alto, así como en Europa central y oriental, mientras que los países en vías de desarrollo muestran tasas de incidencia mucho más bajas [2,3] (Figura 2). Estas tasas de incidencia han

## Introducción

---

ido en aumento durante las últimas décadas y en generaciones sucesivas, especialmente en países que han experimentado transiciones socioeconómicas más rápidas, como China, Brasil y Sudáfrica [3].

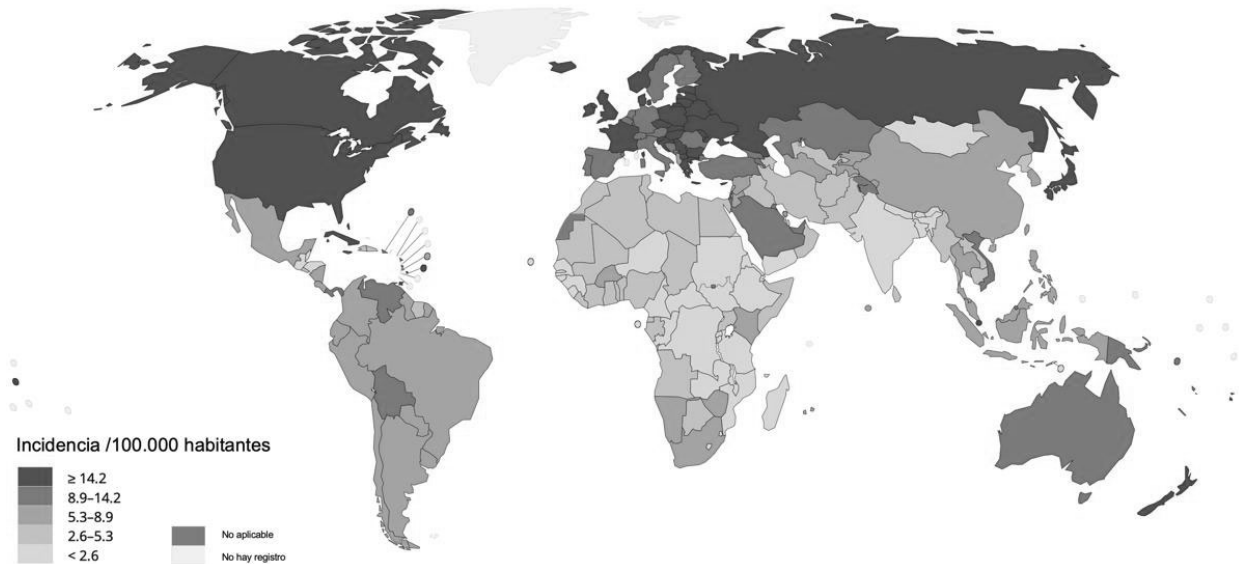


Figura 2. Estimación de la incidencia mundial de cáncer de endometrio por países en mujeres de todas las edades en el año 2020. Fuente: <https://gco.iarc.fr/> Global Cancer Observatory, International Agency for Research on Cancer [2].

En España, el cáncer de endometrio es el cuarto cáncer en incidencia en mujeres, con 6.797 nuevos diagnósticos en 2022 (Figura 3) y una previsión de 8.462 nuevos diagnósticos para el año 2035 [4] (Figura 4).

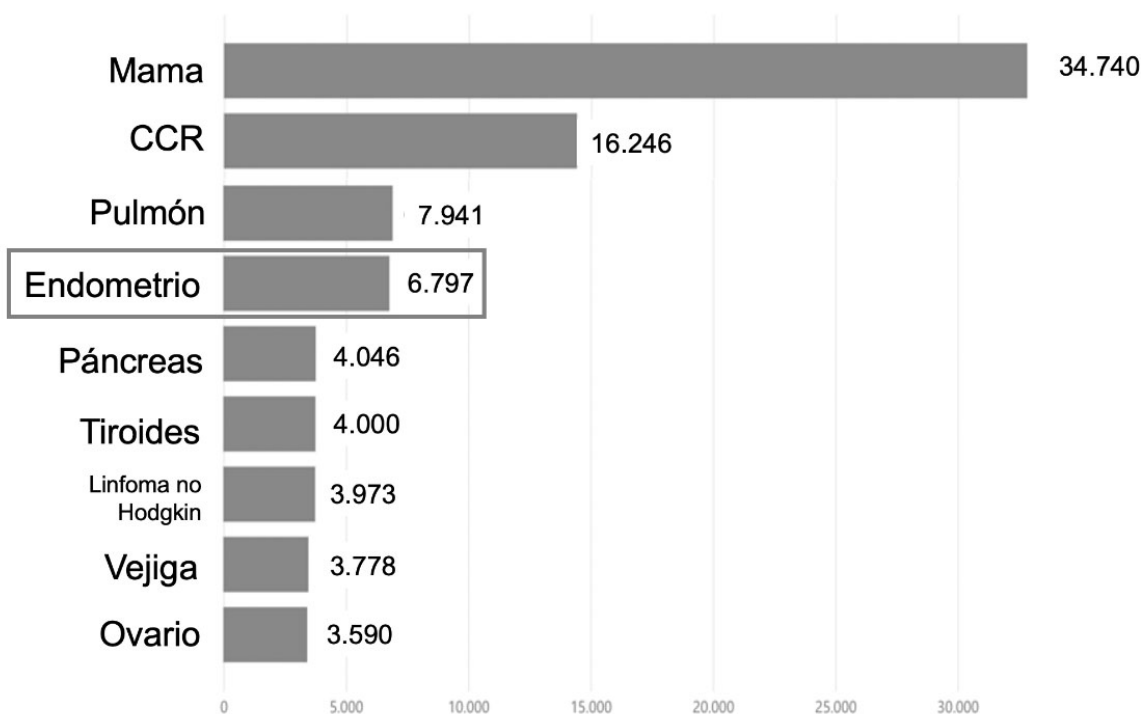


Figura 3. Incidencia de cáncer por localización en mujeres en España en el año 2022. Fuente: <https://observatorio.contraelcancer.es/explora/dimensiones-del-cancer> Asociación Española Contra el Cáncer. Dimensiones del cáncer [4]. CCR: Cáncer colorrectal

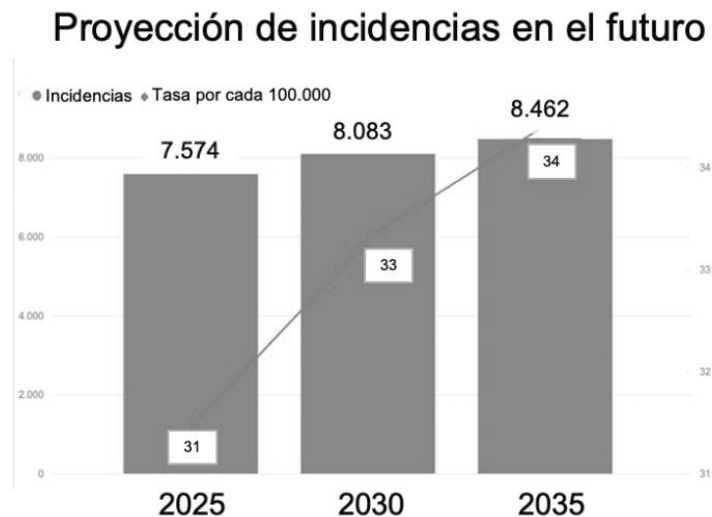


Figura 4. Proyección de incidencias en el futuro. Estimación de incidencia de cáncer de endometrio en España en los años 2025, 2030 y 2035. Fuente: <https://observatorio.contraelcancer.es/explora/dimensiones-del-cancer> Asociación Española Contra el Cáncer. Dimensiones del cáncer [4].

## Introducción

En la comunidad autónoma de Canarias, el cáncer de endometrio es el cuarto en incidencia en mujeres, con 298 nuevos diagnósticos en el año 2018 (Tabla 1 y Figura 5) y una tasa bruta de incidencia por 100.000 habitantes de 24,9 nuevos diagnósticos (Figura 6). En la isla de Tenerife se diagnosticaron 137 nuevos casos dicho año (Figura 7) [5].

Tabla 1. Tumores más frecuentes por sexo. Estimación 2018. Comunidad autónoma de Canarias. N: Número total de nuevos diagnósticos. Fuente: <https://www3.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs>. Estimaciones de la incidencia de cáncer en Canarias 2018 [5].

HOMBRES:			MUJERES:		
TIPO TUMORAL	N	Porcentaje	TIPO TUMORAL	N	Porcentaje
Próstata	1482	22,77	Mama	1388	28,47
Colon y Recto	994	15,27	Colon y Recto	662	13,58
Tráquea, bronquios y pulmón	978	15,03	Tráquea, bronquios y pulmón	361	7,41
Vejiga	411	6,31	Cuerpo del útero	298	6,11
Linfomas no Hodgkin	257	3,95	Glándula tiroides	230	4,72

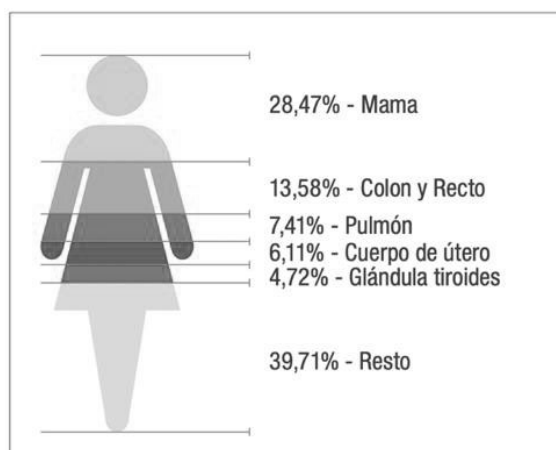


Figura 5. Distribución porcentual de las localizaciones de cáncer más frecuente en mujeres. Estimación 2018 en la Comunidad autónoma de Canarias. Fuente: <https://www3.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs> Estimaciones de la incidencia de cáncer en Canarias 2018 [5].



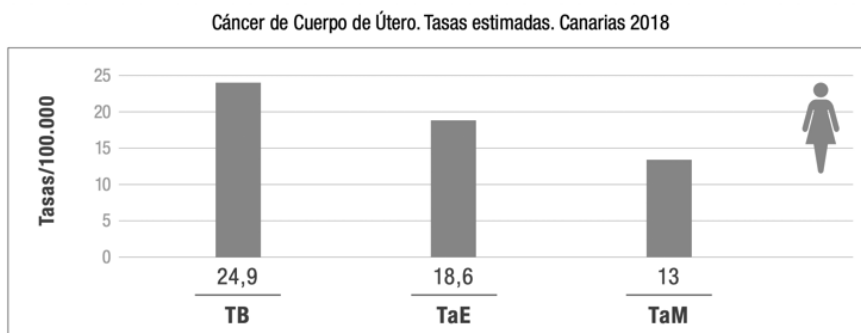


Figura 6. Cáncer de endometrio. Tasas estimadas 2018. Comunidad autónoma de Canarias. TB: Tasa bruta/ 100.000 habitantes. TaE: Tasa ajustada a la población europea. TaM: Tasa ajustada a la población mundial. Fuente: <https://www3.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs>. Estimaciones de la incidencia de cáncer en Canarias 2018 [5].

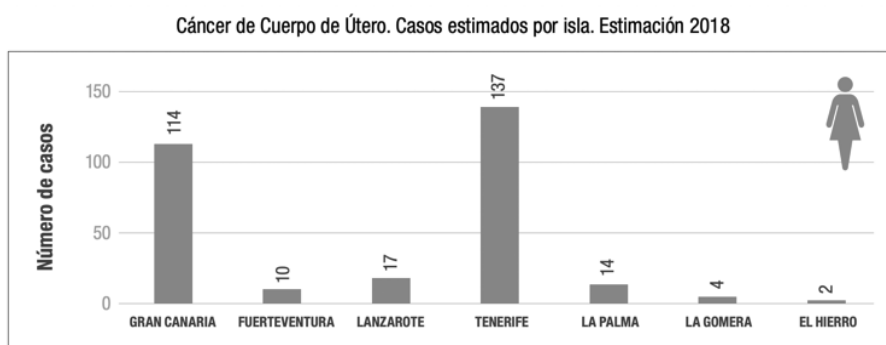


Figura 7. Cáncer de endometrio. Casos estimados por isla. Estimación 2018. Canarias. Fuente: <https://www3.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs>. Estimaciones de la incidencia de cáncer en Canarias 2018 [5].

### 1.1.2 Presentación clínica

La presentación clínica más frecuente en estadios tempranos del cáncer de endometrio se manifiesta como un sangrado postmenopáusico [6], pero solo entre el 5 y el 10% de las mujeres que presentan este tipo de sangrado tienen una patología maligna asociada. La probabilidad de tener cáncer de endometrio como causa de sangrado postmenopáusico es inferior al 1% en mujeres menores

## **Introducción**

---

de 50 años, aumentando al 3% en las de 55 años y al 24% en las mayores de 80 años [7].

Aproximadamente el 15% de los nuevos diagnósticos de cáncer de endometrio se realizan en mujeres antes de la menopausia, siendo en ellas el sangrado abundante, prolongado o intermenstrual, el primer síntoma. El sangrado intermenstrual es el síntoma más frecuente y predictivo de cáncer de endometrio [8]. Los citados tipos de sangrados son extremadamente comunes, pero solo el 0,3% son causados por cáncer de endometrio. En mujeres más jóvenes se deben tener en cuenta la presencia de factores de riesgo, particularmente los antecedentes familiares, la obesidad y el síndrome de ovario poliquístico [9].

Los síntomas derivados de la enfermedad localmente avanzada suelen ser la distensión abdominal, el dolor local y la disfunción urinaria o intestinal [8].

### **1.1.3 Diagnóstico clínico**

La primera aproximación diagnóstica al cáncer de endometrio se realiza mediante ecografía transvaginal, una prueba no invasiva que se realiza a todas las mujeres en una revisión ginecológica de rutina. Con esta prueba se valora el grosor endometrial, cuyo aumento a partir de 5 mm en mujeres postmenopáusicas tiene una sensibilidad para la detección de cáncer de endometrio del 96,2% y un valor predictivo negativo del 99,3% [10,11]. En

mujeres premenopáusicas, la ecografía transvaginal es menos específica, ya que el grosor del endometrio fluctúa con el ciclo menstrual [11].

Tras esta primera prueba, debe realizarse una biopsia endometrial, ya que el diagnóstico final debe ser anatomopatológico. Se puede realizar un aspirado endometrial a ciegas que es extremadamente efectivo para obtener un diagnóstico, aunque presenta tasas de fracaso de alrededor del 11%, debido a muestras con material inadecuado o que exista una estenosis cervical [8]. También se puede realizar una histeroscopia para la obtención de la biopsia, ya que permite el muestreo directo de lesiones sospechosas. Esta prueba se recomienda cuando se identifica una patología endometrial focal en la ecografía transvaginal y en aquellas mujeres con síntomas recurrentes [8].

En la citología vaginal y cervical realizada para el cribado de cáncer de cérvix se pueden identificar hasta el 50% de los casos de cáncer de endometrio por la presencia de células glandulares atípicas [8,10,11].

### **1.1.4 Factores de riesgo**

#### **1.1.4.1 Obesidad, factores reproductivos y metabólicos**

El riesgo de padecer cáncer de endometrio aumenta con la edad y el índice de masa corporal (IMC). De los 20 tipos de cáncer más comunes, el cáncer de endometrio es el que tiene el vínculo más fuerte con la obesidad. Con cada aumento de 5 kg/m<sup>2</sup> en el IMC existe un 54% más de riesgo de padecer este tipo

## Introducción

---

de cáncer [12,13]. Las mujeres premenopáusicas sintomáticas con un IMC superior a 30 kg/m<sup>2</sup> tienen cinco veces más probabilidades de padecer cáncer de endometrio comparado con aquellas con un IMC entre 18,5 y 25 kg/m<sup>2</sup>. Esta probabilidad es 20 veces mayor en mujeres con IMC superior a 40 kg/m<sup>2</sup> [9].

La obesidad crea un medio proinflamatorio en el que se identifican altos niveles circulantes de proteína C reactiva, interleuquina-6 y factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , al igual que una relativa deficiencia de células inmunitarias protectoras en el endometrio. Por otro lado, la obesidad favorece un estado hiperestrogénico debido a la aromatización periférica de los andrógenos suprarrenales a estrógenos en el tejido adiposo [8] (Figura 8). Los estrógenos estimulan la proliferación del endometrio durante los años reproductivos, mientras que la progesterona cíclica y la menstruación regular mantiene el endometrio. En las mujeres postmenopáusicas, la obesidad contribuye a un exceso de estrógenos sin oposición por la deficiencia natural de progesterona, siendo esta condición la base principal de la carcinogénesis del cáncer de endometrio [8,9,11,13].

Otros factores de riesgo para padecer cáncer de endometrio son los reproductivos que aumentan la exposición a estrógenos sin oposición, como son: la menarquia temprana, la menopausia tardía, la anovulación (por ejemplo, en casos de síndrome de ovario poliquístico) y la nuliparidad [9]. Por otra parte, el tratamiento hormonal del cáncer de mama sensible a las hormonas, aumenta cuatro veces el riesgo de cáncer de endometrio [14].

La resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia, la diabetes tipo 2 y el síndrome de ovario poliquístico, promueven la estimulación del endometrio al aumentar la biodisponibilidad tanto de los estrógenos como del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF)-1 a través de niveles reducidos de sus respectivas proteínas de unión circulantes (la unión de hormonas sexuales a G globulina y las proteínas de unión a IGF). La activación de la vía de señalización prooncogénica PI3K-AKT-mTOR (Figura 8) de forma directa (estrógenos) o indirecta (IGF-1) aumenta la proliferación endometrial y explica una mayor incidencia de la enfermedad en pacientes con diabetes tipo 2 y síndrome de ovario poliquístico, independientemente del IMC [8].

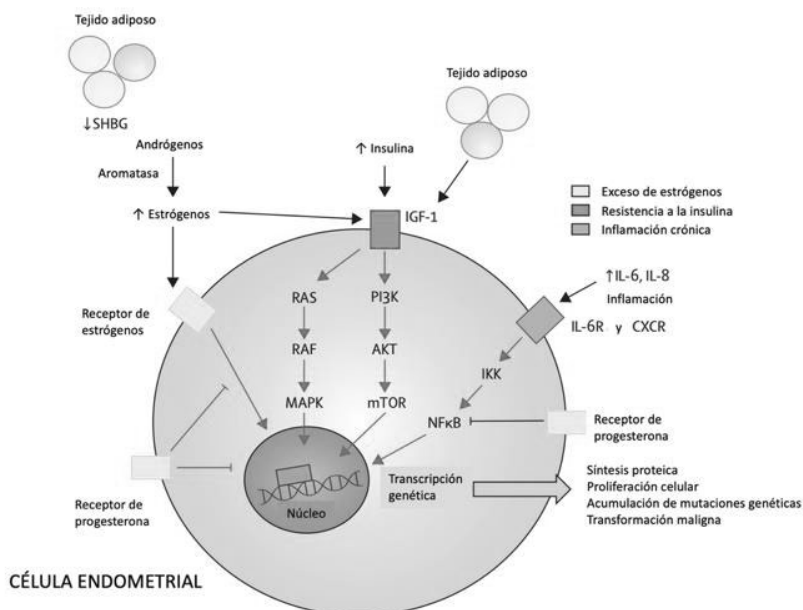


Figura 8. Cáncer de endometrio asociado a la obesidad: vías hacia la carcinogénesis. AKT: proteína quinasa B. CXCR: receptor de quimioquinas. IKK: IκB quinasa. IGF: factor de crecimiento similar a la insulina. IL: interleucina. L-6R: receptor de IL-6. mTOR: objetivo de rapamicina en mamíferos. PI3K: fosoinositido 3-quinasa. SHBG: globulina transportadora de hormonas sexuales. Fuente: Crosbie et al. Endometrial Cancer. Lancet. 2022; 399: 1412-28 [8].

### 1.1.4.2 Factores genéticos

Desde el punto de vista genético, el cáncer de endometrio está reconocido dentro de las neoplasias frecuentes en el síndrome de Lynch (SL) [15-17]. En este síndrome se heredan las variantes patogénicas que involucran uno de los cuatro genes de reparación del ADN (errores en el emparejamiento del ADN - MMR-): MSH2, MSH6, MLH1 y PMS2. La presencia de una de estas variantes patogénicas implica un riesgo de entre el 13 y el 49% de padecer cáncer de endometrio, así como riesgo elevado de padecer cáncer colorrectal, de ovario y muchos otros tipos de cáncer [15-18].

Por otra parte, estudios como el de Bafligil et al. [19] y O'Mara et al. [20] también sugieren una asociación entre el estado de portadora de las variantes patógenas BRCA1 y BRCA2 y el cáncer de seroso de endometrio, lo que podría elevar marginalmente el riesgo de padecerlo [19,20].

### 1.1.5 Clasificación del cáncer de endometrio

Existen tres dimensiones distintas pero solapadas para categorizar el cáncer de endometrio: la patogénica, la histopatológica y la molecular [3]. Adjuntamos una representación de la clasificación del cáncer de endometrio en la tabla 2.

Tabla 2. Clasificación del cáncer de endometrio en las tres dimensiones (patogénica, histológica y molecular).

CLASIFICACIÓN DEL CÁNCER DE ENDOMETRIO		
<b>PATOGÉNICA</b> (BOKHMAN, 1983)	<b>HISTOLÓGICA</b> (OMS, 2020)	<b>MOLECULAR</b> (OMS, 2020)
<b>TIPO I</b>	<b>ENDOMETRIOIDES</b>	<b>POLE</b> ultramutado
Obesidad	<b>NO ENDOMETRIOIDES</b>	<b>dMMR</b> (hipermutado)
Hiperlipidemia	Seroso	<b>p53 mutado</b>
Hiperestrogenismo	Células claras	<b>Perfil mutacional no específico</b>
<b>TIPO II</b>	Mixto	
Ausencia de obesidad	Otros	
Ausencia de hiperlipidemia	Carcinosarcoma	
Ausencia de hiperestrogenismo		

### 1.1.5.1 Patogenicidad. Teoría dualista de Bokhman

En 1983 se publicó el artículo titulado “Two Pathogenetic Types of Endometrial Carcinoma” [21] donde Bokhman propone la existencia de dos tipos patogénicos diferentes de cáncer de endometrio: tipo I, basándose en la presencia de obesidad, hiperlipidemia o signos de hiperestrogenismo y tipo II, en el caso de ausencia de éstas [21]. En este trabajo se explica cómo existen alteraciones metabólicas que surgen mucho antes del desarrollo del carcinoma de endometrio y que determinan las peculiaridades biológicas del mismo. El modelo dualista de Bokhman, “Tipo I” versus “Tipo II”, ha sido fundamental durante décadas en la enseñanza y avance científico en diferentes disciplinas, soportando un estudio constante a lo largo del tiempo, incluyendo posteriores

## Introducción

---

series de casos cada vez más grandes y la llegada de técnicas moleculares cada vez más sofisticadas [22].

Para realizar esta división, Bokhman señaló que el 82,5% de sus pacientes con cáncer de endometrio eran obesas, el 69% tenían hipercolesterolemia, el 60,5% tenían diabetes mellitus y el 49% eran hipertensas. Siendo a su vez comunes en estas pacientes los ciclos anovulatorios, la infertilidad y los signos de hiperestrogenismo, incluida la hiperplasia endometrial [21]. Bokhman denominó a este grupo “Tipo patogénico I” y documentó una fuerte asociación entre estas características clínicas y el grado histológico del cáncer de endometrio. Casi el 80% de las pacientes denominadas “Tipo I” tenían tumores de menor grado (FIGO grado 1 o FIGO grado 2), mientras que el 20% tenían tumores de alto grado (FIGO grado 3). En el otro extremo se encontraban las pacientes “Tipo II” que carecían de lo que actualmente se reconoce como síndrome metabólico y cuyos tumores eran de alto grado en un 65,7% de los casos [21]. Las características clínicas generales y las características histopatológicas de estos dos tipos patogénicos, tal como se informaron originalmente, se resumen en las tablas 3 y 4 respectivamente [22].



Tabla 3. Características clínicas generales, “The signs of two main pathogenetic types of endometrial carcinoma”. Modificado de Bokhman (18). Fuente: Suárez et al. Bokhman redux: Endometrial cancer “types” in the 21st century. Gynecol Oncol. 2017; 144: 243-9 [22].

	Tipo patológico I	Tipo patológico II
Duración de los síntomas	Frecuentemente larga	Frecuentemente corta
Invasión miometrial	Frecuentemente superficial	Frecuentemente profunda
Potencial de invasión linfocascular	Bajo	Alto
Sensibilidad a progesterona	Baja	Alta
Bajo grado (G1 + G2)	79.9% de los casos	34.3% de los casos
Alto grado (G3)	20.1% de los casos	65.7% de los casos
Pronóstico	Favorable	Dudoso

Tabla 4. Características tumorales, “Influence of pathogenetic type of the disease on tumor peculiarities”. Modificado de Bokhman (18). Fuente: Suárez et al. Bokhman redux: Endometrial cancer “types” in the 21st century. Gynecol Oncol. 2017; 144: 243-9 [22].

	Tipo patológico I	Tipo patológico II
Función menstrual	Historia de sangrado anovulatorio	Normal
Función reproductiva	Infertilidad frecuente	Normal
Edad menopausia	Frecuente después de los 50 años	Frecuente antes de los 50 años
Patologías no malignas endometriales asociadas o resultados de biopsias previas	Hiperplasia	Atrofia
Obesidad	Presente	Ausente
Hiperlipidemia	Presente	Ausente
Diabetes mellitus	Presente	Ausente
Hipertensión	Asociada con obesidad y/o diabetes mellitus	Ausente o ni asociada a obesidad y/o diabetes mellitus

El posterior estudio de Suárez et al. [22] establece que no existe una perfecta correlación entre los subtipos histológicos y los patogénicos. Sin embargo, opinan que los carcinomas endometrioides son considerados como prototípicos del tipo I y los carcinomas serosos prototípicos del tipo II [21,22].

Así mismo, los estudios moleculares han ido alimentando la teoría dualista a medida que se demostraron diferencias claras entre los carcinomas endometrioides y los serosos. De hecho, la inestabilidad de microsatélites se encontró principalmente en los carcinomas endometrioides [23-25] al igual que las mutaciones en PTEN [26,27] y K-Ras [27-30]. Por el contrario, se encontraron

## Introducción

---

mutaciones de TP53 en la mayoría de los carcinomas serosos y en una minoría de los tumores endometrioides [30,31]. Igualmente, se documentaron mutaciones de PTEN en los casos de hiperplasia compleja atípica (neoplasia intraepitelial endometrioide), que representa la lesión precursora de carcinomas endometrioides [32], mientras que se encontró sobreexpresión inmunohistoquímica de p53 y mutaciones de TP53 [30,31,33] en los casos de carcinoma intraepitelial endometrial seroso, que representa la lesión precursora de carcinomas serosos.

### **1.1.5.2 Clasificación histológica de la OMS de los tumores epiteliales endometriales**

El *gold standard* en el diagnóstico del cáncer de endometrio es el estudio histológico. Su clasificación en función de las características morfológicas se realiza en base al sistema de clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS 5ª Edición, 2020) [3].

En el comienzo de este proyecto trabajamos en base a la clasificación de 2014, dado que era la que estaba vigente en este momento. Para facilitar la elaboración de nuestro trabajo presentamos una tabla con las diferencias entre la clasificación de 2014 (4ª Edición) y la nueva clasificación (Tabla 5) [34].

Tabla 5. Clasificación del cáncer de endometrio, OMS. Diferencias entre la 4ª (2014) y la 5ª (2020) edición. Fuente: Masood et al. Endometrial carcinoma: changes to classification (WHO 2020). Diagnostic Histopathol. 2021; 27:439-9 [34].

<b>Clasificación del cáncer de endometrio, OMS</b> Diferencias entre la 4ª (2014) y la 5ª Edición (2020)	
<b>Clasificación OMS del carcinoma endometrial 2014</b>	<b>Clasificación OMS de los tumores epiteliales endometriales 2020</b>
Carcinoma endometriode - Diferenciación escamosa - Villoglandular - Secretor	Carcinoma endometriode - POLE - ultramutado - dMMR - p53 mutado - Perfil molecular no específico
Carcinoma mucinoso	
Carcinoma seroso intraepitelial	
Carcinoma seroso	Carcinoma seroso, NOS
Carcinoma células claras	Adenocarcinoma células claras, NOS
Carcinoma neuroendocrino - Bajo grado - Alto grado	
Adenocarcinoma mixto	Adenocarcinoma mixto
Carcinoma indiferenciado	Carcinoma indiferenciado, NOS
Carcinoma desdiferenciado	
	Carcinoma de células escamosas Adenocarcinoma mesonéfrico Adenocarcinoma tipo mesonéfrico Carcinoma mucinoso tipo intestinal Carcinosarcoma, NOS

A pesar de los avances moleculares descritos en la nueva edición, los tumores se siguen clasificando según la morfología con ayuda de marcadores inmunohistoquímicos, ya que algunas de las técnicas propuestas para la subclasificación actual son inaccesibles a nivel mundial [3,34]. La toma de decisiones clínicas aún depende de la distinción binaria entre *carcinomas*

## Introducción

---

*endometrioides* y *no endometrioides* y, por esta razón, un reconocimiento completo de todos los histotipos de carcinoma de endometrio y la distinción entre carcinomas endometrioides y no endometrioides es vital para el manejo clínico de las pacientes [34].

### - **Endometrioide**

El carcinoma endometrioide es el histotipo más común de cáncer de endometrio, representando aproximadamente el 85% de los nuevos diagnósticos. Se trata de una neoplasia epitelial maligna constituida por una variable proporción de arquitectura glandular, papilar y sólida que muestra diferenciación endometrioide, es decir, que imita al endometrio proliferativo normal [23].

Macroscópicamente estos tumores se presentan como una lesión exofítica o difusamente infiltrante, con variable grado de hemorragia o necrosis. Algunos casos pueden surgir en el segmento uterino inferior (istmo), siendo importante especificar en el informe esta localización [3].

En el estudio microscópico, el carcinoma endometrioide presenta glándulas arquitecturalmente complejas con ramificaciones y presencia de patrón papilar asociado. Estas glándulas están tapizadas por un epitelio pseudoestratificado que conserva los bordes luminales lisos típicos del endometrio proliferativo y está constituido por células de núcleos alargados o redondeados. Los núcleos suelen

ser de bajo grado y la presencia de núcleos de alto grado debe sugerir la posibilidad de un carcinoma no endometriode. El número de figuras mitóticas es muy variable. La presencia de diferenciación escamosa, en mórulas o pequeños acúmulos de células eosinófilas, es frecuente (10–25% de los casos) y es importante reconocerla y no confundirla con un patrón de crecimiento sólido. A su vez, el carcinoma endometriode puede presentar diversos patrones: secretor (similar al endometrio en fase secretora), villoglandular, microglandular, de células fusiformes, sertoliforme y de células de los cordones sexuales-*like*. El patrón mucinoso puede estar presente en grado variable, pudiendo llegar incluso a ser predominante. La presencia de alguno de estos patrones no está asociada a un pronóstico diferente [3].

Los carcinomas endometrioides se deben gradar siguiendo el sistema de clasificación de la FIGO (Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia) [35]. Este sistema de gradación tumoral se fundamenta en las características morfológicas del tumor, principalmente en las características arquitecturales y, de manera secundaria, en la atipia nuclear. El carcinoma endometriode grado 1 se corresponde con un carcinoma de glándulas bien definidas y patrón sólido (no escamoso) menor al 5%; el grado 2 presenta entre un 6% y un 50% de patrón sólido; y el grado 3 un componente sólido mayor al 50%. Si existiese un alto grado de atipia nuclear se aumenta el grado histológico un punto [35]. Teniendo en cuenta los datos pronósticos, se ha propuesto dividir el carcinoma

## Introducción

---

endometrioide en dos grupos, FIGO grado 1 + grado 2 y FIGO grado 3, pero no está ampliamente aceptado [23].

En el estudio inmunohistoquímico, los carcinomas endometrioides de bajo grado muestran una expresión inmunohistoquímica fuerte y difusa para los marcadores de receptores de estrógenos (ER) y de progesterona (PR), siendo parcheada para p16. Estos marcadores son útiles para el diagnóstico diferencial con el adenocarcinoma endocervical que mostraría negatividad para ER y PR, y positividad o negatividad para p16, dependiendo de su asociación con el HPV (virus del papiloma humano). En los carcinomas endometrioides de alto grado la importancia del estudio inmunohistoquímico se basa en la distinción del carcinoma seroso de endometrio. La pérdida de inmunorreactividad para ARID1A, PTEN o alguna de las proteínas del sistema MMR, favorece el diagnóstico de carcinoma endometrioide de alto grado. Se debe tener cuidado porque la expresión anormal de p53 se puede observar en entre el 2% y el 5% de los carcinomas endometrioides de bajo grado y en un 20% de los de alto grado, lo que puede llevar a confusión con los carcinomas serosos de endometrio.

La invasión linfovascular está presente en un 5–15% de los casos y está frecuentemente asociada al patrón de invasión “microquístico, elongado y fragmentado” (MELF) y al déficit de MMR.

La lesión precursora de los carcinomas endometrioides (principalmente grado 1 y 2 y, quizás, de algunos grado 3) es la hiperplasia compleja atípica (también conocida como neoplasia intraepitelial endometriode) [3]. Se define morfológicamente por la presencia de atipia nuclear en las células que tapizan las glándulas endometriales junto a patrones de crecimiento glandular complejos, pero sin invasión del estroma o del miometrio. Se ha demostrado que hasta el 25% de las pacientes diagnosticadas de carcinoma endometriode presentaban hiperplasia compleja atípica previa, frente a un 3% a las que se le había diagnosticado de hiperplasia compleja sin atipia nuclear [36].

### - **Seroso**

El carcinoma seroso de endometrio es mucho menos común, suponiendo solo el 3–10% de los nuevos diagnósticos. El problema principal de este histotipo es su comportamiento agresivo que, pese a su escasa frecuencia, es el que causa mayor mortalidad [3].

Morfológicamente, la característica que distingue a este histotipo de otros es la presencia de una marcada atipia citológica, consistente en núcleos de alto grado, a menudo con nucleolos eosinofílicos prominentes y figuras mitóticas atípicas. Arquitecturalmente puede mostrar patrones papilares y/o glandulares o, con menor frecuencia, un patrón de crecimiento sólido. Los patrones de crecimiento glandular y papilar suelen mostrar bordes luminales festoneados,

## Introducción

---

diferentes a los bordes lisos que suelen observarse en las glándulas y papilas del carcinoma endometrioide. Aunque las papilas pueden ser delgadas, como las presentes en variante villoglandular del carcinoma endometrioide, a menudo son cortas y gruesas, con fibrosis densa asociada. Todos los carcinomas serosos se consideran tumores de alto grado (FIGO grado 3).

Diversos estudios han identificado mutaciones en el gen TP53 en aproximadamente el 90% de los carcinomas serosos de endometrio siendo, la mayoría de ellas, mutaciones *missense* [23]. Se encontró que las mutaciones *missense* se correlacionaban con tinción inmunohistoquímica intensa y difusa para el marcador inmunohistoquímico p53. Por el contrario, una ausencia total de tinción (patrón nulo) para p53 era indicativa de mutaciones *missense* o de desplazamiento del marco de lectura [30,31]. Esto ha hecho que la tinción inmunohistoquímica para p53 se haya convertido en una herramienta para respaldar el diagnóstico de carcinoma seroso en aquellos casos con características histológicas habituales.

La lesión precursora de este histotipo es el carcinoma intraepitelial endometrial seroso (SEIC) que está compuesto por células morfológicamente idénticas a las del carcinoma seroso pero confinado al epitelio, no evidenciándose invasión [3]. Sin embargo, el comportamiento biológico del SEIC sugiere que es mejor considerarlo una entidad maligna, ya que se han identificado metástasis sincrónicas y metacrónicas, incluso en ausencia de



invasión endometrial o miometrial. La presencia de mutaciones TP53 en el SEIC respalda la idea de que esta mutación es un *driver* temprano en el desarrollo del carcinoma seroso de endometrio [31].

### - **De células claras**

El diagnóstico de carcinoma de células claras es poco común y representa menos del 5% de los nuevos diagnósticos de carcinomas de endometrio. El carcinoma de células claras generalmente ocurre en mujeres de mayor edad asociado a atrofia endometrial y se puede encontrar sobre los pólipos endometriales [3].

Desde el punto de vista morfológico, los carcinomas de células claras se componen habitualmente de células con núcleos de alto grado (al menos focalmente) y citoplasma claro que se disponen en varios patrones arquitectónicos, incluidos los tubulocísticos, papilares o sólidos. Paradójicamente, no todos los carcinomas de células claras tienen células claras (algunos tienen citoplasma eosinófilo) y no todos los carcinomas con células claras son carcinomas de células claras. A la hora de gradarlo se deben tratar como tumores de alto grado (FIGO grado 3) [3].

Debido a su difícil diagnóstico es necesario el análisis inmunohistoquímico en la práctica clínica. La mayoría de los casos muestran un patrón de tinción *wild-type* para p53 y muestran expresión inmunohistoquímica positiva para HNF-1 $\beta$  y

## Introducción

---

NapsinA, así como negativa para el receptor de estrógenos y el receptor de progesterona [3]. Sin embargo, aproximadamente el 46% de los casos muestran una tinción focal intensa para p53, lo que respalda la presencia de mutaciones subclonales de TP53 [23].

No se ha identificado una lesión precursora del carcinoma de células claras. La supervivencia a 5 años para las mujeres diagnosticadas con carcinoma de células claras es de aproximadamente el 50%, pero al igual que con el carcinoma seroso, las mujeres que presentan enfermedad en estadio I tienen un pronóstico más favorable [3].

### - **Indiferenciado y desdiferenciado**

El carcinoma indiferenciado es una entidad rara definida por la OMS como un tumor que carece de cualquier evidencia de diferenciación y se subclasifica como desdiferenciado si se asocia con un área claramente delimitada de un carcinoma endometriode de bajo grado (FIGO grado 1 o grado 2) [3].

El carcinoma indiferenciado se caracteriza por la presencia de extensos acúmulos discohesivos de células de pequeño – mediano tamaño. Estas células muestran núcleos vesiculares con nucleolo pequeño y numerosas figuras mitóticas. Estas características hacen que, a bajo aumento, el carcinoma indiferenciado se pueda confundir con un sarcoma del estroma de bajo grado, un carcinoma de células pequeñas o un linfoma. A mayor aumento se puede

observar que carece de la vasculatura característica del sarcoma del estroma y del patrón de cromatina en sal y pimienta del carcinoma de células pequeñas. Otra entidad a valorar a la hora de realizar un diagnóstico diferencial es el carcinoma endometriode de grado 3 que generalmente contiene áreas focales de diferenciación glandular entremezclada o tiene características de un carcinoma escamoso pobremente diferenciado no queratinizante [34].

Por el contrario, el carcinoma desdiferenciado se caracteriza por la presencia de un cambio brusco marcado entre el componente indiferenciado y un componente de carcinoma endometriode de bajo grado. Además, el componente de carcinoma endometriode de bajo grado suele estar presente en la superficie del endometrio, mientras que el componente indiferenciado infiltra en el miometrio [3].

Ambos tumores son muy agresivos, presentando en la mitad de los casos, enfermedad metastásica en el momento del diagnóstico. Sin embargo, se ha estudiado que molecularmente son heterogéneos [3,34].

### - **Mixto**

Es un diagnóstico poco común (aproximadamente el 10% de los carcinomas de endometrio) y se trata de carcinomas compuestos por dos o más tipos histológicos de cáncer de endometrio [3].

## Introducción

---

En cuanto a la patogenia de esta entidad existen varias teorías que van desde la colisión de dos carcinomas sincrónicos biológicamente no relacionados a la diferenciación divergente o progresión desde un carcinoma endometrioide de bajo grado.

Para su diagnóstico se requiere la presencia de dos histotipos diferentes corroborados por histología e inmunohistoquímica. No debería utilizarse el diagnóstico de carcinoma mixto en el caso de variantes de carcinoma endometrioide, carcinomas desdiferenciados o carcinosarcomas. Lo más común es el diagnóstico de carcinoma mixto de endometrio con mezcla de carcinoma endometrioide y seroso, seguido del carcinoma de células claras [3].

Por lo general, el tumor exhibe las características moleculares de cada componente, pero puede haber algunas características superpuestas y cierto grado de ambigüedad molecular.

### - **Otros carcinomas endometriales**

En la nueva clasificación de la OMS (2020, 5ª Edición) [3] se introducen cuatro nuevos histotipos:

#### ▪ Adenocarcinoma mesonéfrico

Para el diagnóstico del adenocarcinoma mesonéfrico es fundamental evidenciar restos mesonéfricos que no son identificables en el adenocarcinoma tipo mesonéfrico.

- Adenocarcinoma tipo mesonéfrico

Ambos tumores comparten muchas similitudes morfológicas, inmunohistoquímicas y moleculares. No se conoce su etiología, pero se han descrito mutaciones en KRAS y ARID1A en ambos. De acuerdo con el origen/diferenciación mesonéfrica, estos tumores suelen mostrar una positividad difusa para GATA-3, así como positividad inmunohistoquímica para calretinina y CD10. ER y PR son negativos y p53 muestra tinción *wild-type*.

- Carcinoma escamoso primario

Está asociado a inflamación crónica, piometra, irradiación previa o infección por HPV. Morfológicamente es idéntico a un carcinoma escamoso de cualquier origen, pero se ha estudiado que puede exhibir menos atipia citológica y tener frentes invasivos más amplios.

- Carcinoma mucinoso tipo gastrointestinal

Son tumores excepcionalmente raros y se encuentran asociados a metaplasia mucinosa del tracto genital. Histológicamente se caracterizan por una arquitectura glandular tapizada por epitelio secretor de mucina, que puede incluir células caliciformes. Las células tumorales son típicamente negativas para marcadores inmunohistoquímicos de receptores de estrógenos y progesterona diferenciándose así de los carcinomas endometrioides con diferenciación mucinosa. En su diagnóstico se debe excluir el origen cervical o del tracto

## Introducción

---

gastrointestinal. Se asocian con un comportamiento clínico agresivo y, por lo tanto, no deben diagnosticarse erróneamente como histotipo endometriode de bajo grado.

### - **Carcinosarcoma**

El carcinosarcoma uterino es raro y representa menos del 2% de todos los diagnósticos de cáncer de endometrio [3].

Es un tumor bifásico con componentes tanto carcinomatosos como sarcomatosos, siendo variable la histología de cada componente. El componente carcinomatoso puede ser de histología serosa, de células claras, indiferenciada, endometriode de alto grado o mixta. Con menos frecuencia puede ser un carcinoma endometriode de bajo grado. El componente sarcomatoso puede estar compuesto por elementos mesenquimales que se presentan en el útero (homólogos), como el sarcoma estromal o el leiomiomasarcoma, o de origen extrauterino (heterólogo), como el rabdomiosarcoma, el condrosarcoma o el osteosarcoma. La presencia de un componente heterólogo se asocia con un pronóstico relativamente pobre.

Se han sugerido tres teorías principales (colisión, combinación y conversión) para explicar la naturaleza bifásica de los carcinosarcomas uterinos. La teoría de la colisión plantea que los componentes del carcinoma y el sarcoma tienen orígenes independientes y chocan para formar un solo tumor. La teoría de

la combinación formula la presencia de una única célula madre precursora y su posterior diferenciación para dar lugar a los dos componentes histológicos. La teoría de la conversión, por el contrario, propone un origen monoclonal y una transición metaplásica de carcinoma a sarcoma (transición epitelio – mesénquima). Los análisis moleculares separados de ambos componentes sugieren la teoría de la conversión en la mayoría de los carcinosarcomas de endometrio [3].

Son muy agresivos presentando, en su gran mayoría, metástasis del componente carcinomatoso al diagnóstico.

### **1.1.5.3 Clasificación molecular del cáncer de endometrio**

La clasificación molecular del cáncer de endometrio surge en 2013, cuando el grupo de investigación The Cancer Genome Atlas (TCGA) informó sobre un análisis genómico integrado, completo y a gran escala de 373 carcinomas de endometrio [37]. En este estudio se analizó la secuencia del exoma completo, la secuencia del transcriptoma, el número de copias genómicas, las matrices proteicas, la inestabilidad de microsatélites y el perfil de metilación [37]. Se identificaron cuatro categorías no superpuestas de cáncer de endometrio con distintas características clínicas, patológicas y moleculares (Figura 9) [7,37-39]:

- Cáncer de endometrio POLE ultramutado (7%)
- Cáncer de endometrio con inestabilidad de microsatélites (MSI)/hipermutado (28%)

# Introducción

- Cáncer de endometrio p53 mutado (alto número de copias) (26 %)
- Cáncer de endometrio con perfil mutacional no específico (p53 *wild-type*) / microsatélites estables (39%)

La clasificación molecular aplica a todos los carcinomas de endometrio independientemente del histotipo  
 Los test de interpretación deben seguir el siguiente algoritmo

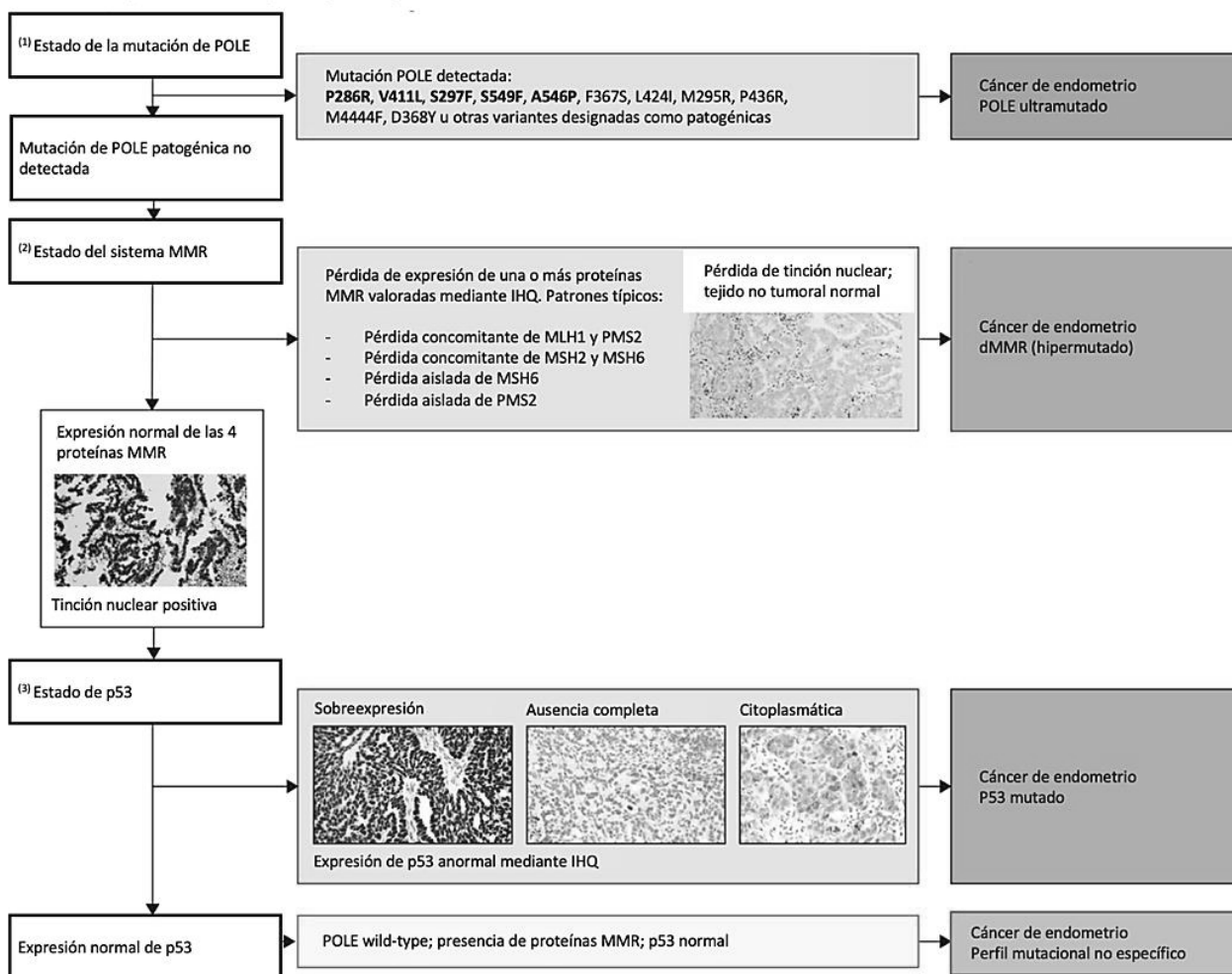


Figura 9. Enfoque pragmático respaldado por la OMS para la clasificación molecular del cáncer de endometrio en la práctica clínica. (1) La presencia de una variante patogénica POLE confirmada clasifica un tumor como POLE ultramutado, independientemente del estado de MMR y p53. (2) En tumores competentes en POLE, la pérdida de la expresión de MMR clasifica los casos como dMMR, independientemente del estado de p53. (3) Una vez que se excluyen las variantes patogénicas de POLE y los defectos en MMR, la expresión anormal de p53 identifica como p53 mutado. El resto se clasifica actualmente como NSMP. Fuente: Crosbie et al. Endometrial Cancer. Lancet. 2022; 399: 1412-28 [8].



### - **POLE ultramutado**

El cáncer de endometrio POLE ultramutado es un subgrupo caracterizado por mutaciones somáticas en el dominio de exonucleasa polimerasa  $\epsilon$  (POLE) del ADN y su alteración da como resultado una tasa de mutación notablemente alta ( $232 \times 10^6$  mutaciones por Mb) y una mayor proporción de transversiones C > T que los otros subgrupos moleculares [23]. En este grupo también se encuentran los casos de mutación de POLE y TP53, POLE y dMMR y POLE, TP53 y dMMR, ya que se entiende que la mutación de POLE da lugar a un aumento de la tasa de mutabilidad, por lo que más genes pueden aparecer mutados [40].

Este grupo está compuesto por carcinomas endometrioides de bajo y alto grado. Sin embargo, a pesar de una alta proporción de tumores endometrioides de grado 3 en este subgrupo, todos mostraron un pronóstico excelente sin recurrencias independientemente del grado [37,39,41]. Se estudiaron así mismo diferentes tipos de cáncer de endometrio POLE ultramutado con histología de alto grado, heterogeneidad morfológica y atipia nuclear intensa, mostrando todos ellos un pronóstico favorable [42,43].

### - **Déficit de MMR**

El subgrupo de dMMR (hipermutado) se caracteriza por una alta tasa de mutación ( $18 \times 10^6$  mutaciones/Mb) acompañada de inestabilidad de

## Introducción

---

microsatélites (MSI) e hipermetilación frecuente del promotor MLH1, lo que indica un sistema de reparación de errores en el emparejamiento del ADN (MMR) defectuoso [23].

La inestabilidad de microsatélites (MSI), reflejada como defectos en el sistema de reparación del ADN, se presenta en aproximadamente un 30% de los carcinomas endometrioides y está asociado a un fenotipo hipermutado [23]. En el estudio TCGA [44,45], la mayoría de los tumores en el grupo MSI mostraron una disminución de la expresión del ARNm de MLH1 secundaria a la metilación del promotor, una indicación de pérdida de expresión somática.

Los defectos en MMR producen la acumulación de mutaciones somáticas debido a repetición de nucleótidos en el genoma por errores en el sistema de reparación del ADN. Algunas de estas mutaciones pueden ocurrir por casualidad en los genes *drivers* de diversos tipos de cáncer y ser, por tanto, un evento impulsor patógeno. Las mutaciones más comunes en los tumores del subgrupo MSI incluyen mutaciones en ARID5B, mutaciones en PTEN y mutaciones en los genes de la familia de fosfatidilinositol-3-quinasa, incluidos PIK3CA y PIK3R1 [38,39,46].

### - **p53 mutado**

El cáncer de endometrio con p53 mutado se caracteriza por alto número de copias, mutaciones somáticas frecuentes (92%) en TP53 y una tasa de mutación relativamente baja ( $2,3 \times 10^6$  mutaciones/Mb) [23].

Las mutaciones en el gen supresor de tumores TP53 o las alteraciones en la proteína p53 son los hallazgos más frecuentes en los carcinomas serosos, ocurriendo en el 85% de ellos [23]. La desregulación en TP53 o p53 es un evento temprano en la patogénesis del carcinoma seroso de endometrio ocurriendo en un gran grupo de carcinomas intraepiteliales serosos [31]. Estos hallazgos son consistentes con la aneuploidía conocida y el ADN cromosómico inestable típico de los carcinomas serosos [44,46]. En general, los tumores en el subgrupo p53 mutado exhiben el pronóstico menos favorable entre los cuatro subgrupos moleculares [47,48].

### - **Perfil mutacional no específico (NSMP)**

El cáncer de endometrio con perfil mutacional no específico es el subgrupo que presenta una tasa de mutación general relativamente baja ( $2,9 \times 10^6$  mutaciones/Mb) [23]. Es denominado también como grupo de microsatélites estables (MSS) y p53 *wild-type* e incluye más de la mitad de los tumores endometrioides de bajo grado [23,47].

## Introducción

---

El conocimiento de los cuatro grupos de la clasificación molecular no solo ofrece información sobre las alteraciones genéticas de estos tumores, sino que supone un recurso terapéutico en la práctica clínica, conduciendo a una mejor predicción de los resultados clínicos que la proporcionada por la morfología y los parámetros de riesgo habituales como el estadio y la presencia de invasión linfovascular. Sin embargo, existen limitaciones para utilizar este enfoque en la práctica habitual ya que para ser clínicamente útiles deben ser factibles, reproducibles y rentables [39].

### 1.1.5.4 Clasificación del cáncer de endometrio desde las 3 dimensiones

Es importante reconocer que el histotipo y el subtipo molecular tienen diferentes estrategias de clasificación, siendo compleja la correlación entre ellas. Algunos subtipos moleculares pueden tener características histológicas que se superponen con diferentes subtipos histológicos [49] (Figura 10).

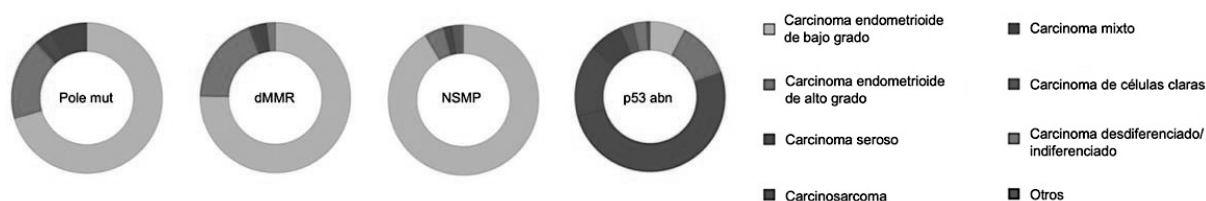


Figura 10. Distribución de los histotipos en cada uno de los cuatro subtipos moleculares del cáncer de endometrio. Fuente: Thompson EF et al. Variability in endometrial carcinoma pathology practice: opportunities for improvement with molecular classification. Mod Pathol. 2022 Dec;35(12):1974-1982 [49].

Como resumen de estas tres dimensiones para la clasificación, hemos realizado la siguiente tabla (Tabla 6):

Tabla 6. Clasificación del cáncer de endometrio. Tres dimensiones.

CLASIFICACIÓN DEL CÁNCER DE ENDOMETRIO. TRES DIMENSIONES				
<b>PATOGÉNICA</b>	TIPO I Obesidad Nuliparidad Diabetes Mellitus		TIPO II Más jóvenes Sin predisposición metabólica	
<b>HISTOLÓGICA</b>	ENDOMETRIOIDES		NO ENDOMETRIOIDES	
	Patrón MELF Diferenciación mucinosa TILs		Serosos	
<b>MOLECULAR</b>	dMMR	NSMP	POLE mut	p53 mut

### 1.1.6 Tratamiento

#### 1.1.6.1 Quirúrgico

El pilar del tratamiento del cáncer de endometrio es la histerectomía total y la salpingooforectomía bilateral. En mujeres premenopáusicas en estadios tempranos se puede considerar la conservación de los ovarios para evitar las consecuencias de la menopausia quirúrgica precoz, sin afectar negativamente a los resultados de supervivencia [8].

El estado de los ganglios linfáticos es importante para la estadificación quirúrgica ya que guía las decisiones sobre la terapia adyuvante e informa del pronóstico [50]. Estos beneficios deben sopesarse frente a la morbilidad perioperatoria conocida de la disección de los ganglios linfáticos pélvicos y

## Introducción

---

paraaórticos, incluida la posibilidad de linfedema de las extremidades inferiores a largo plazo [50,51]. La utilización de la biopsia del ganglio linfático centinela ha permitido un enfoque más unificador para la evaluación de los ganglios en el cáncer de endometrio demostrando seguridad, altas tasas de detección de ganglios positivos y altos valores predictivos negativos (97–99%) lo que reduce la necesidad de una completa linfadenectomía [51].

Se recomienda la toma de biopsias de epiplon o retroperitoneo, o ambas, en pacientes con mayor riesgo de enfermedad metastásica, incluso en ausencia de imágenes preoperatorias o evidencia intraoperatoria de metástasis [8].

### 1.1.6.2 Adyuvante

El tratamiento adyuvante en el carcinoma de endometrio depende del grupo dentro del sistema de clasificación de la FIGO [35] y de la categorización patológica (pTNM, AJCC 8ª Edición) [53].

Las mujeres con carcinomas endometrioides de bajo grado en estadio IA tienen un riesgo bajo de recaída (<5%) y no requieren tratamiento adicional.

Para pacientes con riesgo intermedio de recurrencia, los estudios han demostrado que la radioterapia de haz externo no ofrece ningún beneficio sobre la braquiterapia vaginal sola. Aunque la braquiterapia vaginal no mejora la supervivencia global, es bien tolerada y reduce la recurrencia vaginal de alrededor del 14% a menos del 2% [8].

El grupo de riesgo intermedio-alto redefinido en las guías de la ESGO-ESMO reconoce la importancia de la presencia de invasión linfovascular como factor de pronóstico pobre [54]. En estos casos es necesaria la radioterapia pélvica o braquiterapia vaginal seguida de tres ciclos de carboplatino y quimioterapia con paclitaxel. Las opciones de tratamiento adyuvante para pacientes de riesgo intermedio-alto incluyen radioterapia de haz externo, particularmente cuando hay invasión linfovascular o un tumor de alto grado, o braquiterapia vaginal (en ausencia de invasión linfovascular) [54].

La clasificación molecular se ha integrado en las pautas de la ESGO y en el futuro podría determinar el tipo de tratamiento adyuvante que se ofrecerá. Según la reclasificación que se realizó a las participantes en el estudio PORTEC-3 [55]:

- Carcinomas de endometrio con p53 mutado: muestran un beneficio muy significativo con la adición de quimioterapia (59% frente a 36% de supervivencia libre de recaídas).
- Carcinomas de endometrio con perfil mutacional no específico: también muestran beneficio a la adición de quimioterapia, aunque en menor medida (80% frente a 68% de supervivencia sin recaída).
- Carcinomas de endometrio con déficit de MMR: no parecieron beneficiarse de la quimioterapia (68% frente a 76% de supervivencia sin recaídas).

- Carcinomas de endometrio POLE ultramutado: excelentes resultados con o sin quimioterapia (100% frente a 97% de supervivencia sin recaídas).

Estos hallazgos sugieren que en las pacientes con carcinomas de endometrio POLE ultramutado se podría considerar la reducción del tratamiento, así como que las pacientes con carcinomas de endometrio con déficit de MMR podrían beneficiarse de tratamientos con inhibidores del control inmunitario [54].

### 1.1.7 Supervivencia

La supervivencia global a los cinco años tras el diagnóstico de cáncer de endometrio es del 90-95% en etapas tempranas de la enfermedad (estadios I y II) y del 17-66% en etapas más avanzadas (estadios III y IV) dependiendo de la extensión del cáncer [56].

Diversos estudios han demostrado que la supervivencia global en pacientes con cáncer de endometrio de fenotipo MSI es significativamente mejor en comparación con la supervivencia de las pacientes con cáncer de endometrio no MSI. Kim et al. [57] han demostrado que las pacientes con cáncer de endometrio de fenotipo MSI presentan una supervivencia global significativamente mejor en comparación con las pacientes con cáncer de endometrio de fenotipo no MSI (fenotipo MSS). En general, la evidencia sugiere que la presencia de MSI en el cáncer de endometrio está asociada con una mejor supervivencia global. Sin



embargo, es importante tener en cuenta que la supervivencia global también puede verse afectada por otros factores, como la etapa del cáncer y el tratamiento recibido [57-59].

En pacientes con cáncer de endometrio, la supervivencia libre de enfermedad es del 80% en etapas tempranas (I y II) y del 50% en etapas avanzadas (III y IV) [56]. En pacientes con cáncer de endometrio MSI, la supervivencia libre de enfermedad es significativamente mejor en comparación con los pacientes con cáncer de endometrio no MSI [56].

El seguimiento después del tratamiento tiene como objetivo identificar la recurrencia y abordar la morbilidad relacionada con el tratamiento, incluido el linfedema y la disfunción vesical, intestinal y sexual inducida por radioterapia así como proporcionar atención psicológica [8]. El formato y la frecuencia del seguimiento varían según los factores relacionados con el tumor y el historial de tratamiento. Las pruebas de imagen de rutina no han demostrado que mejoren los resultados de supervivencia, pero la monitorización del ADN libre circulante en sangre ofrece la esperanza en la detección precoz de recurrencia de la enfermedad en el futuro [60].

### 1.2 VÍAS DE REPARACIÓN DEL ADN

El ADN es una molécula altamente reactiva y susceptible a modificaciones por parte de agentes endógenos y exógenos. Así mismo, las ADN polimerasas involucradas en la replicación y reparación del ADN pueden cometer errores. Para reducir sus consecuencias, existen sistemas de reparación del ADN, de tolerancia al daño, puntos de control del ciclo celular y vías de muerte celular. Las células responden al daño del ADN activando vías sólidas de detección y respuesta al daño del ADN (DDR), que dan tiempo suficiente para que las vías de reparación del ADN específicas eliminen físicamente el daño de una manera dependiente del sustrato [62].

Hay al menos cinco vías principales de reparación del ADN que están activas en diferentes etapas del ciclo celular [62,63]:

- Reparación por escisión de bases (BER)
- Reparación por escisión de nucleótidos (NER)
- Reparación de errores en el emparejamiento (MMR)
- Recombinación homóloga
- Unión de extremos no homólogos

Algunas lesiones específicas también se pueden eliminar mediante la reversión química directa y la reparación del entrecruzamiento entre hebras. Estos procesos de reparación son cruciales para mantener la estabilidad genética en las células [63].

Además, ciertos tipos de daños en el ADN son sustratos para las vías de tolerancia al daño en el ADN [64]. En los eucariotas superiores, un grupo bien orquestado de cinco polimerasas de síntesis de translesión principales (REV1, POL ζ, POL η, POL κ y POL ι) eluden el daño para permitir la continuación de la replicación, pero con la posibilidad de una introducción concurrente de una base incorrecta que puede fijarse en una mutación en la siguiente ronda de replicación [62-65].

Bajo ciertas circunstancias, cuando el ADN dañado persiste, se activa la muerte celular programada o apoptosis, una respuesta reguladora al daño del ADN, para deshacerse de las células con una gran inestabilidad del genoma [63].

### **1.2.1 Reparación de errores en el emparejamiento del ADN (MMR)**

Para nuestro trabajo, nos centraremos en la vía de reparación de errores del emparejamiento del ADN. Se trata de una vía de reparación posreplicativa de desajustes de bases en el ADN (MMR, por sus siglas en inglés *mismatch repair*). La vía MMR típicamente reconoce desajustes de bases que surgen durante la replicación y bucles de inserción-delección dentro de secuencias de ADN repetitivas que resultan de eventos de deslizamiento de cadena [66].

Además, esta vía participa en una variedad de procesos celulares, incluyendo la estabilidad de microsatélites, la recombinación meiótica y mitótica, la

## Introducción

---

señalización de daños en el ADN, la apoptosis, la recombinación de cambio de clase, la hipermutación somática y la expansión de repetición de triplete [66,67].

### 1.2.2 Pasos de la vía de reparación MMR

La vía de reparación de los errores del emparejamiento del ADN compromete tres pasos [68]: reconocimiento, escisión y resíntesis.

#### 1.2.2.1 Reconocimiento

Inicialmente, el complejo proteico MutS (tanto MutS $\alpha$ : h (heterodúplex) MSH2/ hMSH6, como MutS $\beta$ : hMSH2/ hMSH3) reconoce los desajustes en las bases y los bucles de inserción- deleción [68]. De los ocho polipéptidos homólogos de MutS conocidos en eucariotas, los humanos emplean el heterodímero MutS $\alpha$  (MSH2/MSH6) para reconocer los desajustes de bases y los bucles de inserción-deleción de uno a dos nucleótidos, y el heterodímero MutS $\beta$  (MSH2/MSH3) para reconocer los bucles de inserción -deleción de mayor tamaño [62-69].



Figura 11. Reconocimiento del mismatch. Fuente: Guillotin et al. Exploiting DNA mismatch repair deficiency as a therapeutic strategy. Exp Cell Res. 2014; 329: 110- [68].

Cuando MutS (tanto  $\alpha$  como  $\beta$ ) se une al ADN, forma una pinza deslizante capaz de trasladarse en cualquier dirección del ADN hasta que reconoce

cualquier *mismatch*. El antígeno nuclear de células en proliferación (PCNA) es necesario para el reconocimiento del mismatch mediante la interacción con MutS [68]. PCNA juega un papel importante tanto en el paso de iniciación de MMR como en la subsiguiente síntesis de ADN al interactuar y localizar los complejos MutS $\alpha/\beta$  y MutL $\alpha$  en el sitio de la lesión [2,68].



Figura 12. Unión de MutS. Fuente: Guillotin et al. Exploiting DNA mismatch repair deficiency as a therapeutic strategy. Exp Cell Res. 2014; 329: 110-5 [48].

Este reconocimiento altera la conformación de MutS en una forma dependiente de ATP, permitiendo el reclutamiento de MutL (compuesto por hMLH1, ya sea unido a PMS2 (MutL $\alpha$ ), o bien a PMS1 (MutL $\beta$ ) o a MLH3 (MutL $\gamma$ )) para formar un complejo ternario dependiente de ATP [68].

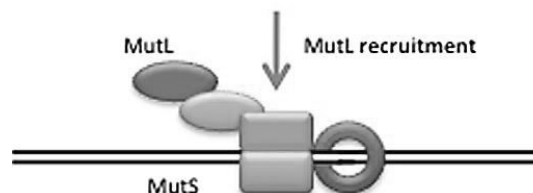


Figura 13. MutS dependiente de ATP, reclutamiento de MutL. Fuente: Guillotin et al. Exploiting DNA mismatch repair deficiency as a therapeutic strategy. Exp Cell Res. 2014; 329: 110-5 [68].

### 1.2.2.2 Escisión

MutL $\alpha$  es el complejo MutL más prominente y cuando se une a MutS actúa como una endonucleasa.

## Introducción

---

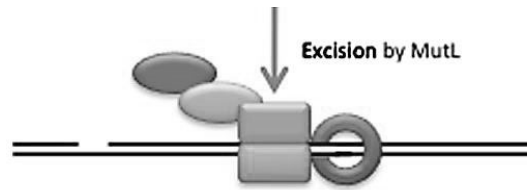


Figura 14. Escisión del error. Fuente: Guillotin et al. Exploiting DNA mismatch repair deficiency as a therapeutic strategy. Exp Cell Res. 2014; 329: 110-5 [68].

La exonucleasa 1 (Exo1) es reclutada para escindir nucleótidos en la dirección 5' → 3'. En caso de escisión en 3', Exo1 recluta al factor C de la replicación (RFC) para realizar la escisión en dirección 3' → 5'.



Figura 15. Reclutamiento de la exonucleasa 1. Fuente: Guillotin et al. Exploiting DNA mismatch repair deficiency as a therapeutic strategy. Exp Cell Res. 2014; 329: 110-5 [68].

La proteína A de la replicación (RPA) es un factor de unión que estabiliza el ADN monocatenario e inhibe Exo1 para evitar mayor degradación [68].

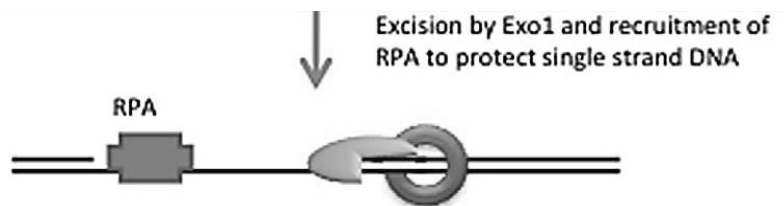


Figura 16. Escisión y reclutamiento de RPA. Fuente: Guillotin et al. Exploiting DNA mismatch repair deficiency as a therapeutic strategy. Exp Cell Res. 2014; 329: 110-5 [68].

### 1.2.2.3 Resíntesis

Después de la eliminación del *mismatch*, el último paso es resintetizar el ADN escindido por la ADN polimerasa  $\delta$  y unir los cortes con la ADN ligasa I.

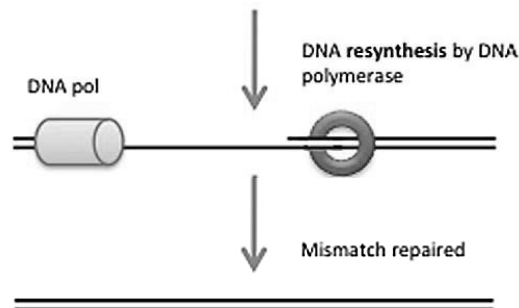


Figura 17. Resíntesis del ADN. Fuente: Guillotin et al. Exploiting DNA mismatch repair deficiency as a therapeutic strategy. Exp Cell Res. 2014; 329: 110-5 [68].

Además de en la reparación de los desajustes en el emparejamiento del ADN, se han identificado otras funciones para las proteínas MMR que incluyen los siguientes efectos:

- Un posible papel en el ciclo celular
- La reparación de daño oxidativo del ADN
- La supresión de la recombinación homóloga
- La co-activación del receptor de estrógeno  $\alpha$  en cáncer de mama
- La actividad en recombinaciones mitóticas, meióticas y del cambio de clase de anticuerpo (*class-switch*).

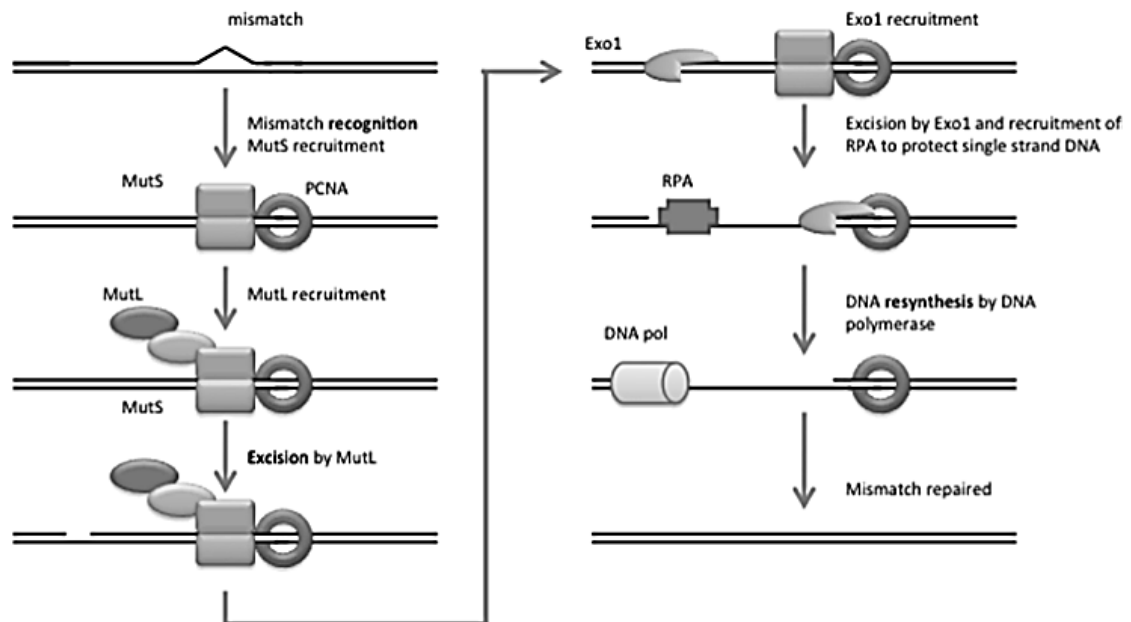


Figura 18. Diagrama de la vía de reparación del ADN. La vía regular del ADN reconoce los errores en nucleótidos y los loops de inserción-delección que ocurren en la replicación del ADN. Esta reparación se lleva a cabo en tres pasos: reconocimiento, escisión y resíntesis. Fuente: Guillotin et al. Exploiting DNA mismatch repair deficiency as a therapeutic strategy. *Exp Cell Res.* 2014; 329: 110-5 [68].



### 1.3 INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES

#### 1.3.1 Defectos en MMR

En las células humanas, los defectos de reparación de errores en el emparejamiento de ADN (MMR) comienza cuando un gen principal de MMR (MLH1, MSH2, MSH6 o PMS2) se inactiva a través de mutaciones somáticas o de línea germinal o silenciamiento epigenético. Esto es seguido por la pérdida de la proteína MMR que luego conduce a la pérdida de la función MMR y la posterior acumulación de errores de desajuste no reparados (desajustes de base a base y errores de inserción-delección [*indel*]) en las secuencias de ADN repetitivas conocidas como microsatélites [70]. Los microsatélites se distribuyen a lo largo del genoma, tanto en las regiones codificantes como en las no codificantes, y son particularmente sensibles a los errores de desajuste del ADN durante la replicación del ADN o el daño iatrogénico; esto se manifiesta como inestabilidad de microsatélites (MSI) [69]. Cuando dichos microsatélites inestables involucran la codificación u otras secuencias funcionalmente importantes de genes asociados con el cáncer, se produce la iniciación del tumor o la progresión acelerada [68].

Las proteínas del sistema MMR más importantes son MSH2 (homólogo 2 de MutS), MSH6 (homólogo 6 de MutS), MLH1 (homólogo 1 de MutL) y PMS2 (aumento de la segregación posmeiótica) [71].

## Introducción

---

Estas cuatro proteínas funcionan como heterodímeros:

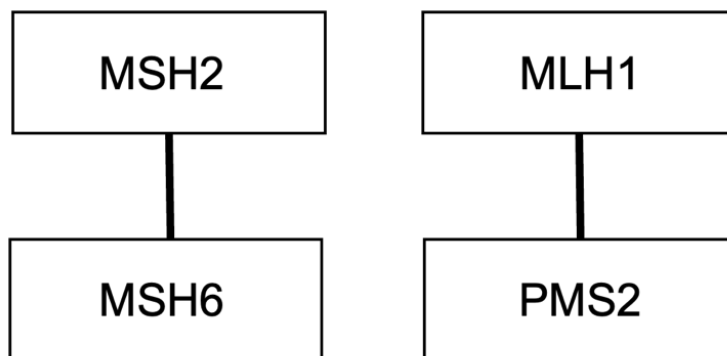


Figura 19. Heterodímeros proteicos de MMR.

MSH2 junto a MSH6 y MLH1 junto a PMS2, donde MSH2 y MLH1 son socios obligatorios (Figura 19). Una alteración en MSH2 o MLH1 da como resultado la degradación proteolítica posterior de la proteína mutada y su pareja secundaria. Por el contrario, las mutaciones en los socios secundarios MSH6 o PMS2 no dan como resultado la degradación proteolítica de sus socios primarios, ya que MSH6 puede sustituirse en el heterodímero por MSH3 y PMS2 por PMS1 o MLH3, respectivamente [71].

La pérdida de expresión de una de las proteínas MMR (MSH2, MSH6, MLH1 y PMS2) se asocia con una mayor predisposición a una serie de cánceres, incluidos el colorrectal, el gástrico, el endometrial y el ovárico, entre otros [58]. Las mutaciones de la línea germinal en los genes MMR (MSI) pueden dar lugar a la condición autosómica dominante, denominada síndrome de Lynch (SL), anteriormente conocido como cáncer de colon hereditario sin poliposis (HNPCC)

(Figura 20, Tabla 7). Las pacientes con SL tienen un mayor riesgo de desarrollar cáncer, incluido un 80% de riesgo de desarrollar cáncer colorrectal y, en mujeres, un 60% de riesgo de desarrollar cáncer de endometrio y un 25% de desarrollar cáncer de ovario [68,72]. En el SL, solo se hereda un alelo mutado de un gen MMR. La pérdida del segundo alelo ocurre somáticamente por mutación o metilación. El rarísimo caso en el que ambos alelos heredados están mutados se denomina síndrome de deficiencia de MMR constitucional y conduce al cáncer durante la infancia [68].

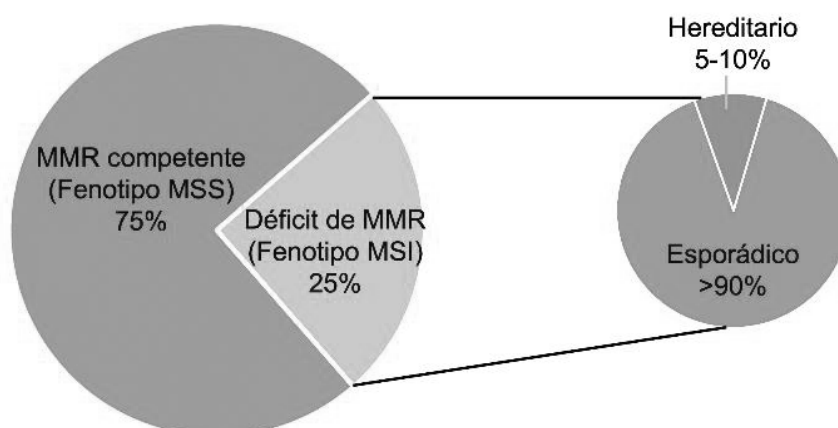


Figura 20. Déficit de MMR en el cáncer de endometrio. Fuente: León-Castillo et al. Clinicopathological and molecular characterization of “multiple-classifier” endometrial carcinomas. J Pathol. 2020; 250(3): 312-322 [40].

## Introducción

---

Tabla 7. Diferencias entre el síndrome de Lynch y el déficit de MMR. Fuente: Zannoni et al. Current Prognostic and Predictive Biomarkers for Endometrial Cancer in Clinical Practice: Recommendations/Proposal from the Italian Study Group. Front Oncol. 2022; 12: 1-20 [73].

<b>Síndrome de Lynch</b> (trastorno autosómico dominante)	<b>dMMR</b> (en ausencia de síndrome de Lynch)
Mutaciones constitucionales en la línea germinal de MSH2, MSH6, MLH1 y PMS2	Hipermetilación bialélica somática esporádica del promotor del gen de MLH1
Metilación constitucional del promotor de MLH1	Dos mutaciones somáticas de las proteínas MMR
Deleción de EPCAM en el extremo 3' (provoca silenciamiento epigenético de MSH2 y la subsiguiente hipermetilación de su promotor en tejidos que expresan EPCAM)	Una mutación somática con pérdida de heterogeneidad (LOH) del otro alelo
	Silenciamiento epigenético de MSH6 secundario a tratamiento radioquimioterapéutico

### 1.3.2 Importancia del análisis de las proteínas MMR en el cáncer de endometrio

Las pruebas de detección de dMMR/MSI tienen varias implicaciones clínicas importantes:

- Cribado de síndrome de Lynch: se estima que una de cada 250-300 personas se ve afectada por síndrome de Lynch [74]. En este síndrome, el cáncer de endometrio suele ser el primero en aparecer (cáncer centinela) por lo que es fundamental su diagnóstico a la hora de establecer programas de cribado. La identificación de síndrome de Lynch en una familia permite la vigilancia y la toma de medidas preventivas para reducir la mortalidad por cánceres posteriores.

- Diagnóstico histomolecular de cáncer de endometrio: la clasificación del grupo TCGA y las directrices recientes de ESGO/ESTRO/ESP [54] exigen pruebas de MMR en todos los casos para identificar el grupo de cáncer de endometrio con dMMR (MSI hipermutado).

- Pruebas predictivas de efectividad del tratamiento: en tumores con defectos en MMR se ha aprobado el tratamiento dirigido con inhibidores de control inmunitario. Al estar caracterizados por la sobreexpresión de PD1/PDL1, pueden ser tratados con anticuerpos anti-PD1 en los casos de recurrencia o tras progresión después de quimioterapia basada en platino [73]. Se considera el déficit de MMR como un biomarcador pronóstico y predictivo de respuesta a inhibidores del *checkpoint* inmune [75].

### 1.4 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y MORFOLÓGICAS RELACIONADAS CON EL DÉFICIT DE MMR EN EL CÁNCER DE ENDOMETRIO

No existen criterios clínicos o morfológicos determinantes del déficit de MMR en el cáncer de endometrio, pero sí que es importante conocer que existen una serie de características muy frecuentes en este tipo de tumores [93].

Clínicamente se ha asociado el déficit de MMR a pacientes más jóvenes (45–55 años) comparadas con aquellas con MMR competente (65 años). Ryan et al. [74] demostraron que las pacientes con déficit en MSH6 presentaban mayor edad al diagnóstico que aquellas con déficit de MSH2 o MLH1. En su estudio, la edad media de aparición del cáncer de endometrio con déficit de MLH1 y MSH2 fue de 39-49,5 años, mientras que la de las pacientes con déficit de MSH6 fue de 50,6-59,5 años.

La obesidad es un factor de riesgo conocido para desarrollar cáncer de endometrio que aumenta en mujeres premenopáusicas, ya que se genera un entorno proestrogénico. Estudios como los de McCourt et al. [76], Cohn et al. [77] y Joehlin-Price et al. [78] demuestran que a mayor IMC, mayor será el riesgo de padecer cáncer de endometrio con microsatélites estables (MSS) frente a MSI. Otros estudios [79-81] han demostrado que las pacientes con MSI diagnosticadas de cáncer de endometrio tenían un IMC más bajo. Estos estudios

indicaron que, aunque la obesidad era un factor de riesgo para las pacientes con MSI, tenían un IMC más bajo comparado con aquellas con MMR competente.

En las pacientes con síndrome de Lynch, existe un riesgo significativo de desarrollar un segundo cáncer metacrónico, siendo el cáncer de endometrio el cáncer centinela. En un artículo publicado en 2009 [82], se estudió que el 33,3% de las mujeres con síndrome de Lynch presentaron, tras el cáncer de endometrio, un segundo tumor primario, frente al 5,1% de las mujeres con cáncer de endometrio esporádico. Las localizaciones de estos segundos tumores fueron: colorrectal, ovario, mama, labio y vulva. En 2021, Post et al. [17] informaron que la incidencia de un segundo tumor primario asociado a síndrome de Lynch fue un 11,1% superior al de las pacientes sin deficiencia de MMR (MSS). A pesar de la diferencia en los métodos de diagnóstico utilizados (criterios de Amsterdam II en el estudio de Wang et al. [82] frente a métodos moleculares utilizados por Post et al. [17]) y de etnia entre estos dos estudios, todos mostraron un mayor riesgo de desarrollar segundos cánceres primarios en pacientes con síndrome de Lynch tras el diagnóstico de cáncer de endometrio.

Macroscópicamente se ha estudiado una asociación entre la aparición del cáncer de endometrio localizado en el segmento uterino inferior y el déficit de MMR [83]. Se desconoce el motivo de la predilección por esta localización, pero el segmento uterino inferior presenta una histología diferente en comparación con el resto del endometrio. Quizás este epitelio sea más susceptible a errores de

## Introducción

---

reparación del ADN, al igual que existe una predilección por los tumores de colon del lado derecho en el síndrome de Lynch [48]. La afectación del segmento uterino inferior se ha identificado como un factor de riesgo para las metástasis en los ganglios linfáticos, lo que conlleva un impacto negativo en el pronóstico de las pacientes [48,83].

La asociación entre el déficit de MMR y el subtipo histológico de cáncer de endometrio no está completamente establecida. Algunos autores proponen que el estado de MSI es más característico del carcinoma endometriode [84-86], mientras que otros afirman que está presente tanto en los carcinomas endometrioides como en los subtipos no endometrioides en la misma proporción [75,87-89]. A parte del subtipo histológico, se han estudiado otras características morfológicas asociadas al fenotipo MSI [15] como una diferenciación mucinosa, heterogeneidad tumoral, así como una respuesta inmune intensa, manifestada por la presencia de infiltración peritumoral y linfocitos infiltrantes en el tumor (TILs) [15]. La presencia significativamente mayor de células infiltrantes CD8+, PD-1+ y CD45RO+ en el margen invasivo, así como linfocitos T citotóxicos activados en el estroma. Esta asociación entre la presencia de TILs y los tumores dMMR/MSI se ha estudiado como consecuencia del aumento de neoantígenos inducido por la presencia de alta carga mutacional [16]. Otras características morfológicas de este tipo de cáncer es su asociación con un patrón de invasión “microquístico, elongado y fragmentado” (MELF) y la invasión linfovascular.



Existen artículos que sugieren que las pacientes con dMMR presentan estadio intermedio-alto, así como grado de FIGO más alto [15,16,73].

Sin embargo, estas características clínicas y anatomopatológicas clásicas relacionadas con el dMMR no se ha demostrado en grandes series [73]. Por lo que quedan simplemente como una sospecha morfológica, para apoyarla, se recomienda realizar el cribado universal de dMMR, mediante inmunohistoquímica o pruebas moleculares de MSI, a todas las pacientes.

En la tabla 8 recogemos los aspectos clínicos y morfológicos relacionados con el déficit de MMR en el cáncer de endometrio.

Tabla 8. Aspectos clínicos y morfológicos relacionados con el déficit de MMR en el cáncer de endometrio.

		<b>dMMR (Fenotipo MSI)</b>	<b>MMR competente (Fenotipo MSS)</b>
<b>Aspectos clínicos</b>	Edad	Más jóvenes	Mayores (> 70 años)
	IMC	< 30 kg/m <sup>2</sup>	≥ 30 kg/m <sup>2</sup>
	Cáncer centinela	Asociación a 2º cáncer metacrónico	No asociado
<b>Aspectos morfológicos</b>	Localización macroscópica	Istmo	Indiferente
	Subtipo histológico	Endometrioide (¿?) Diferenciación mucinosa Heterogeneidad tumoral TILs Patrón MELF Invasión linfovascolar	Cualquier subtipo
	FIGO	Alto	Indiferente
	Estadio	Más alto	Indiferente

### 1.5 VALORACIÓN DEL SISTEMA MMR EN EL CÁNCER DE ENDOMETRIO

#### 1.5.1 Técnicas

Actualmente existen dos categorías principales de pruebas para detectar el estado de MMR en tejidos tumorales. Por un lado, el estudio inmunohistoquímico, que detecta la expresión proteica de MMR en las células tumorales. Y, por otro, la prueba de inestabilidad de microsatélites (MSI) que detecta si hay cambios en las secuencias de ADN conocidas como microsatélites.

Los dos métodos tienen una sensibilidad comparable y muestran una concordancia de aproximadamente el 96%, haciendo del estudio inmunohistoquímico un excelente marcador subrogado [70].

Es importante destacar que la prueba de MMR se refiere a la competencia o deficiencia de la proteína MMR mientras que MSI a la inestabilidad de microsatélites en las células del cáncer. Por lo tanto, la MSI es una condición de hipermutabilidad genética que resulta de un sistema de reparación del ADN defectuosa (dMMR), y los dos términos a menudo se usan indistintamente [90].

##### 1.5.1.1 Inmunohistoquímica

El estudio inmunohistoquímico para MMR ha estado en uso durante más de tres décadas [91]. En la mayoría de los casos se trata de una prueba sencilla

de valorar. Por lo general, se prefiere el análisis inmunohistoquímico a las pruebas MSI, por las siguientes ventajas [70]:

- Más barato
- Tiempo de respuesta más bajo
- Fácilmente disponible en la rutina
- Cantidad limitada de tejido
- Visualización directa y correlación con la morfología
- Identificación rápida de la proteína defectuosa permitiendo la inferencia del gen afecto

El estudio inmunohistoquímico de MMR está también sujeto a una serie de limitaciones, tanto las inherentes a la técnica como, más específicamente, al estudio de las proteínas MMR. Estas limitaciones se valorarán en el apartado 1.5.2. (Problemas y *pitfalls* en la interpretación de dMMR por inmunohistoquímica).

La expresión inmunohistoquímica para los marcadores MMR en los tejidos no tumorales se identifica como una tinción nuclear con intensidad uniforme o variable dependiendo de la actividad proliferativa. En las células tumorales, generalmente caracterizadas por tasas de proliferación más altas que el tejido normal, la intensidad de la tinción suele ser más intensa que la observada en el estroma peritumoral, las glándulas normales o las células inflamatorias (que se

## Introducción

---

identifican como control interno del marcador). La expresión nuclear de las cuatro proteínas MMR por estudio inmunohistoquímico sugiere estabilidad de microsatélites (Fenotipo MSS) mientras que la pérdida de tinción nuclear para cualquiera de los marcadores proteicos con control interno positivo es compatible con inestabilidad de microsatélites (Fenotipo MSI) [70,91].

Debido a la disposición de las proteínas en heterodímeros, siendo MLH1 y PMS2 socios obligatorios, hay 4 patrones anormales típicos del déficit de MMR:

- Pérdida de MSH2 y MSH6; esto ocurre en la deficiencia de MSH2 (mutación)
- Pérdida de MLH1 y PMS2; esto ocurre en la deficiencia de MLH1 (mutación/metilación)
- Pérdida aislada de MSH6; esto ocurre en la deficiencia somática de MSH6
- Pérdida aislada de PMS2; esto ocurre en la deficiencia somática de PMS2

En consecuencia, y para comprender el método seguido a la hora de realizar nuestro trabajo, es importante conocer que la negatividad para el anticuerpo MSH6 detecta todos los casos que albergan anomalías MSH2 o MSH6 y la negatividad inmunohistoquímica para el anticuerpo PMS2 detecta todos los casos que albergan anomalías en MLH1 o PMS2. El estudio inmunohistoquímico

de MLH1 o MSH2 por sí solo no reconoce casos con anomalías de PMS2 o MSH6 [71].

### 1.5.1.2 Pruebas moleculares

El MSI se define como “un cambio de cualquier longitud debido a la inserción o deleción de unidades repetitivas en un microsatélite dentro de un tumor en comparación con el tejido normal” [70]. Se caracteriza un estado hipermutable de las células. Esta hipermutabilidad hace que los tumores con este fenotipo contengan neoantígenos que conducen al desarrollo de un microambiente inmunitario hiperintenso [93].

El método clásico de detección de MSI es una prueba PCR-MSI que utiliza un panel de marcadores avalado por el NCI que consiste en dos mononucleótidos [A/T] (BAT-26 y BAT-25) y tres dinucleótidos [GT/CA] (D5S346, D2S123 y D17S250). Se trata de la prueba molecular recomendada dada su mayor sensibilidad y especificidad [16].

Para MSI, se pueden obtener cuatro resultados diferentes: MSI-H (alta inestabilidad de microsatélites), MSI-L (baja inestabilidad de microsatélites), MSI-I (inestabilidad indeterminada de microsatélites) y MSS (microsatélites estables). Históricamente, la pérdida de estabilidad en uno de los cinco marcadores de microsatélites se definió como MSI-bajo y la pérdida de estabilidad en  $\geq 2$  como

## Introducción

---

MSI-alto. Actualmente, los tumores MSI-L deberían incluirse dentro de los tumores MSS [70].

Los últimos años han surgido varias plataformas para la realización de pruebas moleculares para MSI modificadas y mejoradas (múltiplex en lugar de simplex, cebadores fluorescentes en lugar de cebadores radiomarcados), así como estrategias más efectivas para su lectura (electroforesis capilar u otros métodos como la desnaturalización de cromatografía líquida de alta resolución análisis gráfico y de fusión de alta resolución en lugar de gel de electroforesis) [70].

Los análisis de secuenciación de nueva generación (NGS) puede representar una prueba molecular alternativa y novedosa para evaluar MSI, especialmente en tumores no asociados a síndrome de Lynch, con la principal ventaja de poder determinar la carga mutacional tumoral, junto con otras posibles alteraciones diana.

En el proyecto de Wang et al [70] se comprobó la correlación entre los estudios inmunohistoquímicos y los moleculares para MSI. Realizaron PCR, Idylla™ y NGS. Sus conclusiones fueron que las pruebas moleculares muestran un rendimiento de diagnóstico similar para la detección de dMMR en cáncer colorrectal y de endometrio pero que el análisis molecular MSI tiene menor sensibilidad para la detección de dMMR en el cáncer de endometrio, por lo que

se recomienda el uso combinado de inmunohistoquímica y los métodos moleculares [70].

En los casos de déficit de MLH1-PMS2 se deben realizar posteriores pruebas de hipermetilación de MLH1 para poder identificar un tumor como esporádico y, en ausencia de una mutación de la línea germinal (SL), se deben realizar estudios de mutaciones somáticas para evaluar el riesgo de cánceres posteriores [16].

### **1.5.2 Problemas y *pitfalls* en la interpretación de dMMR por inmunohistoquímica**

Para una correcta interpretación del estudio inmunohistoquímico en el sistema MMR es fundamental la presencia de un control interno positivo (positividad inmunohistoquímica en el estroma de fondo o peritumoral, en las glándulas normales o en las células inflamatorias).

Los errores en el diagnóstico inmunohistoquímico más comunes son [39]:

- Presencia de áreas previamente mal fijadas en formol. Los marcadores inmunohistoquímicos para las proteínas MMR son muy sensibles a la fijación. Las áreas mal fijadas típicamente muestran tinción negativa con control interno también negativo. Es necesario informar solo aquellas áreas con control interno positivo para evitar interpretaciones erróneas. Por este motivo, el estudio debe realizarse en las muestras mejor conservadas.

## Introducción

---

- Expresión muy débil o focal en presencia de dMMR. La expresión de proteínas MMR debe ser intensa y difusa en comparación con el control interno, por lo que cualquier desviación de este, incluida la expresión muy débil o focal en presencia de una positividad inequívoca en las células del estroma, debe anotarse e informarse como defectuosa o equívoca/indeterminada.
- Expresión subclonal, definida como una pérdida focal de expresión por parte de las células tumorales (al menos el 10% del área tumoral, para asignar el tumor al grupo dMMR); para distinguirlo de expresión variable como resultado de un artefacto de fijación, se debe ver tinción normal en el control interno en el área que muestra pérdida de expresión en células tumorales.
- Tinción citoplasmática, punteada o de membrana debe informarse como anormal. Posiblemente esté relacionado con fallos técnicos.
- Pérdida geográfica de MLH1 y PMS2 debido a hipermetilación heterogénea dentro del tumor.
- Pérdida de tres o todas las proteínas (pérdida total).
- Discordancia o heterogeneidad entre el estudio inmunohistoquímico para las proteínas MMR y el estudio molecular para MSI:
  - Casos con microsatélites estables (MSS) en estudios moleculares que presentaban expresión inmunohistoquímica



negativa para las proteínas MLH1 y PMS2, debido a hipermetilación del promotor MLH1 o variantes somáticas de MMR.

- Casos con microsatélites inestables (MSI) en estudios moleculares que presentaban expresión inmunohistoquímica positiva para las proteínas debido a variantes en POLE o determinada por proteínas MMR catalíticamente inactivas mutadas (mutación *missense*) que conservan su integridad antigénica.



# **PLANTEAMIENTO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



### 2.1 PLANTEAMIENTO

A pesar de la extensa literatura disponible en la actualidad sobre el cáncer de endometrio, existen pocos artículos en los que se determine la correlación entre el fenotipo MSI y las diferentes características clínicas y morfológicas, en proporción a los estudios realizados en este sentido para el cáncer colorrectal.

En cuanto a las características morfológicas, varios estudios han sugerido que cualquier subtipo histológico puede ser fenotipo MSI con una distribución similar a la encontrada en la población con fenotipo MSS [15,78,93]. En contraposición a esta corriente, existe otra que afirma que el fenotipo MSI es más característico del carcinoma endometriode que de otros subtipos [84-86].

Tal y como se expuso en la sección 1.4. (Aspectos clínicos y morfológicos relacionados con el déficit de MMR en el cáncer de endometrio), se han estudiado otras características morfológicas asociadas al fenotipo MSI, como son un estadio y grado de FIGO más alto [15,16,73] y la presencia de invasión linfovascular, así como una predilección por la localización en segmento uterino inferior [83].

Atendiendo a la sección 1.1.4. (Factores de riesgo), el factor de riesgo más conocido asociado con el cáncer de endometrio es la obesidad, por lo que es necesario verificar si esta característica clínica se asocia con el fenotipo MMR. En esta línea, se ha estudiado que las mujeres con mayor IMC diagnosticadas

## Planteamiento, hipótesis y objetivos

---

de cáncer de endometrio tienen una mayor asociación con el fenotipo MSS que con el fenotipo MSI [76-78]. Por otra parte, hay autores que afirman lo contrario, que las pacientes con IMC más alto muestran mayor asociación con cáncer de endometrio con fenotipo MSI [79-81,94]. En ambos casos se sugiere un riesgo diferenciado de cáncer de endometrio asociado al IMC y al fenotipo MMR.

En el caso de otras características clínicas asociadas a alteraciones en MMR, hay autores que han relacionado el fenotipo MSI con una menor edad al diagnóstico y al estado premenopáusico [81].

Conociendo las diferentes corrientes en cuanto a la asociación entre las características clínicas y morfológicas y el fenotipo de MMR que se proponen en la actualidad, nos planteamos realizar un análisis estadístico valorando el fenotipo MMR, mediante estudio inmunohistoquímico de las proteínas del sistema de reparación, para aclarar qué enfoque se aproxima más a nuestra casuística, así como desarrollar una herramienta estadística que nos pueda predecir la posibilidad de ser fenotipo MSI dadas las características clínicas y morfológicas.

## 2.2 HIPÓTESIS

Atendiendo a nuestro planteamiento del cáncer de endometrio nos proponemos las siguientes hipótesis:

Primera hipótesis: ¿Existe correlación entre las características clínicas del cáncer de endometrio y el fenotipo MSI?

1. Menor edad al diagnóstico relacionado con fenotipo MSI frente a mayor edad al diagnóstico relacionado con fenotipo MSS.
2. Estado premenopáusico relacionado con fenotipo MSI frente a estado postmenopáusico relacionado con fenotipo MSS.
3. IMC menor a 30 kg/m<sup>2</sup> relacionado con fenotipo MSI frente a IMC mayor o igual a 30 kg/m<sup>2</sup> relacionado con fenotipo MSS.

Segunda hipótesis: ¿Existe correlación entre las características morfológicas del cáncer de endometrio y el fenotipo MSI?

1. Subtipo histológico endometriode relacionado con fenotipo MSI frente a subtipo no endometriode relacionado con fenotipo MSS.
2. FIGO grado 3 relacionado con fenotipo MSI frente a FIGO grado 1-2 relacionado con fenotipo MSS.
3. Estadio alto relacionado con fenotipo MSI frente a estadio bajo relacionado con fenotipo MSS.

## Planteamiento, hipótesis y objetivos

---

4. Localización macroscópica en segmento uterino inferior relacionado con fenotipo MSI frente a localización en cavidad uterina relacionado con fenotipo MSS.
5. Invasión linfovascular relacionado con fenotipo MSI frente a no invasión linfovascular relacionado con fenotipo MSS.

Tercera hipótesis: ¿Existe correlación entre características clínicas, morfológicas y fenotipo MSI?



## 2.3 OBJETIVOS DE LA TESIS DOCTORAL

Para cumplir las hipótesis planteadas nos proponemos los siguientes objetivos:

1. Desarrollar un esquema óptimo para la identificación de pacientes con alteraciones en las proteínas del sistema MMR en cáncer de endometrio.
2. Valorar el uso de un panel inmunohistoquímico de proteínas MMR en dos tiempos, primero PMS2 y MSH6 y, en caso de negatividad en alguno de ellos, realizar MLH1 y MSH2 respectivamente.
3. Identificar el fenotipo MSI en pacientes diagnosticadas de cáncer de endometrio mediante técnicas inmunohistoquímicas.
4. Correlacionar variables clínicas con la existencia de fenotipo MMR por inmunohistoquímica en cáncer de endometrio.
5. Correlacionar variables morfológicas con la existencia de fenotipo MMR por inmunohistoquímica en cáncer de endometrio.
6. Proponer un algoritmo estadístico que prediga la probabilidad de tener fenotipo MSI relacionando factores clínicos y morfológicos.



# **MATERIAL Y MÉTODOS**



### 3.1 TIPO DE ESTUDIO

Realizamos un estudio prospectivo observacional de casos con todas las pacientes diagnosticadas de cáncer de endometrio tras histerectomía total en el Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Canarias (Tenerife) desde enero de 2017 hasta mayo de 2020 (40 meses)

#### 3.1.1 Aspectos demográficos

El Complejo Hospitalario Universitario de Canarias es el centro de referencia del área norte y la Isla Baja de Tenerife. El censo poblacional a 1 de enero de 2020 fue de 411.766 personas (Tabla 9).

Tabla 9. Revisión del Padrón Municipal de Habitantes a 1 de enero de 2020 (Unidad: Persona). Fuente: INE (Instituto Nacional de Estadística) [95].

ÁREA NORTE		ISLA BAJA	
La Laguna	157.503	Buenvista del Norte	4.778
La Matanza de Acentejo	9.061	Garachico	4.871
La Orotava	42.029	La Guancha	5.520
Puerto de la Cruz	30.468	Icod de los Vinos	23.254
Los Realejos	36.402	San Juan de la Rambla	4.828
El Rosario	17.370	Los Silos	4.693
Santa Úrsula	14.679	El Tanque	2.763
El Sauzal	8.934		
Tacoronte	24.134		
Tegueste	11.294		
La Victoria de Acentejo	9.185		

El censo poblacional de mujeres en este área geográfica fue de 187.998 mujeres a 1 de enero de 2020 [95].

### 3.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN

Incluimos en este estudio a todas las pacientes mayores de 18 años sometidas a una histerectomía total con el diagnóstico histopatológico de cáncer de endometrio entre enero de 2017 y mayo de 2020 en nuestro hospital. Los criterios de inclusión para permanecer en este estudio fueron el diagnóstico previo de cáncer de endometrio por biopsia realizado en nuestro centro y la presencia de los datos de índice de masa corporal, estatus pre o postmenopáusico y los antecedentes oncológicos previos en la historia clínica. La localización tumoral (en cavidad uterina o segmento uterino inferior) en el informe macroscópico también fue considerada un criterio de inclusión. Aquellos casos que no presentaron estos criterios fueron excluidos.

De acuerdo con el comité ético del centro (apartado 3.7. (Aspectos éticos)), no fue necesario el consentimiento informado de las pacientes para incluirlas en el estudio.

### 3.3 DATOS CLÍNICOS

Los datos clínicos fueron extraídos de la historia clínica electrónica del centro.

Las variables a estudio fueron:

- Edad al diagnóstico (dividiendo a estas pacientes en mayores y menores de 70 años, de acuerdo con [96,97]).
- Estado pre o postmenopáusico.
- Índice de masa corporal (IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )).
- Existencia de patología tumoral previa.
- Muerte durante el estudio como consecuencia del cáncer de endometrio.

El IMC fue recogido siguiendo el estatus nutricional: bajo peso (si el IMC era menor de  $18.5 \text{ kg}/\text{m}^2$ ), normopeso ( $18.5\text{-}24.9 \text{ kg}/\text{m}^2$ ), sobrepeso ( $25\text{-}29.9 \text{ kg}/\text{m}^2$ ), obesidad tipo I ( $30\text{-}34.9 \text{ kg}/\text{m}^2$ ), obesidad tipo II ( $35\text{-}39.9 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) y obesidad tipo III (mayor de  $40 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) (98). Por razones estadísticas, las pacientes fueron divididas en no obesas (IMC menor de  $30 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) y obesas (IMC mayor o igual a  $30 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) [99].

### 3.4 ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Todas las piezas de histerectomía fueron fijadas en formaldehído tamponado al 10% durante mínimo 24 horas y máximo 72 horas y posteriormente incluidas en parafina. Se realizaron cortes de 3  $\mu\text{m}$  que se tiñeron con hematoxilina-eosina convencional. El diagnóstico fue confirmado por tres patólogos subespecializados en patología ginecológica de forma independiente y cualquier discrepancia entre ellos se resolvió por consenso.

Las variables anatomopatológicas analizadas en el estudio fueron:

- Localización macroscópica del tumor. Dividiendo aquellos casos en los que el tumor se localizaba en la cavidad uterina de aquellos presentes en el segmento uterino inferior [83].
- Tipo histológico. El diagnóstico histopatológico se realizó siguiendo la clasificación histológica de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2020 [3]) (Tabla 10). Los casos estudiados antes de la publicación de esta edición siguieron los criterios de la clasificación de los tumores de endometrio de la 4<sup>a</sup> edición de la clasificación de la OMS.



Tabla 10. Variantes histológicas según la clasificación de la OMS 2020 [3].

Carcinoma endometriode
Carcinoma seroso
Carcinoma de células claras
Carcinoma indiferenciado y desdiferenciado
Carcinoma mixto
Otros carcinomas endometriales
Carcinosarcoma

- Grado histológico. En los carcinomas endometrioides se estableció el grado de la FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) [35,52].
- Presencia o ausencia de invasión linfovascular.
- Estadificación patológica. Siguiendo las indicaciones de TNM de la AJCC (8ª Edición) [53].

pT1: Tumor confinado al cuerpo uterino, incluyendo la afectación del endocérnix glandular.

pT1a: Limitado al endometrio o invadiendo menos de la mitad del miometrio.

pT1b: Invade la mitad o más del endometrio.

pT2: Tumor que invade el tejido conectivo estromal del cérvix pero que no se extiende más allá del útero. Esto no incluye la afectación del endocérnix glandular.

## Material y métodos

---

pT3: Tumor que afecta a serosa, anejos, vagina o parametrio.

pT3a: Afecta serosa y/o anejos (extensión directa o metástasis).

pT3b: Afectación vaginal (extensión directa o metástasis) o parametrial.

pT4: Tumor que invade mucosa vesical y/o mucosa de colon.

- Presencia de patología no tumoral asociada. Se estudió la presencia o ausencia de atrofia, hiperplasia endometrial (no atípica, atípica), pólipos endometriales, endometriosis o adenomiosis y leiomiomas.

### 3.5 ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO

Se realizó el estudio inmunohistoquímico de las proteínas reparadoras del ADN. Las tinciones inmunohistoquímicas se realizaron sobre secciones de 3 µm de grosor en portaobjetos silanizados de manera automatizada. Se utilizó el kit de detección OptiView DAB para MSH2, MSH6 y MLH1 y el kit de detección OptiView DAB con amplificación UltraView para PMS2.

Se utilizaron los cuatro anticuerpos (prediluidos e incubados 60 minutos cada uno) del panel inmunohistoquímico de MMR de ROCHE VENTANA:

- MSH2: Anticuerpo primario monoclonal de ratón, clona G219-1129 (1 µg/mL).
- MSH6: Anticuerpo primario monoclonal de conejo, clona SP93 (1 µg/mL).
- MLH1: Anticuerpo primario monoclonal de ratón, clona M1 (1 µg/mL).
- PMS2: Anticuerpo primario monoclonal de ratón, clona A16-4 (1 µg/mL).

Se evaluó la presencia o ausencia de tinción nuclear de diaminobencidina (DAB).

El tejido normal correspondiente (células epiteliales no tumorales, así como linfocitos y células del estroma endometrial) proporcionó un control interno positivo.

Teniendo en cuenta el panel inmunohistoquímico para proteínas MMR dispuesto por Hall et al. [71], primero evaluamos la expresión de MSH6 y PMS2 y, en caso de pérdida de expresión nuclear, se estudiaron MSH2 y MLH1

## Material y métodos

respectivamente, para diferenciar la pérdida aislada de la concomitante (Figuras 21 y 22 respectivamente).

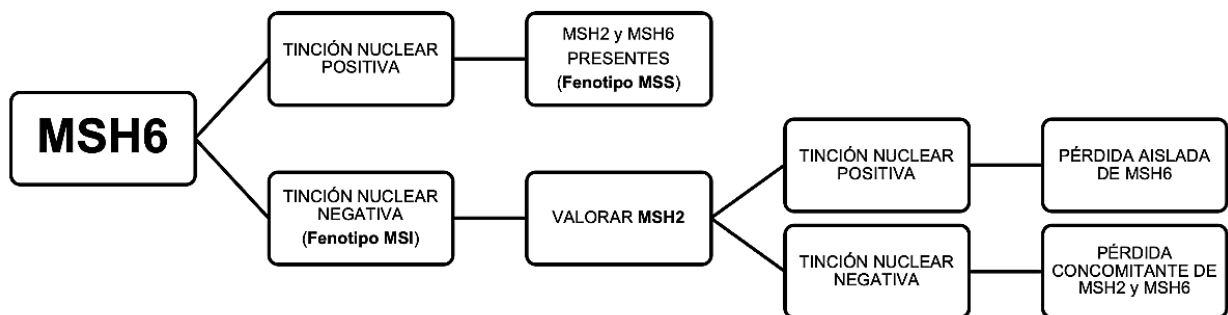


Figura 21. Algoritmo diagnóstico utilizado en la valoración del estudio inmunohistoquímico del heterodímero MSH2-MSH6.

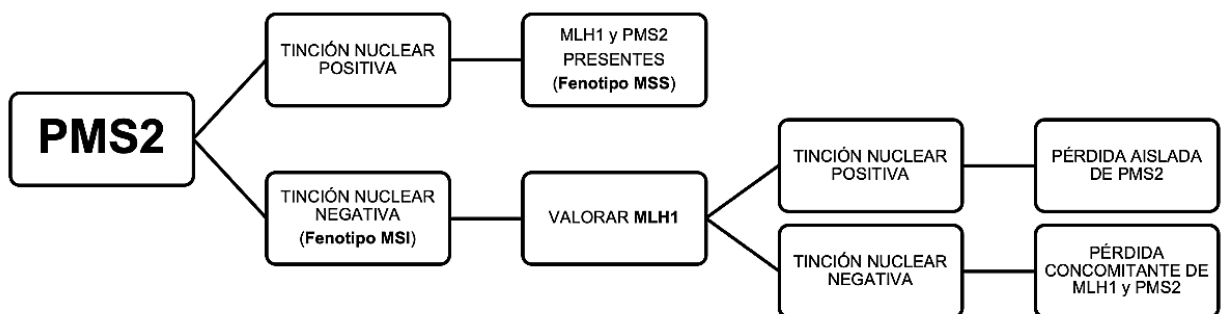


Figura 22. Algoritmo diagnóstico utilizado en la valoración del estudio inmunohistoquímico del heterodímero MLH1-PMS2.

Las variables inmunohistoquímicas evaluadas fueron la expresión de proteína nuclear intacta (fenotipo MSS) y la pérdida de expresión nuclear de cualquier proteína (fenotipo MSI) [100,101].

- Fenotipo MSS: Expresión proteica intacta. Las células tumorales expresan tinción nuclear inequívoca de cualquier intensidad.
- Fenotipo MSI: Pérdida de expresión proteica. Las células tumorales expresan ausencia de tinción o tinción grisácea de los núcleos.

### 3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se describieron mostrando media  $\pm$  desviación típica para las variables continuas y frecuencia (porcentaje) para las variables categóricas.

Para la comparación de variables continuas en dos grupos se utilizó el *t* Student y las tablas de contingencia (test de chi-cuadrado y test exacto de Fisher para tablas de 2x2) para la comparación de variables categóricas. Se utilizó un modelo de regresión logística para la predicción de MSI (siendo  $p(MSI)$  = probabilidad de ser MSI) con el método de Wald hacia atrás para la selección de variables. Inicialmente se introdujeron las variables edad, estado pre o postmenopáusico, estatus IMC (kg/m<sup>2</sup>) (pacientes con obesidad frente a pacientes no obesas), estadificación patológica (pT1, pT2, pT3 y pT4), localización macroscópica tumoral y tipo y grado histológico (no endometriode, endometriode FIGO grado 1, endometriode FIGO grado 2 y endometriode FIGO grado 3). Se ha calculado el área bajo la curva ROC (AUROC). Se obtiene el mejor punto de corte siguiendo el criterio del índice de Youden (equilibrio de sensibilidad y especificidad) mostrando la sensibilidad y especificidad, incluyendo el intervalo de confianza al 95%.

Con las variables seleccionadas se construyó el predictor lineal  $\eta$ , obteniendo la probabilidad estimada de ser MSI a partir de la fórmula:

$$p(\widehat{MSI}) = e^{\eta} / (1 + e^{\eta})$$

donde *e* representa el exponencial.

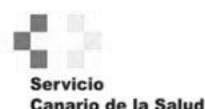
## Material y métodos

---

El análisis estadístico fue realizado con el programa IBM Statistics SPSS V25.0 y MedCalc v.20.218, considerándose significativo cuando  $p$  valor  $< 0.05$ .

### 3.7 ASPECTOS ÉTICOS

El Proyecto fue aprobado por el comité ético de investigación del Complejo Hospitalario Universitario de Canarias. El tratamiento de los datos de carácter personal requeridos en este estudio se rige por la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/1999.



El estudio de investigación titulado: **“Estudio de factores morfoinmunohistoquímicos en la implementación del diagnóstico de cáncer de endometrio con inestabilidad de microsátélites”**, versión **2.0**, de **27 de noviembre de 2018**, con código **CHUC\_2018\_75 (SLCE/2018)**, del que es Investigador Principal la Dra. **ISABEL GONZÁLEZ VILLA** y Co-Investigador Principal la Dra. **IDAIRA JAEL EXPÓSITO AFONSO**, ha sido evaluado por el Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Complejo Hospitalario Universitario de Canarias (Provincia de Santa Cruz de Tenerife) en su sesión del **18/12/2018**, y considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del Protocolo con los objetivos del estudio.

Se garantiza la confidencialidad de los datos de carácter personal, y dadas las características del estudio y de forma excepcional no se solicitará el Consentimiento Informado.

La capacidad del Investigador y los medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio y no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Por todo ello, el Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Complejo Hospitalario Universitario de Canarias (Provincia de Santa Cruz de Tenerife) emite dictamen **FAVORABLE** para la realización de este estudio en el Hospital Universitario de Canarias.

Secretaria Técnica del CEIm  
Complejo Hospitalario Universitario de Canarias

Este documento ha sido firmado electrónicamente por:	
CONSUELO MARIA RODRIGUEZ JIMENEZ - F.E.A. FARMACOLOGIA CLINICA	Fecha: 20/12/2018 - 15:48:21
En la dirección <a href="https://sede.gobcan.es/sede/verifica_doc">https://sede.gobcan.es/sede/verifica_doc</a> puede ser comprobada la autenticidad de esta copia, mediante el número de documento electrónico siguiente: 0kFPQAYLQQItRDrSY91t7QJG7P70QTuW	
El presente documento ha sido descargado el 21/12/2018 - 09:49:53	







# **RESULTADOS**



## 4.1 DATOS CLÍNICOS

El total de casos a estudio fue de 147 pacientes con una media de edad de 64,3 (11,7) años, variando entre los 39 y los 91 años, con un 36,1% de las pacientes superando los 70 años (Tabla 11).

El 82,3% (121/ 147) de las pacientes eran postmenopáusicas y un 6,1% (9/ 147) tenían patología tumoral previa (6 pacientes diagnosticadas de cáncer de mama, 1 con cáncer renal, 1 con cáncer de tiroides y 1 con cáncer de vejiga). Durante el tiempo del estudio, fallecieron 10 pacientes a consecuencia de la patología endometrial.

Tabla 11. Distribución de las variables de acuerdo con el fenotipo MMR.

	Total (N = 147)	MSI (N = 33)	MSS (N = 114)	p-valor
Edad al diagnóstico (años)	64.3 ± 11.7	64.9 ± 11.5	64.1 ± 11.8	0.724
Edad al diagnóstico				0.838
< 70	94 (63.9)	22 (66.7)	72 (63.2)	
≥ 70	53 (36.1)	11 (33.3)	42 (36.8)	
Estado postmenopáusico	121 (82.3)	27 (81.8)	94 (82.5)	0.933
Obesidad	80 (54.5)	12 (36.4)	68 (59.6)	0.018
Patología tumoral previa	9 (6.1)	4 (12.1)	5 (4.4)	0.115
Exitus	10 (6.8)	1 (3.0)	9 (7.9)	0.458

Según el estatus del IMC (kg/m<sup>2</sup>), 37 pacientes presentaban normopeso, 30 sobrepeso, 32 obesidad I, 23 obesidad II, 22 obesidad III y 3 obesidad IV (Tabla 12). Siendo 67 pacientes no obesas y 80 pacientes obesas (54,5%) (Tablas 12 y 13).

## Resultados

Tabla 12. Distribución del IMC según fenotipo MMR.

	MSI (N = 33)	MSS (N = 114)	p-valor	Total (N = 147)
Clasificación IMC			0,100	
Normopeso	9 (27,3)	28 (24,6)		37 (25,2)
Sobrepeso	12 (36,4)	18 (15,8)		30 (20,4)
Obesidad I	6 (18,2)	26 (22,8)		32 (21,8)
Obesidad II	2 (6,1)	21 (18,4)		23 (15,6)
Obesidad III	4 (12,1)	18 (15,8)		22 (15,0)
Obesidad IV	-	3 (2,6)		3 (2,0)

Tabla 13. Características demográficas de las muestras analizadas en función de la obesidad.

	Obesidad (N = 80)	No obesidad (N = 67)	p-valor	Total (N = 147)
Edad (años)	63,6 ± 12,3	65,1 ± 11,0	0,457	64,3 ± 11,7
Edad			0,957	
< 70	51 (63,7)	43 (64,2)		94 (63,9)
≥ 70	29 (36,3)	24 (35,8)		53 (36,1)
Estado postmenopáusico	64 (80,0)	57 (85,1)	0,517	121 (82,3)
Exitus	6 (7,5)	4 (6,0)	0,755	10 (6,8)
Patología previa	4 (5,0)	5 (7,5)	0,732	9 (6,1)

No se detectaron diferencias clínicas en las pacientes dependiendo de la obesidad. Tampoco se detectaron diferencias en la localización macroscópica del tumor ( $p = 0,993$ ), ni en el subtipo histológico ni en el grado de la FIGO de los endometrioides ( $p = 0,719$ ) así como tampoco en el estadio ( $p = 0,249$ ). Dentro del subgrupo de pacientes con obesidad, un 15% fueron fenotipo MSI frente al 31,3% de las no obesas ( $p = 0,018$ ). Aunque estadísticamente no significativo ( $p = 0,201$ ), un 22,5% de las pacientes obesas presentaron invasión linfovascular frente a un 13,4% de las no obesas. El 33,9% de las pacientes con obesidad no presentaron patologías asociadas frente al 14,9% de las no obesas, siendo en este último grupo las otras patologías (pólipos, leiomiomas) las que aparecen con más frecuencia, un 44,8%, frente al 32,4% de las pacientes obesas ( $p = 0,063$ ).

## 4.2 ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Según el tipo histológico, 124 casos (84,4%) fueron carcinoma de tipo endometrioide (Figura 23), de ellos 95 grado 1 (Figura 25), 18 grado 2 (Figura 26A) y 11 grado 3 (Figura 26B) de la FIGO. Las 23 pacientes con carcinoma no endometrioide (Figura 24) se dividieron en 13 carcinomas serosos (Figura 27, 30), 5 carcinosarcomas (Figura 29), 2 carcinomas mixtos (uno seroso, células claras y endometrioide; y el otro seroso y células claras) (Figura 32), un carcinoma mucinoso (Figura 28), un carcinoma adenoescamoso (Figura 29) y un carcinoma de células claras (Figura 31). El estadio pT1 fue el más frecuente con 126 (85,7%) pacientes (94 casos pT1a y 32 casos pT1b), 13 pT2, 5 pT3a, 2 pT3b y una pT4. La asociación con patología endometrial no tumoral fue variable, con presencia de hiperplasia en 32 casos (21.8%). La lesión tumoral macroscópica se localizaba en cavidad endometrial en 136 (92,5%) pacientes y un 18,4% presentaban invasión linfovascular (Figura 33) (Tablas 14 y 15).

## Resultados

---

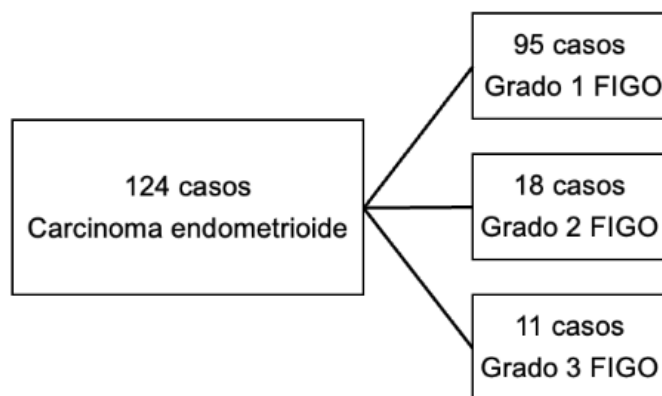


Figura 23. Gráfico de ramas. Relación de los tipos de carcinomas endometrioides.

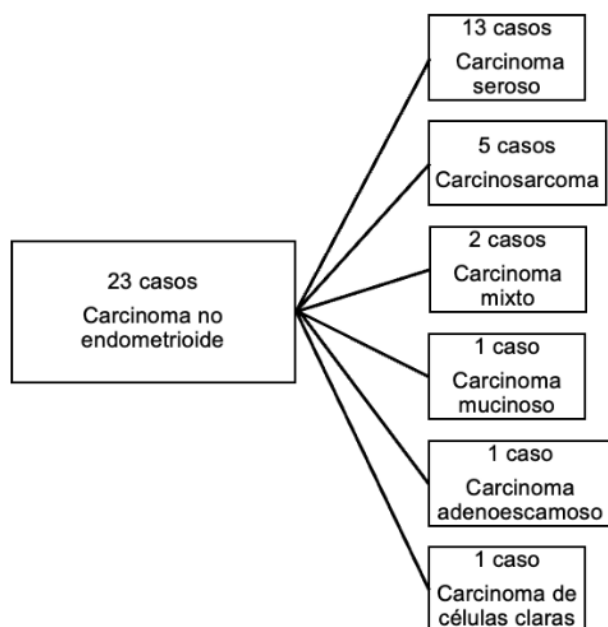


Figura 24. Gráfico de ramas. Relación de tipos de carcinomas no endometrioides.

Tabla 14. Distribución de las variables anatomopatológicas de acuerdo con el fenotipo MMR.

	Obesidad (N = 80)	No obesidad (N = 67)	p-valor	Total (N = 147)
Localización			0,993	
Cavidad uterina	74 (92,5)	62 (92,5)		136 (92,5)
Segmento uterino inferior	6 (7,5)	5 (7,5)		11 (7,5)
Invasión linfovascular	18 (22,5)	9 (13,4)	0,201	27 (18,4)
MMR			0,018	
Fenotipo MSI	12 (15,0)	21 (31,3)		33 (22,4)
Fenotipo MSS	68 (85,0)	46 (68,7)		114 (77,6)
Tipo y grado endometriode			0,719	
No endometriode	13 (16,3)	10 (14,9)		23 (15,6)
Endometriode	67 (83,8)	57 (85,1)		124 (84,4)
Grado 1	54 (67,5)	41 (61,2)		95 (64,6)
Grado 2	8 (10,0)	10 (14,9)		18 (12,3)
Grado 3	5 (6,3)	6 (9,0)		11 (7,5)
Estadio			0,249	
pT1	67 (83,8)	59 (88,1)		126 (85,7)
pT2	8 (10,0)	5 (7,5)		13 (8,8)
pT3	4 (5,0)	3 (4,5)		7 (4,8)
pT4	1 (1,3)	-		1 (0,7)
Estadio			0,304	
pT1a	48 (60,0)	46 (68,7)		94 (63,9)
Resto	32 (40,0)	21 (31,3)		53 (36,1)
Patologías asociadas			0,063	
Ausente	27 (33,8)	10 (14,9)		37 (25,1)
Atrofia	12 (15,0)	10 (14,9)		22 (15,0)
Hiperplasia	15 (18,8)	17 (25,4)		32 (21,8)
Otros (pólipos, leiomiomas, ...)	26 (32,4)	30 (44,8)		56 (38,1)

Tabla 15. Características patológicas de las muestras analizadas en función de la obesidad.

	Total (N = 147)	MSI (N = 33)	MSS (N = 114)	p-valor
Subtipo histológico				0.023
No Endometriode	23 (15.6)	3 (9.1)	20 (17.5)	
Endometriode	124 (84.3)	30 (90.9)	94 (82.5)	
Grado 1	95 (64.6)	18 (54.5)	77 (67.6)	
Grado 2	18 (12.2)	6 (18.2)	12 (10.5)	
Grado 3	11 (7.4)	6 (18.2)	5 (4.4)	
Estadio				0.249
pT1	126 (85.7)	29 (87.9)	97 (85.1)	
pT2	13 (8.8)	2 (6.1)	11 (9.6)	
pT3	7 (4.7)	1 (3.0)	6 (5.3)	
pT4	1 (0.6)	1 (3.0)	-	
Estadio				0.538
pT1a	94 (63.9)	23 (69.7)	71 (62.3)	
Resto	53 (36.0)	10 (30.3)	43 (37.7)	
Localización macroscópica				0.711
Cavidad uterina	136 (92.5)	30 (90.9)	106 (93.0)	
Segmento uterino inferior	11 (7.4)	3 (9.1)	8 (7.0)	
Invasión linfovascular	27 (18.4)	8 (24.2)	19 (16.7)	0.318
Asociación con patología no tumoral				0.345
Ausente	37 (25.1)	6 (18.2)	31 (27.2)	
Atrofia	22 (14.9)	4 (12.1)	18 (15.8)	
Hiperplasia	32 (21.8)	6 (18.2)	26 (22.8)	
Otras (pólipos, leiomiomas, ...)	56 (38.0)	17 (51.5)	39 (34.2)	

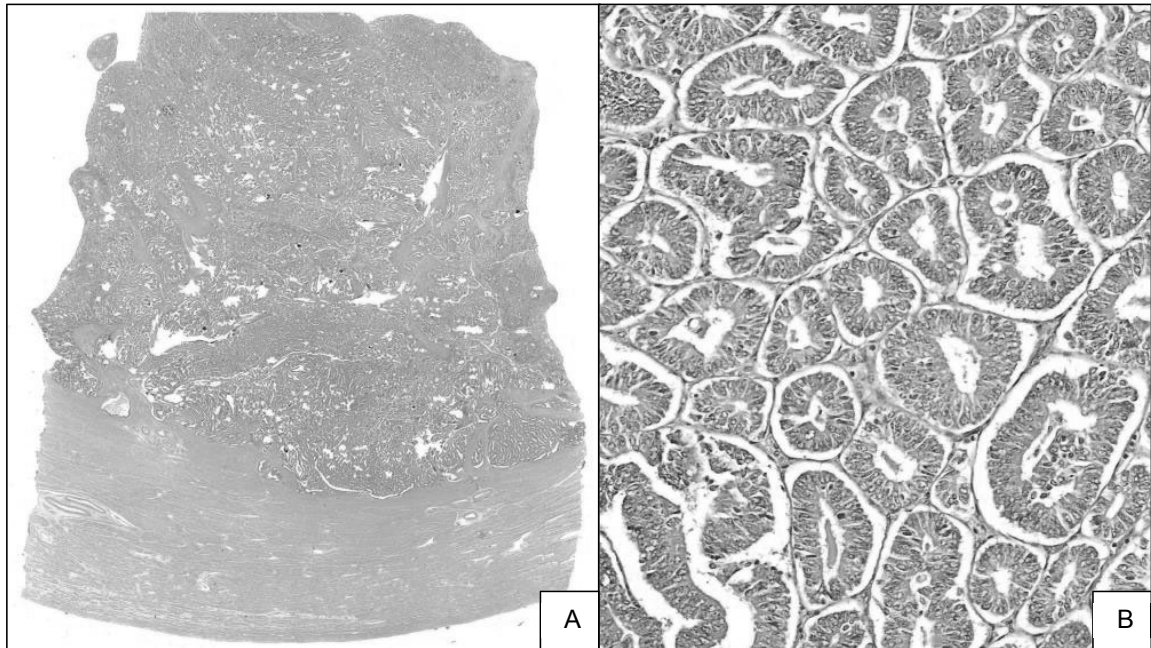


Figura 25. Carcinoma endometrioide de endometrio FIGO 1. A: Corte de pared miometrial con invasión tumoral que afecta a más del 50% de su espesor (pT1b). Hematoxilina eosina 2x. B: Adenocarcinoma con glándulas bien diferenciadas tapizadas por epitelio pseudoestratificado. Se conservan los bordes lumbales típicos del endometrio proliferativo. Células altas de núcleos alargados. Hematoxilina eosina 20x.



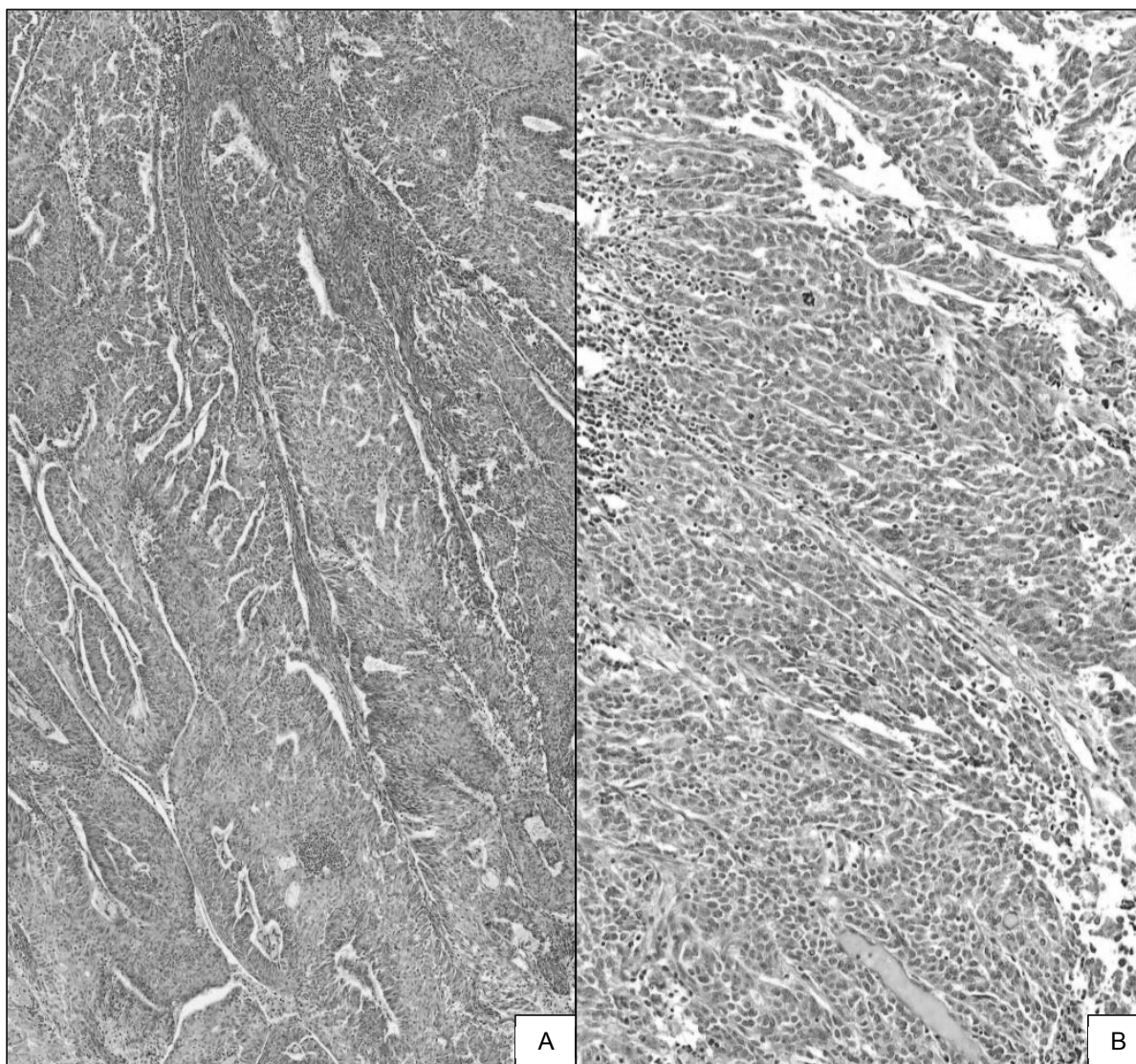


Figura 26. Carcinoma endometriode de endometrio. A: FIGO 2. Lesión endometrial con formación de glándulas de arquitectura compleja con fenómenos de *back to back* y presencia de áreas sólidas en más del 10% del tumor. Hematoxilina eosina 10x. B: FIGO 3. Neoplasia con patrón sólido (componente sólido en más de un 50% del tumor) con núcleos pleomórficos y evidentes figuras de mitosis. Hematoxilina eosina 20x.

## Resultados

---

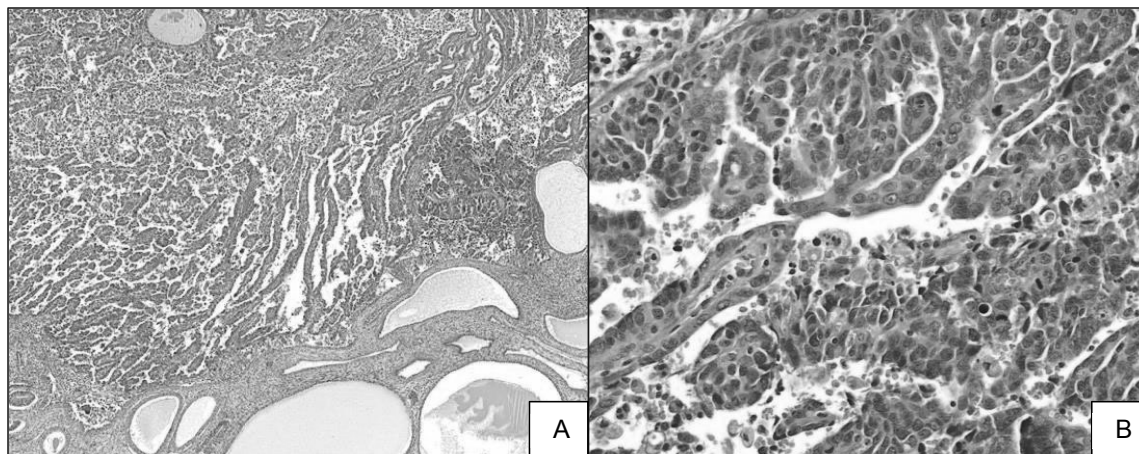


Figura 27. Carcinoma seroso de endometrio. A: Endometrio atrófico afectado por una neoplasia epitelial maligna de alto grado. Hematoxilina eosina 4x. B: Neoplasia epitelial con patrón de crecimiento papilar con bordes luminales festoneados. Atipia citológica marcada con frecuentes figuras de mitosis. Hematoxilina eosina 40x.

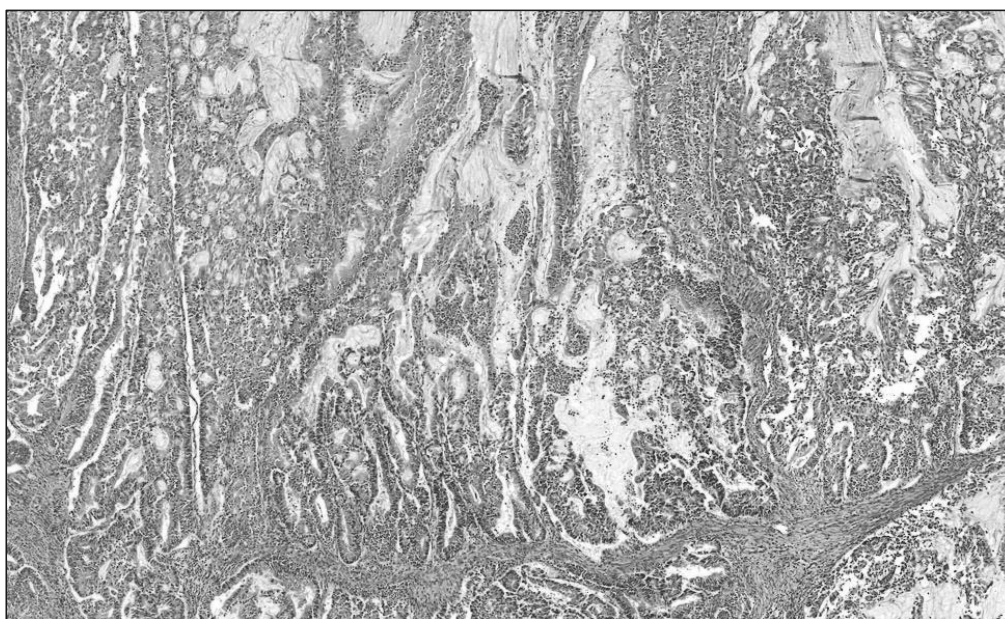


Figura 28. Carcinoma mucinoso de endometrio (diagnóstico previo a la publicación de la 5ª edición de la clasificación de la OMS). Adenocarcinoma de arquitectura compleja tapizado por epitelio pseudoestratificado en el que se identifica moco intra y extracitoplasmático. Hematoxilina eosina 5x.

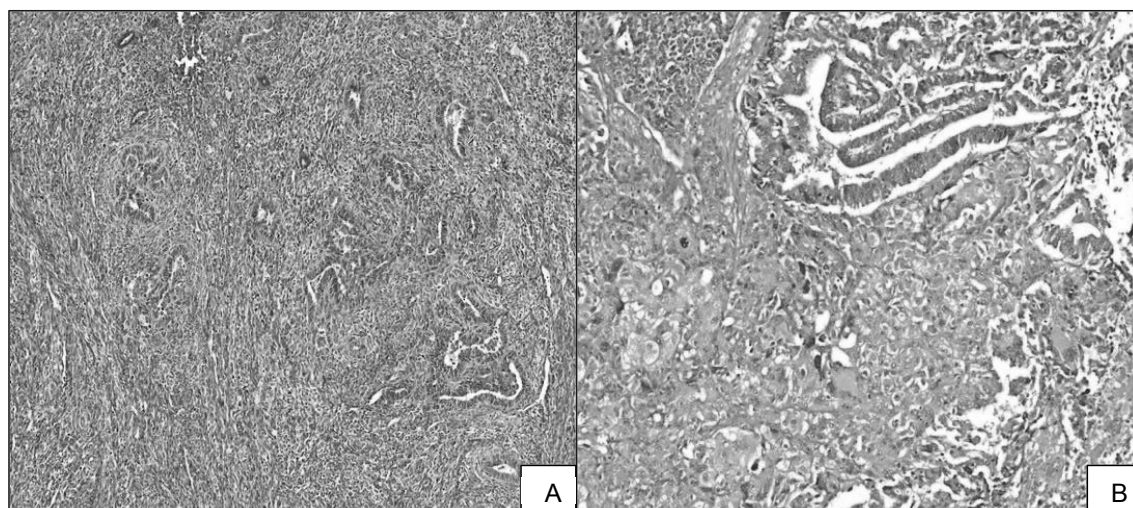


Figura 29. Carcinosarcoma. A: Lesión endometrial mixta de alto grado constituida por glándulas atípicas rodeadas de componente celular de aspecto sarcomatoide con diagnóstico patológico de carcinosarcoma. Hematoxilina eosina 5x. B: A mayor aumento se muestra franca atipia citológica del componente sarcomatoide sobre fondo mixoide y numerosas figuras de mitosis. Hematoxilina eosina 20x.

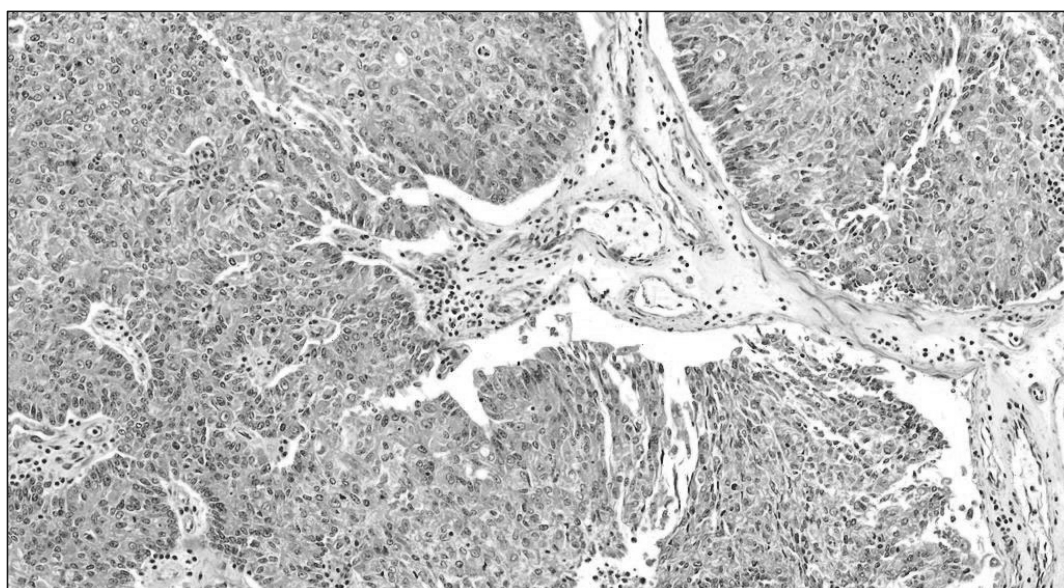


Figura 30. Carcinoma adenoescamoso (diagnóstico previo a la publicación de la 5ª edición de la clasificación de la OMS). Carcinoma endometrial sólido con diferenciación escamosa y componente glandular pobremente diferenciado. Hematoxilina eosina 20x.

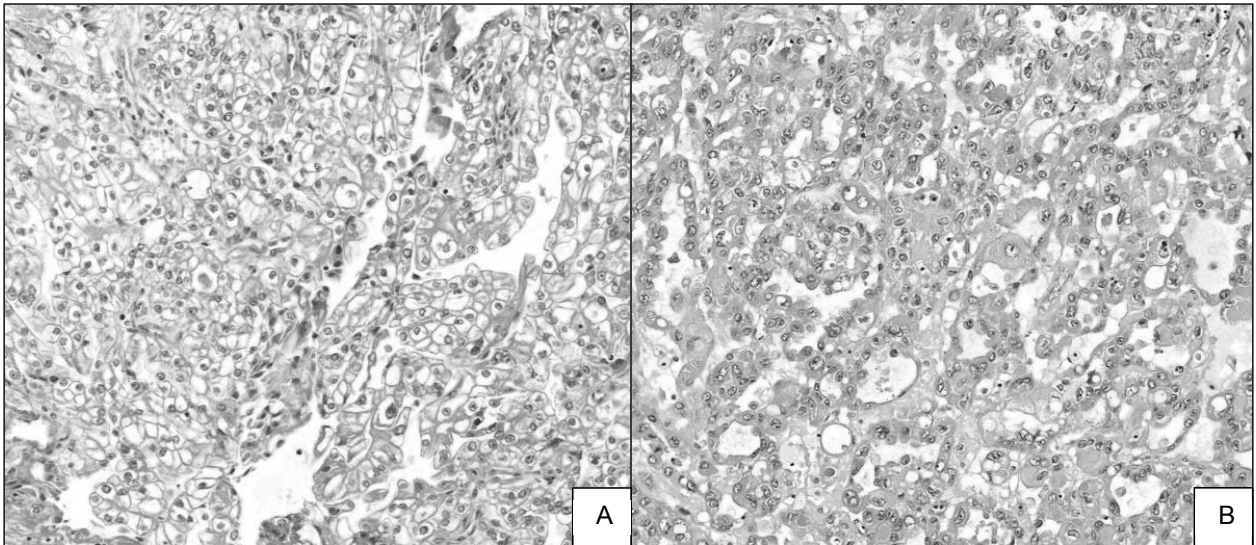


Figura 31. Carcinoma de células claras. A y B: Lesión epitelial maligna de alto grado constituida por células de citoplasma claro y núcleos pleomórficos con nucléolo prominente y actividad mitótica incrementada. Hematoxilina eosina 40x.

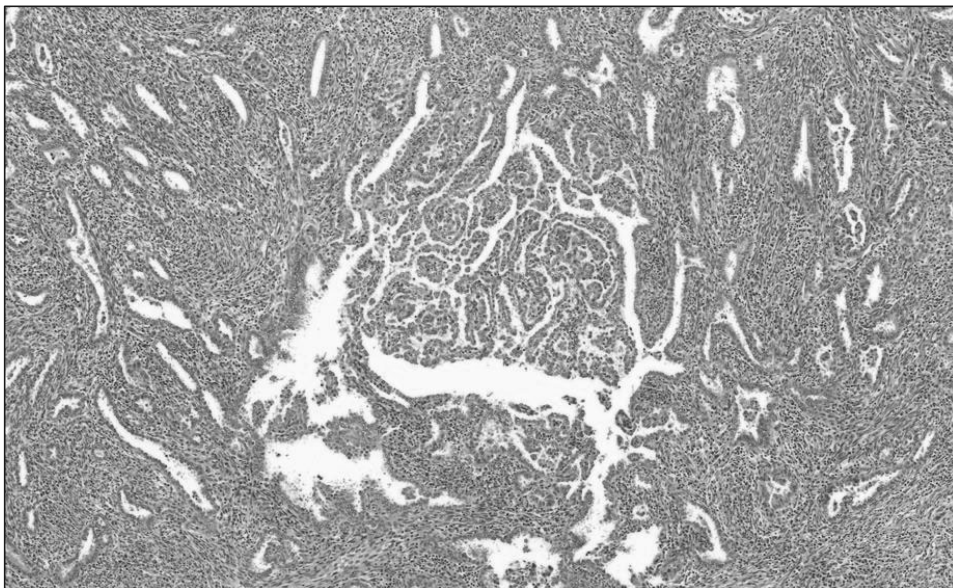


Figura 32. Carcinoma mixto de endometrio. Carcinoma endometrial constituido por componente de carcinoma seroso y carcinoma endometriode de bajo grado. Hematoxilina eosina 10x.

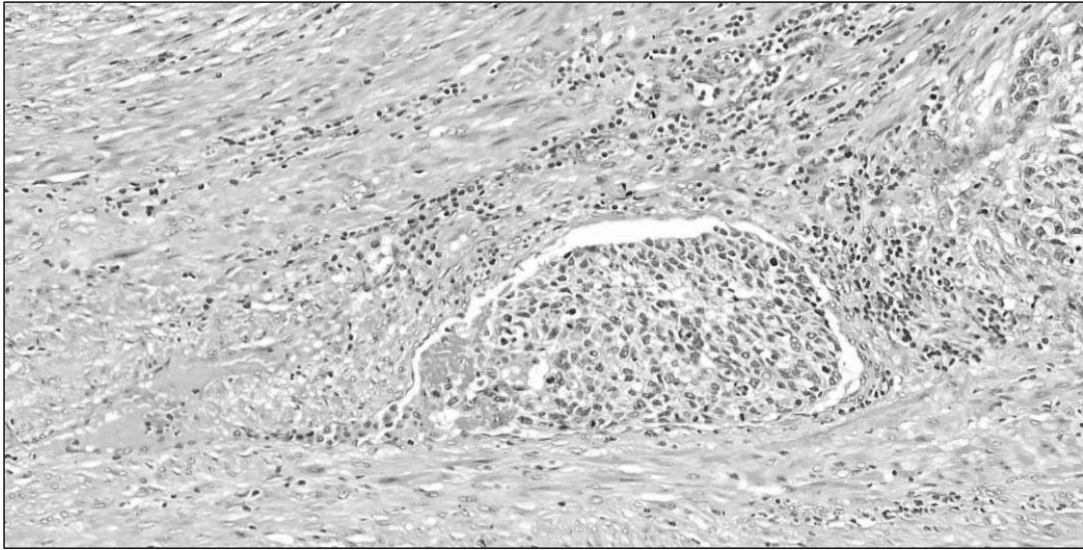


Figura 33. Invasión linfovascular. Pared miometrial en la que se identifica vaso linfático con émbolo tumoral constituido por células con moderada atipia y figuras de mitosis acompañado por fibrina y elementos inflamatorios. Hematoxilina eosina 20x.

### 4.3 ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO

Un total de 114 tumores presentaron expresión nuclear proteica intacta, MSS (Figura 34) y 33 pérdida proteica, MSI (22,4%), de los que 8 por pérdida de expresión de MSH2 y MSH6 (Figura 35) y 25 fueron por pérdida de expresión de MLH1 y PMS2 (Figura 36). No se identificaron casos con pérdida aislada de expresión de PMS2 o MSH6.

Tabla 16. Frecuencia de fenotipo MMR.

		<b>MMR</b>	
		<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
Válido	MSS	114	77,6
	MSI	33	22,4
	Total	147	100,0

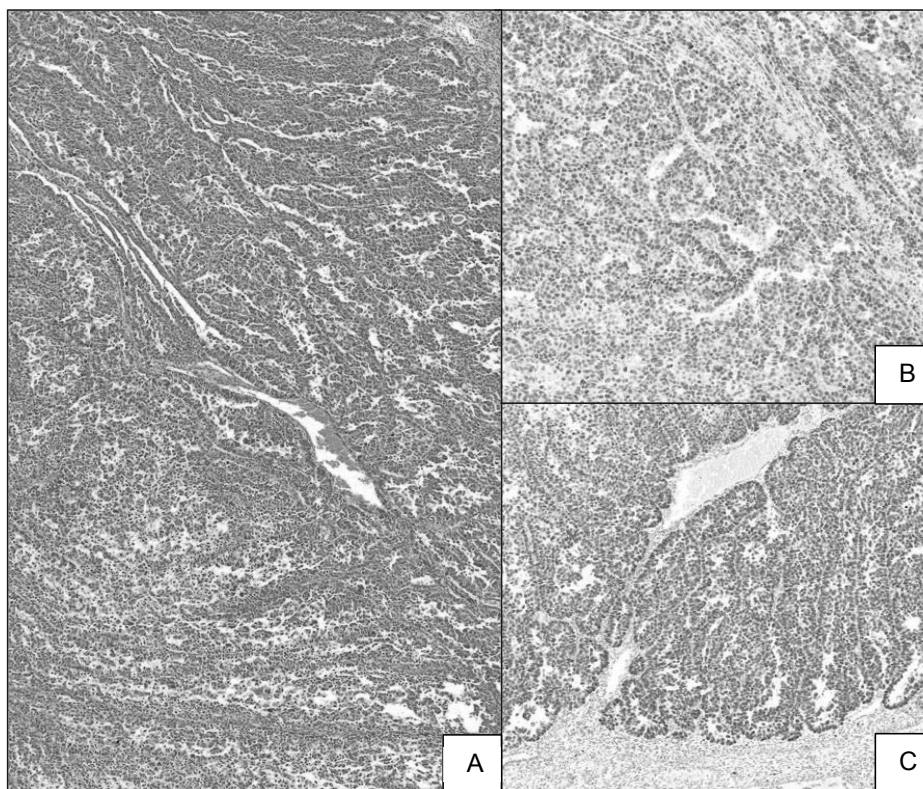


Figura 34. Fenotipo MSS. A: Carcinoma endometriode. Hematoxilina eosina 10x. B: Marcador inmunohistoquímico MSH6. Positividad nuclear. C: Marcador inmunohistoquímico PMS2. Positividad nuclear.

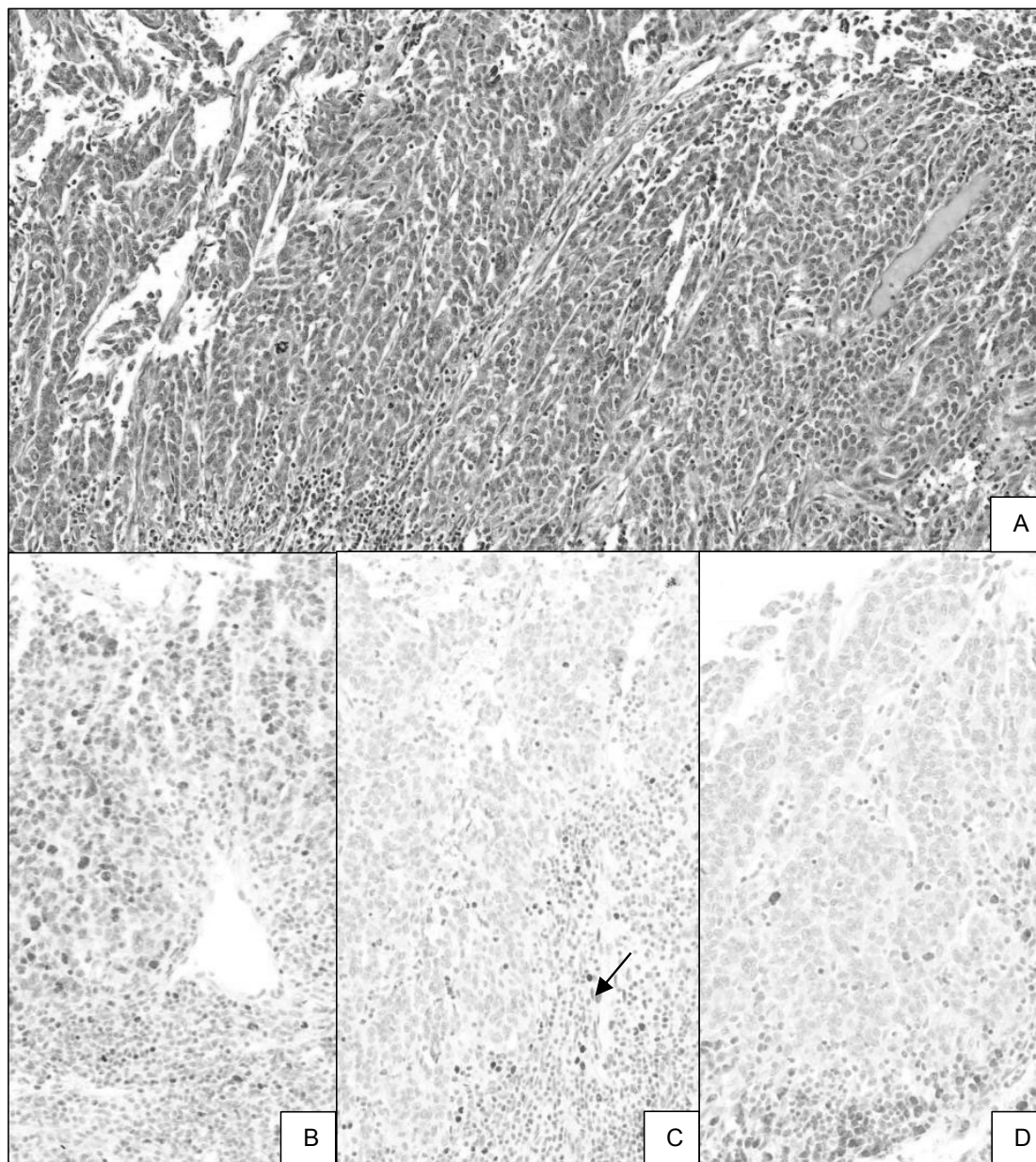


Figura 35. Fenotipo MSI. A: Carcinoma endometriode FIGO 3. Hematoxilina eosina 10x. B: Marcador inmunohistoquímico PMS2. Positividad nuclear. C. Marcador inmunohistoquímico MSH6. Negatividad nuclear. La flecha negra indica el control interno positivo en el estroma tumoral. D: Marcador inmunohistoquímico MSH2. Negatividad nuclear.

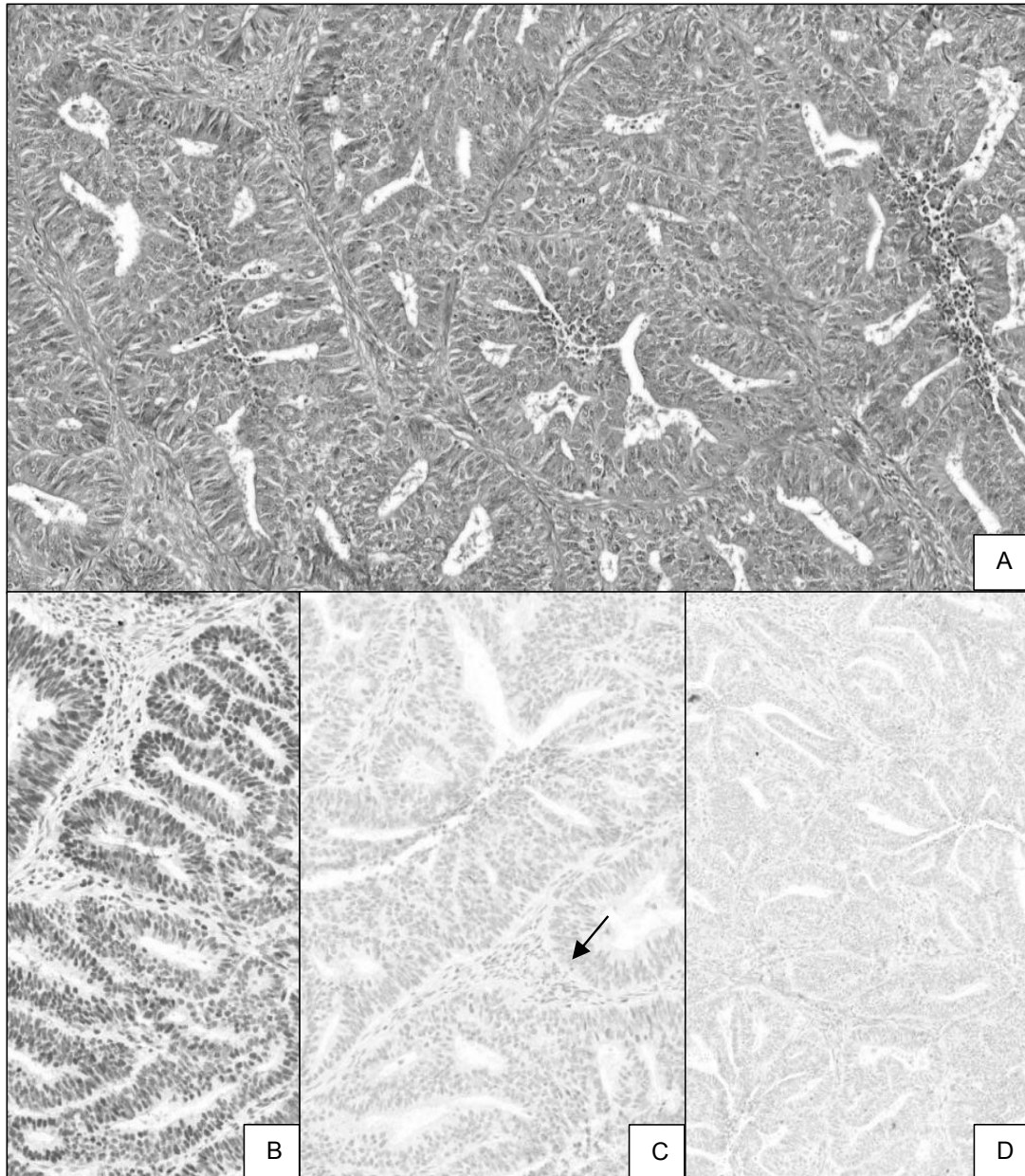


Figura 36. Fenotipo MSI. A: Carcinoma endometriode FIGO 1. Hematoxilina eosina 10x. B: Marcador inmunohistoquímico MSH6. Positividad nuclear. C: Marcador inmunohistoquímico PMS2. Negatividad nuclear. La flecha negra indica el control interno positivo en el estroma tumoral. D: Marcador inmunohistoquímico MLH1. Negatividad nuclear.



## 4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En función de la obesidad no se detectaron diferencias en las características demográficas ni en los aspectos anatomopatológicos de las pacientes. De las pacientes con obesidad, un 36% fueron MSI frente al 64% de las no obesas ( $p = 0,018$ ) (Figura 37). En las tablas 12 y 14 se recogen los datos según la distribución de las pacientes en MSI o MSS. Aparte de la obesidad, presenta diferencias estadísticamente significativas el tipo histológico ( $p = 0,023$ ) (Figura 38 y 39), dividiéndose en subtipo no endometriode y endometriode grado 1, 2 y 3 de la FIGO.

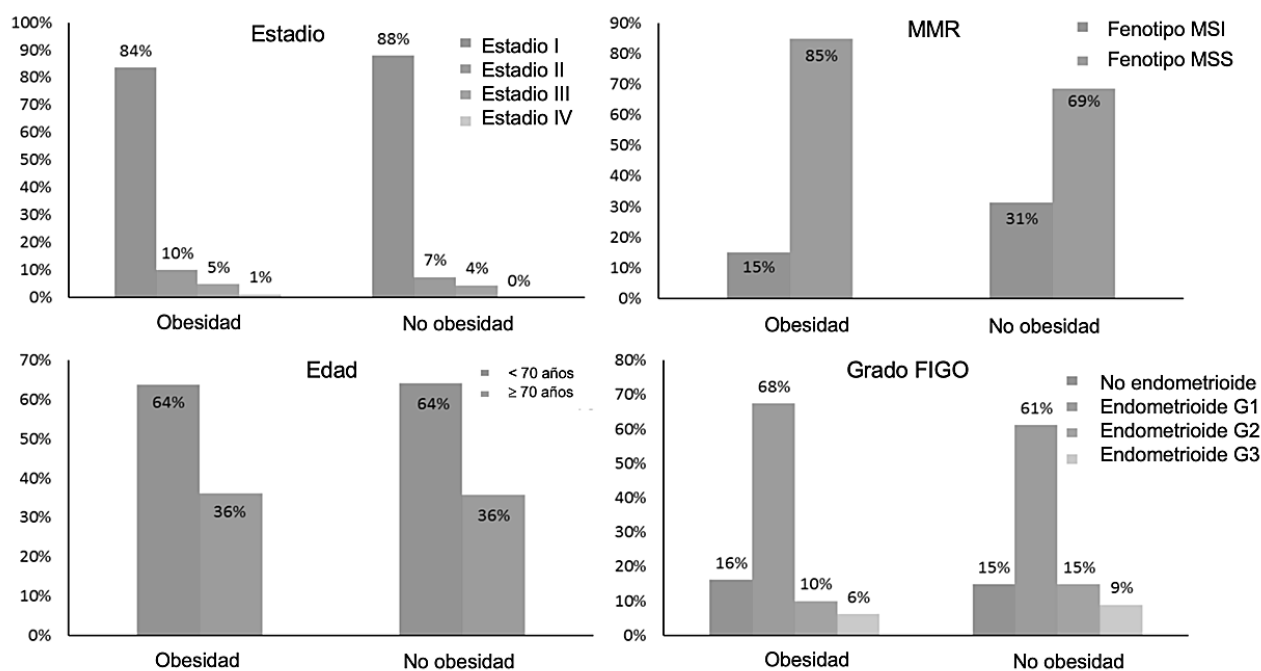


Figura 37. A: Figura de Estadio/ obesidad. B: Estatus MMR/ obesidad. C: Edad/ obesidad. D: Subtipo histológico/ obesidad.

## Resultados

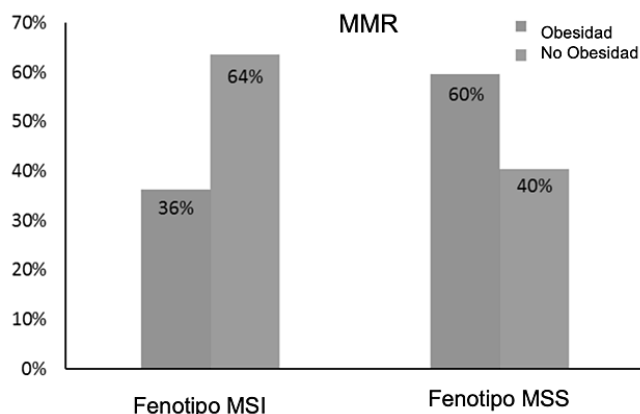


Figura 38. Fenotipo MMR frente a obesidad.

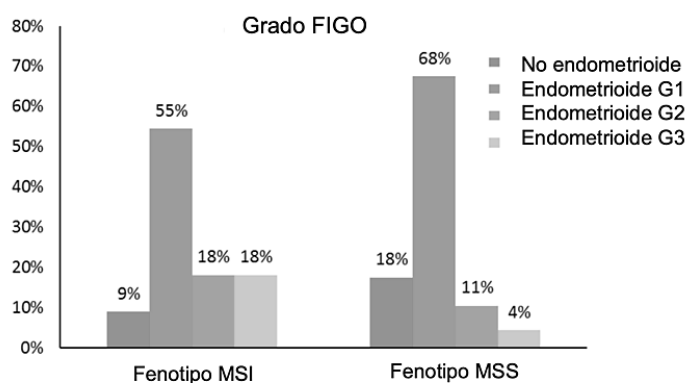


Figura 39. Fenotipo MMR frente a subtipo histológico y grado FIGO.

Las variables incluidas dentro del modelo de regresión logística fueron la obesidad ( $p = 0.018$ ) y el tipo histológico (endometriode – no endometriode) y grado de FIGO en los carcinomas endometrioides ( $p = 0.023$ ). El modelo de regresión logística (Tabla 17), nos indica que las pacientes con cáncer de endometrio no obesas tienen 2,487 (IC95 % 1,087; 5,690;  $p = 0,031$ ) veces más probabilidad de ser MSI que las pacientes con obesidad y que el tipo endometriode grado 3 tiene un 7,866 (IC95% 1,395; 44,370;  $p = 0,019$ ) veces

más probabilidad de ser MSI que las que tienen tipo histológico no endometriode. En general, tanto el grado 1 como el 2 presenta Odds ratio de 1,583 y 3,109 a favor de MSI frente al grupo no endometriode, aunque no llegan a ser significativos.

Tabla 17. Modelo de regresión logística.

	Coefficiente	s.e.	p-valor	Odds ratio (OR)	IC <sub>95%</sub> para OR
No obesas (Ref. Obesas)	0.911	.422	0.031	2.487	(1.087; 5.690)
Grado endometriode (Ref. No endometriode)			0.048		
Grado 1	.459	.681	0.500	1.583	(0.417; 6.008)
Grado 2	1.134	.808	0.161	3.109	(0.637; 15.160)
Grado 3	2.063	.883	0.019	7.866	(1.395; 44.370)
Constante	-2.369	.699	.0000	.080	

La curva ROC se representa en la figura 40. El área bajo la curva ROC es de 0,683 (IC95% 0,576; 0,790; p = 0,001). Para una tasa de falsos positivos del 20% tiene una sensibilidad del 46,1%.

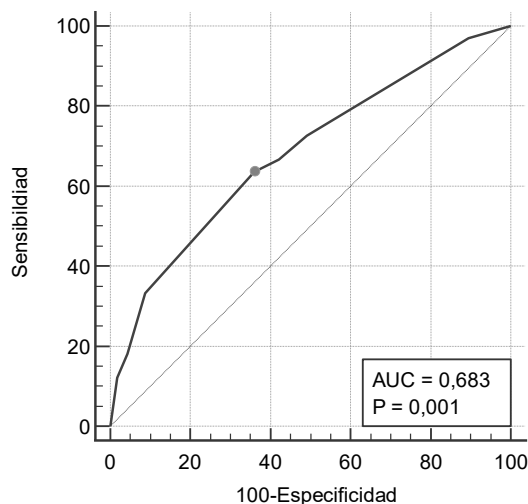


Figura 40. Curva ROC.

## Resultados

El punto marcado en rojo en la figura 40, representa el punto óptimo según el índice de Youden. El valor de este índice es de 0,2253, esto implica que si  $p(\widehat{MSI})$  obtenida según el modelo 1, es  $>0,2253$  debería ser indicado Test positivo (MSI), con una sensibilidad del 63,6% (IC<sub>95%</sub> 48,2; 82,0) y una especificidad del 64,0% (IC<sub>95%</sub> 54,5; 72,8). La tasa de falsos positivos es del 33,9% (IC<sub>95%</sub> 26,4; 42,2) y la tasa de falsos negativos es del 85,9% (IC<sub>95%</sub> 79,1; 90,7). Este último valor estaría indicando que si  $p(\widehat{MSI})$  es  $\leq 0,2253$  (test negativo) entonces la paciente tiene una probabilidad del 85,9% de no presentar MSI. Para otros puntos de corte se presentan los valores de sensibilidad, especificidad, tasas de falsos positivos y tasas de falsos negativos en la tabla 18.

Tabla 18. Puntos de corte para la probabilidad estimada de fenotipo MSI. Valor del Índice de Youden.

Punto de corte	Sensibilidad (IC <sub>95%</sub> )	Especificidad (IC <sub>95%</sub> )	Tasa F positivos (IC <sub>95%</sub> )	Tasa F negativos (IC <sub>95%</sub> )
$\geq 0,0856$	100 (89,4-100)	0 (0-3,2)	22,4	
$> 0,0856$	96,97 (84,2-99,9)	10,53 (5,6-17,7)	23,9 (22,3-25,5)	92,3 (61,8-98,9)
$> 0,1290$	72,73 (54,5-86,7)	50,88 (41,3-60,4)	30,0 (24,5-36,2)	86,6 (78,2-92,0)
$> 0,1888$	66,67 (48,2-82,0)	57,89 (48,3-67,1)	31,4 (24,9-38,8)	85,7 (78,3-90,9)
$> 0,2253$	63,64 (45,1-79,6)	64,04 (54,5-72,8)	33,9 (26,4-42,2)	85,9 (79,1-90,7)
$> 0,2691$	33,33 (18,0-51,8)	91,23 (84,5-95,7)	52,4 (33,9-70,2)	82,5 (78,7-85,8)
$> 0,4197$	18,18 (7,0-35,5)	95,61 (90,1-98,6)	54,5 (28,1-78,7)	80,1 (77,4-82,7)
$> 0,4240$	12,12 (3,4-28,2)	98,25 (93,8-99,8)	66,7 (27,7-91,3)	79,4 (77,2-81,5)
$> 0,6467$	0 (0-10,6)	100 (96,8-100)		77,6

A partir de la tabla 17 se obtienen la expresión del predictor lineal,  $\eta$  (1), siguiente:

$$\eta = -2,369 + 0,911 * (\text{si No obesa}) + 0,459 * (\text{si Endometrioide Grado 1}) + 1,134 * (\text{si Endometrioide Grado 2}) + 2,063 * (\text{si Endometrioide Grado 3})$$

(1)

Por ejemplo, si tenemos una mujer no obesa y carcinoma endometroide grado 3:

$$\eta = -2,369 + 0,911 + 2,063 = 0,604$$

Con lo que  $p(\widehat{MSI}) = 0,647$ , es decir, tendría un 64,7% de probabilidad de ser MSI. Si fuera una paciente con obesidad con ese mismo grado esta probabilidad sería del 42,4%, de acuerdo con la fórmula 1. El resto de los supuestos seguiría tal lo expuesto en la tabla 19.

Tabla 19. Resultados de los diferentes supuestos dado el algoritmo predictor.

Grado Endometrioide	Obesidad	Probabilidad estimada de ser MSI (%)
No endometrioide	No	18,9
	Sí	8,5
FIGO 1	No	26,9
	Sí	12,9
FIGO 2	No	42,0
	Sí	22,5
FIGO 3	No	64,7
	Sí	42,4



# **DISCUSIÓN**





En este estudio prospectivo observacional de casos, identificamos el fenotipo MSI (dMMR) en pacientes diagnosticadas de cáncer de endometrio mediante técnicas de inmunohistoquímica. Para evaluar esta condición seguimos las recomendaciones de las guías estandarizadas [37,54,102,103], analizando la asociación entre este fenotipo y variables clínicas como la obesidad, así como con variables anatomopatológicas como el subtipo histológico.

### 5.1 Conceptos dMMR y MSI

Hablamos de fenotipo MSI cuando existe una inactivación de los genes MMR en el ADN tumoral, que puede ocurrir debido a mutaciones en línea germinal, mutaciones somáticas o a silenciamiento epigenético del promotor de MLH1 [90,91]. Esta condición de hipermutabilidad genética se denomina MSI, y es el resultado del funcionamiento defectuoso del sistema de reparación del ADN (dMMR). Los conceptos de inestabilidad de microsatélites (MSI) y de defectos en el sistema de reparación del ADN (dMMR) son utilizados en la práctica clínica de manera equivalente [91]. En nuestro caso, utilizamos el concepto “fenotipo MSI” como el equivalente a dMMR y “fenotipo MSS” cuando no hay pérdida proteica de MMR.

### 5.2 Estudio inmunohistoquímico frente a estudio molecular

La detección de casos con dMMR se puede realizar mediante estudio inmunohistoquímico con marcadores para las proteínas MMR o mediante pruebas moleculares de inestabilidad de microsatélites (MSI). Los dos métodos

## Discusión

---

tienen una sensibilidad comparable, mostrando una concordancia de aproximadamente el 96%, haciendo del estudio inmunohistoquímico un excelente marcador subrogado [37,54]. A día de hoy, la NCCN (National Comprehensive Cancer Network -Red Nacional Integral del Cáncer-) recomienda el screening para el estatus de MMR tanto por inmunohistoquímica como por pruebas moleculares [36]. Sin embargo, las recomendaciones del consenso de la ESMO (en el contexto del tratamiento con inmunoterapia) son el uso de la inmunohistoquímica para las proteínas MMR como primera línea y realizar pruebas moleculares posteriormente si existiesen dudas [40]. Para nuestro estudio seguimos el protocolo de detección de alteraciones en MMR seguido en nuestro centro para el diagnóstico clínico del cáncer de endometrio, el estudio inmunohistoquímico de las proteínas MMR. Teniendo en cuenta que, en la práctica clínica, el estudio inmunohistoquímico está más fácilmente disponible, presenta un tiempo de respuesta más bajo, se puede realizar una visualización directa y existe una correlación con la morfología, entre otras ventajas.

### 5.3 Evaluación inmunohistoquímica

En nuestro trabajo, para la evaluación inmunohistoquímica, hemos tenido en cuenta la presencia o ausencia de tinción nuclear [100,101,104], aceptando que cualquier reacción positiva de las células tumorales se considera expresión proteica intacta (fenotipo MSS) y que la pérdida de expresión del anticuerpo, con

control interno positivo, se considera fenotipo MSI. Esta afirmación (presencia de tinción nuclear = fenotipo MSS) es la recomendada en la actualidad en la práctica clínica [37], pero observaciones más recientes han indicado que la pérdida clonal (parcial) de tinción puede ser el reflejo de anomalías genéticas que, a la espera de guías estandarizadas, deberían ser informadas en el diagnóstico anatomopatológico de rutina [70]. En nuestro estudio no se reportaron este tipo de pérdidas de tinción, clonales o parcheadas, siguiendo la afirmación tradicional. Existen, a su vez, otras formas de evaluar esta expresión inmunohistoquímica, como la realizada por Barrow et al. [105] y Doghri et al [93], utilizando un estudio semicuantitativo, por un lado valoraron la intensidad de la inmunorreactividad y por otro el porcentaje de células tumorales positivas, estableciendo así un score. Proponen una graduación de la intensidad de la tinción nuclear (negativo, débil, moderada y fuerte), afirmando que la presencia de mutaciones en los genes MMR no siempre resultan en una pérdida proteica completa [93]. En nuestro estudio se siguieron las recomendaciones propuestas por las diferentes instituciones (ESMO, NCCN, CAP) [37,81,93,106] para el estudio de las proteínas MMR en los tumores sólidos: la presencia de tinción inmunohistoquímica nuclear se relaciona con fenotipo MSS.

### 5.4 Algoritmo de estudio inmunohistoquímico de dos proteínas MMR

Es bien conocido que las proteínas MMR se organizan funcionalmente en heterodímeros, MSH2 junto a MSH6 y MLH1 junto a PMS2. Las proteínas dominantes de estos dímeros son MSH2 y MLH1, constituyentes obligatorios de sus pares respectivos, mientras que MSH6 y PMS2 son proteínas inestables cuando no están emparejadas en el dímero. Por ello, una alteración en sus socios dominantes da como resultado la pérdida del heterodímero asociado. Por otro lado, MLH1 y MSH2 pueden unirse a otros socios proteicos (MLH1-PMS1 o MSH2-MSH3) por lo que la pérdida de expresión de MSH6 o PMS2 se puede encontrar aislada. Atendiendo a la estructura funcional del heterodímero, es posible realizar un panel inmunohistoquímico de los marcadores PMS2 y MSH6 como detección primaria de la deficiencia de MMR [43,71]. La negatividad inmunohistoquímica para el anticuerpo MSH6 detecta todos los casos que albergan anomalías en MSH2 y MSH6 y la negatividad para el anticuerpo PMS2, las anomalías en MLH1 y PMS2 [71]. El estudio inmunohistoquímico para MSH2 y MLH1 por sí solo, no reconoce casos con anomalías de PMS2 o MSH6 [90]. Siguiendo esta premisa, en nuestro proyecto utilizamos el algoritmo del estudio proteico de MMR en dos tiempos.

Sin embargo, existen autores que desaconsejan la realización de un diagnóstico inmunohistoquímico en dos tiempos (primero con los anticuerpos

MSH6 y PMS2 y, si existe negatividad, MSH2 y MLH1 respectivamente) para el diagnóstico de déficit de MMR [107], aunque su uso disminuye el coste sin disminuir la precisión diagnóstica [90].

En un metaanálisis publicado en agosto de 2022 [108], donde se realizó una revisión sistematizada de la efectividad del algoritmo en dos tiempos, se probó que mejora sustancialmente el tiempo de diagnóstico en casos de fenotipo MSS. Según este artículo, con el uso de dos anticuerpos en un primer tiempo, al menos el 98,9% de los casos de dMMR serán detectados [108]. Sugiriendo que es fundamental para llegar al 100% la interpretación por patólogos especialistas y la realización del estudio inmunohistoquímico de los cuatro anticuerpos cuando exista cualquier duda sobre la interpretación de diferentes patrones de tinción observados con el algoritmo de prueba de dos anticuerpos.

En nuestra opinión, el sistema de evaluación que hemos utilizado es suficiente para la determinación del fenotipo MSI, como ya se ha utilizado [71,78,104,108].

### 5.5 Fenotipo MSI

En el presente estudio, el 22,4% (33/147) de los pacientes tenían fenotipos MSI, muy similar a otras series [77,93,94,100]. El porcentaje de pérdida del complejo MLH1-PMS2 fue del 17% (25/147) mientras que el del complejo MSH2-MSH6 fue del 5,4% (8/147), no identificándose pérdida aislada de expresión de

## Discusión

---

PMS2 o MSH6. Este alto porcentaje de pérdida de MLH1 en el cáncer de endometrio puede atribuirse en gran medida a la hipermetilación del promotor del gen MLH1 y no a las mutaciones del gen MMR [78]. Si comparamos nuestros datos con los de otras series con un porcentaje similar de fenotipo MSI, podemos decir que la pérdida del complejo MLH1-PMS2 se encuentra en una proporción muy similar (15,7% en la serie de Joehlin Price et al. [78] y un 15,5% en el de Doghri et al. [93]) mientras que la proporción de pérdida de MSH2-MSH6 es algo mayor (1,9% en la serie de Joehlin Price et al. [78] y 2,22% en la de Doghri et al. [93]). Creemos que estas diferencias pueden deberse a que en nuestra serie no identificamos pérdida aislada de PMS2 o MSH6, mientras que en la serie de Joehlin Price et al. [78] la pérdida de PMS2 llega al 22%.

### 5.6 Aspectos morfológicos y clínicos

Como eje de nuestro estudio nos propusimos evaluar los aspectos clínicos y morfológicos tradicionalmente relacionados con alteraciones en el sistema MMR en el cáncer de endometrio. Es bien conocido que no existen criterios clínicos o morfológicos determinantes de fenotipo MSI en el cáncer de endometrio [15,78,84,86,93] (ni en ningún otro de otra localización) pero sí que existen una serie de características frecuentes en este tipo de tumores.

### **5.6.1 Aspectos morfológicos**

En cuanto a los aspectos anatomopatológicos estudiados, nos hemos centrado en la localización macroscópica del tumor (localizado en el segmento uterino inferior frente a los localizados en cavidad uterina), el tipo histológico (dividiendo los tumores en endometrioides y no endometrioides), el grado histológico según la FIGO [35], la estadificación patológica (pTNM, AJCC) [53], la presencia o ausencia de invasión linfovascular y la presencia o ausencia de patología no tumoral asociada.

#### **5.6.1.1 Subtipo histológico**

En relación con el subtipo histológico, el 84,4% de nuestros casos fueron carcinomas endometrioides (124/147), el 10,8% fueron serosos (13/147) y el resto (carcinosarcomas, carcinomas mixtos, mucinosos, adenoescamosos y de células claras) representaron el 4,8% (10/147), no encontrando carcinomas indiferenciados o indiferenciados en nuestra serie, cifras que coinciden con las publicadas por la OMS (2020, 5ª Edición) [3]. Para el análisis estadístico, dividimos nuestros casos según el subtipo histológico, en endometrioides (84,4%) y no endometrioides (15,6%). La asociación entre el déficit de MMR (fenotipo MSI) y el subtipo histológico (endometrioide/ no endometrioide) de cáncer de endometrio no está completamente establecida. Algunos autores proponen que la condición de fenotipo MSI es más característico del carcinoma endometrioide [84-86], mientras que otros afirman que está presente tanto en los

## Discusión

---

carcinomas endometrioides como en los subtipos no endometrioides en la misma proporción [78,87-89]. En nuestra serie, el 90,9% (30/33) de las pacientes con fenotipo MSI eran subtipo endometrioide ( $p = 0,023$ ) (Tabla 14), lo que evidencia la asociación entre el estado de MSI y el subtipo endometrioide descrita en otras series [84-86].

### 5.6.1.2 Grado FIGO

Sin embargo, cuando evaluamos las diferencias en la clasificación del grado FIGO en los carcinomas endometrioides, encontramos diferencias entre aquellos con el fenotipo MSI versus el fenotipo MSS. Siguiendo la línea de otros artículos que sugieren una asociación entre un grado de FIGO más alto y la asociación con fenotipo MSI [73], en nuestro estudio encontramos un predominio de FIGO grado 3 en los carcinomas endometrioides con fenotipo MSI en comparación con aquellos con fenotipo MSS (Tabla 14). Siguiendo el modelo de regresión realizado, los carcinomas endometrioides grado 3 de la FIGO tienen 7,866 veces ( $p = 0,019$ ) más probabilidad de ser MSI que aquellos no endometrioides. Los casos de carcinomas endometrioides grado 1 y 2, presentan Odds Ratio a favor de MSI frente al grupo no endometrioide (1,583 y 3,109, respectivamente), aunque no llegan a ser estadísticamente significativos.

### 5.6.1.3 Otras características anatomopatológicas

Además del subtipo histológico, se han considerado otras características anatomopatológicas asociadas con el estado de MSI. En este sentido, con base



en estudios sobre el estado de MSI del cáncer de colon, Bartosch et al. [15] establecieron varias variables para identificar los aspectos anatomopatológicos del cáncer de endometrio MSI: respuesta inmune intensa que se manifiesta como infiltración peritumoral y linfocitos infiltrantes en el tumor, diferenciación mucinosa, heterogeneidad morfológica y localización en el segmento uterino inferior [83], además de estar asociada con mayor grado, presencia de invasión linfovascular y mayor estadio.

En cuanto a la presencia de estas otras patologías en el estudio histológico, Shia et al. [102] encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la presencia de hiperplasia endometrial en casos de MSI en comparación con MSS. En nuestro caso, evaluamos la presencia de hiperplasia, atrofia y otras patologías endometriales no neoplásicas (pólipos, leiomiomas, endometriosis) en ambos grupos sin encontrar significación estadística.

En nuestro estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la localización en el segmento uterino inferior, la presencia de invasión linfovascular o una estadificación patológica más alta (pTNM, AJCC).

### **5.6.2 Aspectos clínicos**

Atendiendo a aspectos clínicos relacionados con alteraciones en el sistema MMR en cáncer de endometrio, valoramos la posible asociación con la edad al

momento del diagnóstico, el estado pre o postmenopáusico, el IMC, la existencia de patología tumoral previa y el exitus durante el plazo del estudio como consecuencia de esta patología.

### 5.6.2.1 Obesidad

La obesidad es uno de los factores de riesgo más conocidos para el cáncer de endometrio [94]. Para su medición, la variable más accesible y ampliamente utilizada ha sido el IMC [76,77,94]. El porcentaje de mujeres con obesidad en España ( $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) es del 16,6% de la población, pero en la comunidad autónoma de Canarias es del 18,8% [109]. Para nuestro análisis, dividimos a los pacientes según el estado del IMC en dos grupos (pacientes con IMC menor de  $30 \text{ kg/m}^2$  y pacientes con IMC mayor o igual a  $30 \text{ kg/m}^2$ ), siendo el 45,5% pacientes no obesas y el 54,5% pacientes obesas, un porcentaje muy superior al de la población general. Inicialmente el IMC fue introducido en tres categorías (normopeso, sobrepeso y obesidad) no encontrando diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes con normopeso de aquellas con sobrepeso. En nuestro estudio contamos con 37 pacientes con normopeso, 30 pacientes con sobrepeso y 80 pacientes con obesidad. Dada la particularidad clínica de estas pacientes y a que, hoy en día, más en la población canaria [109], un altísimo porcentaje de la población tiene sobrepeso, consideramos ambas categorías unidas (normopeso y sobrepeso), siendo así más útil y fácil para utilizar dentro del modelo propuesto.

En el presente estudio (Tabla 11, 12 y 15), casi el 60% de las pacientes con fenotipo MSS eran obesas ( $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) ( $p = 0,018$ ). Si comparamos los resultados con la literatura consultada, observamos que son similares a los estudios de McCourt et al. [76], Cohn et al. [77], y Joehlin-Price et al. [78], coincidiendo en que cuanto mayor sea el IMC, mayor será el riesgo de cáncer de endometrio con fenotipo MSS. Mientras que en la serie de Amankwa et al. [94], encontraron que las pacientes con  $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$  tenían el doble de riesgo de ser fenotipo MSI que fenotipo MSS. Estos estudios indicaron que, aunque la obesidad era un factor de riesgo para las pacientes con fenotipo MSI, tenían un IMC más bajo comparado con aquellas con un sistema MMR competente.

### 5.6.2.2 Otros factores clínicos

En nuestro estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la edad al diagnóstico y el fenotipo MSI, pese a que existe bibliografía que asocia el dMMR a pacientes más jóvenes [78]. La explicación que le podemos dar a nuestros resultados puede ser que, a pesar de que encontramos en nuestra serie pacientes con edad comprendida entre los 39 y los 91 años, la gran mayoría (63,9%) eran menores de 70 años, por lo que no existe una representación homogénea de la edad en nuestra muestra. Aunque en nuestro estudio no realizamos estudios terapéuticos ni pronósticos, utilizamos una división de las pacientes en menores y mayores de 70 años teniendo en cuenta las consideraciones de diversos artículos [96,97] que determinan que a

## Discusión

---

partir de los 70 años las pacientes con cáncer de endometrio tienen peores datos de supervivencia y un pronóstico más desfavorable. Nos pareció, por tanto, que la división en esta edad podría ser de ayuda para posible futuros estudios de supervivencia y pronóstico. Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas entre el fenotipo MSI y el estado pre o postmenopáusico o la existencia de patología tumoral previa.

### 5.7 Seguimiento

En las pacientes con síndrome de Lynch, existe un riesgo significativo de desarrollar un segundo cáncer metacrónico [17,82]. Nuestro tipo de estudio fue prospectivo, donde recogimos casos desde enero de 2017 hasta mayo de 2020 por lo que el seguimiento no es valorable en el momento actual debido al escaso tiempo transcurrido. El 12% de nuestras pacientes que presentaban patología tumoral previa fueron fenotipo MSI, sin embargo, cabe tener presente que alrededor del 60% de las pacientes con fenotipo MSI presentan esta patología ginecológica como el cáncer centinela [15,93] por lo que el diagnóstico de esta condición en mujeres permitirá una implementación costoefectiva del screening y los programas de prevención.

### 5.8 Aspectos estadísticos

Para valorar la asociación entre los aspectos clínicos y morfológicos relacionados con alteraciones de MMR en el cáncer de endometrio, realizamos

un estudio multivariante. Como se refleja en nuestros resultados, las variables que permanecieron dentro del modelo de regresión logística fueron la obesidad ( $p=0.018$ ), el subtipo histológico (endometriode – no endometriode) junto con el grado de clasificación FIGO ( $p=0.023$ ) y el fenotipo MSI. Con este modelo (Tabla 17), observamos que las pacientes diagnosticadas de cáncer de endometrio con  $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$  tienen 2,4 veces más probabilidades de tener fenotipo MSI que aquellas con  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ , mientras que aquellas con diagnóstico de cáncer de endometrio endometriode FIGO grado 3 carcinoma tienen 7,8 veces más probabilidades de ser fenotipo MSI que aquellas con un diagnóstico de carcinoma no endometriode.

Con las variables seleccionadas construimos un predictor, obteniendo la probabilidad estimada de ser fenotipo MSI a partir de una fórmula. Este estudio se demuestra que, aplicando la ecuación predictiva, tal y como reflejan nuestros resultados, podemos obtener una probabilidad estimada de que una paciente, dado su subtipo histológico (endometriode o no endometriode) y el grado FIGO (1, 2 o 3), así como su IMC ( $< 30$  ó  $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ ), de ser fenotipo MSI. A pesar de que no existan en la bibliografía algoritmos predictores de fenotipo MSI dado algún aspecto clínico o anatomopatológico, nuestros resultados van en sintonía con otros artículos que estudian fenotipo MSI frente a obesidad en el cáncer de endometrio [76-78].

Para la práctica clínica, ambas variables, la obesidad como variable clínica y el subtipo histológico a través de biopsia previa, nos permiten determinar la probabilidad de que la paciente sea fenotipo MSI, datos que posteriormente serían confirmados en la pieza de histerectomía con estudio de proteínas MMR, tal y como recomienda la NCCN [104], salvo en casos muy específicos. Esta información puede ser de gran utilidad a la hora de planificar un estudio genético del promotor MLH1 y el posterior asesoramiento genético.

### 5.9 Limitaciones

Es necesario la recopilación de nuevos casos y la selección de nuevos factores que pudiesen estar afectando la aparición de un fenotipo MSI, con la intención de mejorar el rendimiento (área bajo la curva) del modelo.

### 5.10 Propuestas de futuro

La presente tesis doctoral puede ser el inicio de futuras investigaciones, de hecho, nos planteamos seguir con la recopilación de casos. Ello permitiría dividir a las pacientes por subtipos histológicos de la OMS, así como por estatus nutricional.

Otra de nuestras futuras líneas de investigación puede ser el seguimiento de estas pacientes en 5, 10 o 15 años para valorar en qué casos el cáncer de endometrio se presentó como “cáncer centinela”, así como observar la historia

oncológica de familiares de primer grado de ellas y valorar si se encuentran o no asociados a un fenotipo MSI.

En este sentido, también se podría valorar a largo plazo la respuesta a tratamiento, la supervivencia y la supervivencia libre de enfermedad de las pacientes dependiendo de ser fenotipo MSI o fenotipo MSS. Podríamos valorar qué tipo de tratamiento adyuvante recibieron y las diferentes respuestas.

Por último y más importante para nuestro estudio, sería utilizar el predictor que hemos construido en otra serie de pacientes con cáncer de endometrio y poner a prueba su utilidad exportando el algoritmo a otros centros hospitalarios de nuestra región.





# **CONCLUSIONES**



1. El fenotipo MSI, determinado por técnicas inmunohistoquímicas, aparece en 1 de cada 4 mujeres con cáncer de endometrio.
2. Determinamos la asociación en nuestra serie entre el fenotipo MMR y la obesidad. Las pacientes con cáncer de endometrio no obesas tienen 2,487 veces más probabilidad de ser fenotipo MSI que las que presentan obesidad.
3. Determinamos la asociación en nuestra serie entre el fenotipo MMR y el subtipo histológico. Las pacientes con subtipo endometrioide grado 3 tienen 7,866 veces más de probabilidad de ser fenotipo MSI que de subtipo no endometrioide.
4. No encontramos diferencias estadísticamente significativas entre la edad en el momento del diagnóstico, el estado postmenopáusico, la localización en segmento uterino inferior, un estadio superior y la presencia de invasión linfovascular con el fenotipo MMR.
5. Proponemos una ecuación predictiva para obtener una probabilidad estimada de ser fenotipo MSI dado el subtipo histológico, el grado FIGO y el IMC de ser MSI a partir de la fórmula:

$$p(\widehat{MSI}) = e^{\eta} / (1 + e^{\eta})$$

$$\begin{aligned} \eta = & -2,369 + 0,911 * (\text{si No obesa}) + 0,459 * (\text{si Endometrioide Grado 1}) \\ & + 1,134 * (\text{si Endometrioide Grado 2}) + 2,063 \\ & * (\text{si Endometrioide Grado 3}) \end{aligned}$$



## BIBLIOGRAFÍA

1. Deavers M, Coffey D. Precision Molecular Pathology of Uterine Cancer. Molecular pathology Library. Springer, 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-57985-6.
2. Global Cancer Observatory <https://gco.iarc.fr/> International Agency for Research on Cancer.
3. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS Eds. WHO Classification of Tumors of Female Reproductive Organs, IARC. Lyon; 2020. DOI: 10.1055/a-1545-4279.
4. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2022: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer*, 2023 15;144(8). DOI: 10.1002/ijc.31937.
5. Alemán Herrera A, Rojas Martín MD. Estimaciones de la Incidencia de Cáncer en Canarias, 2018. Canarias; 2019 Feb. [https://www3.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs/content/8e1d1c9c-43fd-11e9-af3a-bd8e6246c9be/Estimacion\\_Incidencia\\_Cancer\\_Canarias2018.pdf](https://www3.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs/content/8e1d1c9c-43fd-11e9-af3a-bd8e6246c9be/Estimacion_Incidencia_Cancer_Canarias2018.pdf).
6. Clarke MA, Long BJ, Del Mar Morillo A, Arbyn M, Bakkum-Gamez JN, et al. Association of Endometrial Cancer Risk With Postmenopausal Bleeding in Women: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Intern Med*. 2018 1;178(9):1201–8. DOI: 10.1001/jamainternmed.2018.2820.
7. Gredmark T, Kvint S, Havel G, Mattsson L. Histopathological findings in women with postmenopausal bleeding. *Br J Obstet Gynaecol*. 1995; 102(2):133–6. DOI:10.1111/j.1471-0528.1995.tb09066.x.
8. Crosbie EJ, Kitson SJ, McAlpine JN, Mukhopadhyay A, Powell ME, Singh N. Endometrial cancer. *Lancet*. 2022; 399(10333): 1412–28. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00323-3
9. Wise MR, Jordan V, Lagas A, Showell M, Wong N et al. Obesity and endometrial hyperplasia and cancer in premenopausal women: A systematic review. *Am J Obstet Gynecol*. 2016 214(6):689.e1-689.e17. DOI: 10.1016/j.ajog.2016.01.175.
10. Long B, Clarke MA, Morillo ADM, Wentzensen N, Bakkum-Gamez JN. Ultrasound detection of endometrial cancer in women with

- postmenopausal bleeding: Systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol.* 2020 Jun;157(3):624–33. DOI: 10.1016/j.ygyno.2020.01.032.
11. Morrison J, Balega J, Buckley L, Clamp A, Crosbie E, Drew Y, et al. British Gynaecological Cancer Society (BGCS) uterine cancer guidelines: Recommendations for practice. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2022; 270:50–89. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2021.11.423.
  12. Aune D, Navarro Rosenblatt DA, Chan DSM, Vingeliene S, Abar L, Vieira AR, et al. Anthropometric factors and endometrial cancer risk: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2015 Aug 1;26(8):1635–48. DOI: 10.1093/annonc/mdv142.
  13. Renehan AG, Soerjomataram I, Tyson M, Egger M, Zwahlen M, Coebergh JW, et al. Incident cancer burden attributable to excess body mass index in 30 European countries. *Int J cancer.* 2010 Feb;126(3):692–702. DOI: 10.1002/ijc.24803.
  14. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Cecchini RS, Cronin WM, Robidoux A, et al. Tamoxifen for the prevention of breast cancer: current status of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Nov 16;97(22):1652–62. DOI: 10.1093/jnci/dji372.
  15. Bartosch C, Clarke B, Bosse T. Gynaecological neoplasms in common familial syndromes (Lynch and HBOC). *Pathology.* 2018 Feb;50(2):222–37. DOI: 10.1016/j.pathol.2017.10.010.
  16. Zhao S, Chen L, Zang Y, Liu W, Liu S, Teng F, et al. Endometrial cancer in Lynch syndrome. *Int J Cancer.* 2022;150(1):7–17. DOI: 10.1002/ijc.33763.
  17. Post CCB, Stelloo E, Smit VTHBM, Ruano D, Tops CM, Vermij L, et al. Prevalence and Prognosis of Lynch Syndrome and Sporadic Mismatch Repair Deficiency in Endometrial Cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2021 Sep 1;113(9):1212–20. DOI: 10.1093/jnci/djab029.
  18. Dominguez-Valentin M, Sampson JR, Seppälä TT, ten Broeke SW, Plazzer JP, Nakken S, et al. Cancer risks by gene, age, and gender in 6350 carriers of pathogenic mismatch repair variants: findings from the

- Prospective Lynch Syndrome Database. *Genet Med*. 2020 Jan 1;22(1):15–25. DOI: 10.1038/s41436-019-0596-9.
19. Baflogil C, Thompson DJ, Lophatananon A, Smith MJ, Ryan NAJ, Naqvi A, et al. Association between genetic polymorphisms and endometrial cancer risk: a systematic review. *J Med Genet*. 2020 Sep 1;57(9):591–600. DOI: 10.1136/jmedgenet-2019-106529.
  20. O'Mara TA, Crosbie EJ. Polygenic risk score opportunities for early detection and prevention strategies in endometrial cancer. *Br J Cancer*. 2020 Sep 29;123(7):1045–6. DOI: 10.1038/s41416-020-0959-7.
  21. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1983;15:10–7. DOI: 10.1016/0090-8258(83)90111-7.
  22. Suarez AA, Felix AS, Cohn DE. Bokhman Redux: Endometrial cancer “types” in the 21st century. *Gynecol Oncol*. 2017;144(2):243–9. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.12.010
  23. Bell DW, Ellenson LH. Molecular Genetics of Endometrial Carcinoma. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2019;14:339–67 DOI: 10.1146/annurev-pathol-020117-043609.
  24. Risinger JI, Berchuck A, Kohler MF, Lynch HT, Boyd J. Genetic instability of microsatellites in endometrial carcinoma. *Cancer Res*. 1993 1;53(21):5100-3. PMID: 8221644.
  25. Duggan BD, Felix JC, Muderspach LL, Tourgeman D, Zheng J, Shibata D. Microsatellite instability in sporadic endometrial carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1994;86(16):1216–21. DOI: 10.1093/jnci/86.16.1216.
  26. Caduff RF, Johnston CM, Svoboda-Newman, Poy EL, Merajver SD, Frank TS. Clinical and pathological significance of microsatellite instability in sporadic endometrial carcinoma. *Am J Pathol*. 1996;148(5):1671-8. PMID: 8623934.
  27. Kurose K, Bando K, Fukino K, Sugisaki Y, Araki T, Emi M. Somatic mutations of the PTEN/MMAC1 gene in fifteen Japanese endometrial cancers: Evidence for inactivation of both alleles. *Japanese J Cancer Res*. 1998;89(8):842–8. DOI: 10.1111/j.1349-7006.tb00638.x.
  28. Enomoto T, Inoue M, Perantoni AO, Terakawa N, Tanizawa O, Rice JM.

- K-ras activation in neoplasms of the human female reproductive tract. *Cancer Res.* 1990 Oct 1;50(19):6139-45. PMID: 2205377.
29. Mizuuchi H, Nasim S, Kudo R, Silverberg GS, Greenhouse S, Garret CT. Clinical implications of K-ras mutations in malignant epithelial tumors of the endometrium. *Cancer Res.* 1992 May 15;52(10):2777-81. PMID: 1581890.
  30. Lax SF, Kendall B, Tashiro H, Slebos RJ, Hedrick L. The frequency of p53, K-ras mutations, and microsatellite instability differs in uterine endometrioid and serous carcinoma: evidence of distinct molecular genetic pathways. *Cancer.* 2000. Feb 15;88(4):814-24. PMID: 10679651.
  31. Tashiro H, Isacson C, Levine L, Kurman RJ, Cho Kr, Hedrick L. p53 gene mutations are common in uterine serous carcinoma and occur early in their pathogenesis. *Am J Pathol.* 1997 Jan;150(1):177-85. PMID: 9006334.
  32. Maxwell GL, Risinger JI, Gumbs C, Shaw H, Bentley RC et al. Mutation of the PTEN tumor suppressor gene in endometrial hyperplasias. *Cancer Res.* 1998 Jun 15;58(12):2500-3. PMID: 9635567.
  33. Sherman ME, Bur ME, Kurman RJ. p53 in endometrial cancer and its putative precursors: evidence for diverse pathways of tumorigenesis. *Hum Pathol.* 1995 April ;26(11):1268–74. DOI: 10.1016/0046-8177(95)90204-x.
  34. Masood M, Singh N. Endometrial carcinoma: changes to classification (WHO 2020). *Diagnostic Histopathol.* 2021;27(12):493–9. DOI: 10.1016/j.mpdhp.2021.09.003
  35. Bhatla N, Denny L. FIGO Cancer Report 2018. Vol. 143, *International Journal of Gynecology and Obstetrics.* John Wiley and Sons Ltd.; 2018. p. 2–3. DOI: 10.1002/ijgo.12608.
  36. Lacey J V., Chia VM. Endometrial hyperplasia and the risk of progression to carcinoma. *Maturitas.* 2009 May 20;63(1):39–44. DOI: 10.1016/j.maturitas.2009.02.005.
  37. Cancer Genome Atlas Research Network T. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature.* 2013. 2;497(7447):67-73. DOI: 10.1038/nature/12113.
  38. Miller EM, Patterson NE, Gressel GM, Karabakhtsian RG, Bejerano-Sagie M et al. Utility of a custom designed next generation DNA sequencing gene



- panel to molecularly classify endometrial cancers according to The Cancer Genome Atlas subgroups. *BMC Med Genomics*. 2020. 30;13(1):179. DOI: 10.1186/s12920-020-00824-8.
39. Yen TT, Wang TL, Fader AN, Shih IM, Gaillard S. Molecular Classification and Emerging Targeted Therapy in Endometrial Cancer. *Int J Gynecol Pathol*. 2020;39(1):26–35. DOI: 10.1097/PGP.0000000000000585.
  40. León-Castillo A, Gilvázquez E, Nout R, Smit VT, McAlpine JN et al. Clinicopathological and molecular characterization of "multiple-classifier" endometrial carcinomas. *J Pathol*. 2020 Mar;250(3):312-322. DOI: 10.1002/path.5373.
  41. Le Gallo M, Bell DW. The emerging genomic landscape of endometrial cancer. *Clin Chem*. 2014 Jan; 60(1):98–110. DOI: 10.1373/clinchem.2013.205740.
  42. Bosse T, Nout RA, McAlpine JN, McConechy MK, Britton H, Hussein YR, et al. Molecular Classification of Grade 3 Endometrioid Endometrial Cancers Identifies Distinct Prognostic Subgroups. *Am J Surg Pathol*. 2018 ;42(5):561–8. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001020.
  43. Hussein YR, Weigelt B, Levine DA, Schoolmeester JK, Dao LN, Balzer BL, et al. Clinicopathological analysis of endometrial carcinomas harboring somatic POLE exonuclease domain mutations. *Mod Pathol*. 2015 Apr 8;28(4):505–14. DOI: 10.1038/modpathol.2014.143.
  44. Zigelboim I, Goodfellow PJ, Gao F, Gibb RK, Powell MA, Rader JS, et al. Microsatellite instability and epigenetic inactivation of MLH1 and outcome of patients with endometrial carcinomas of the endometrioid type. *J Clin Oncol*. 2007 May 20;25(15):2042–8. DOI: 10.1200/JCO.2006.08.2107.
  45. An HJ, Kim K II, Kim JY, Shim JY, Kang H, Kim TH, et al. Microsatellite instability in endometrioid type endometrial adenocarcinoma is associated with poor prognostic indicators. *Am J Surg Pathol*. 2007 Jun;31(6):846–53. DOI: 10.1097/01.pas.0000213423.30880.ac.
  46. Konopka B, Janiec-Jankowska A, Czapczak D, Paszko Z, Bidziński M, Olszewski W, et al. Molecular genetic defects in endometrial carcinomas: microsatellite instability, PTEN and beta-catenin (CTNNB1) genes mutations. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2007 Jun;133(6):361–71. DOI:

- 10.1007/s00432-006-0179-4.
47. Kuhn E, Wu RC, Guan B, Wu G, Zhang J, Wang Y, et al. Identification of molecular pathway aberrations in uterine serous carcinoma by genome-wide analyses. *J Natl Cancer Inst.* 2012 Oct 3;104(19):1503–13. DOI: 10.1093/jnci/djs345.
  48. Zhao S, Choi M, Overton JD, Bellone S, Roque DM, Cocco E, et al. Landscape of somatic single-nucleotide and copy-number mutations in uterine serous carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013 Feb 19;110(8):2916–21. DOI: 10.1073/pnas.1222577110.
  49. Thompson EF, Huvila J, Jamieson A, Leung S, Lum A, Offman S, et al. Variability in endometrial carcinoma pathology practice: opportunities for improvement with molecular classification. *Mod Pathol.* 2022 Dec;35(12):1974–82. DOI: 10.1038/s41379-022-01165-w.
  50. Frost JA, Webster KE, Bryant A, Morrison J. Lymphadenectomy for the management of endometrial cancer. *Cochrane database Syst Rev.* 2015;21;2015(9):CD007585. DOI: 10.1002/14651885.CD007584.pub3.
  51. Leitao MM, Khoury-Collado F, Gardner G, Sonoda Y, Brown CL, Alektiar KM, et al. Impact of incorporating an algorithm that utilizes sentinel lymph node mapping during minimally invasive procedures on the detection of stage IIIC endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2013;129(1):38–41. DOI: 10.1016/j.ygyno.2013.01.002.
  52. Soslow RA, Tornos C, Park KJ, Malpica A, Matias-Guiu X, Oliva E, et al. Endometrial Carcinoma Diagnosis: Use of FIGO Grading and Genomic Subcategories in Clinical Practice: Recommendations of the International Society of Gynecological Pathologists. *Int J Gynecol Pathol.* 2019 Jan;38(1):S64–74. DOI: 10.1097/PGP.0000000000000518.
  53. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, Meyer L, Gress DM, Byrd DR, Winchester DP. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin.* 2017 Mar;67(2):93-99. DOI: 10.3322/caac.21388.
  54. Concin N, Creutzberg CL, Vergote I, Cibula D, Mirza MR, Marnitz S, et al. ESGO/ESTRO/ESP Guidelines for the management of patients with

- endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2021 Jan;31(1):12-39. DOI: 10.1139/ijgc-2020-002230.
55. Leon-Castillo A, De Boer SM, Powell ME, Mileskin LR, Mackay HJ, Leary A, et al. Molecular Classification of the PORTEC-3 Trial for High-Risk Endometrial Cancer: Impact on Prognosis and Benefit From Adjuvant Therapy. *J Clin Oncol*. 2020 Oct 10;38(29):3388–97. DOI: 10.200/JCO.20.00549.
  56. Fleming GF, Brunetto VL, Cella D, Look KY, Reid GC, Munkarah AR, et al. Phase III Trial of Doxorubicin Plus Cisplatin With or Without Paclitaxel Plus Filgrastim in Advanced Endometrial Carcinoma: A Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol*. 2004 Jun 1;22(11):2159–66. DOI: 10.1200/JCO.2004.07.184.
  57. Kim SR, Pina A, Albert A, McAlpine JN, Wolber R, Gilks B, et al. Mismatch repair deficiency and prognostic significance in patients with low-risk endometrioid endometrial cancers. *Int J Gynecol Cancer*. 2020 Jun;30(6):783–8. DOI: 10.1136/ijgc-2019-000910.
  58. Shih KK, Garg K, Levine DA, Kauff ND, Abu-Rustum NR, Soslow RA, et al. Clinicopathologic significance of DNA mismatch repair protein defects and endometrial cancer in women 40 years of age and younger. *Gynecol Oncol*. 2011 Oct;123(1):88–94. DOI: 10.1016/j.guno.2011.06.005.
  59. Haruma T, Nagasaka T, Nakamura K, Haraga J, Nyuya A, Nishida T, et al. Clinical impact of endometrial cancer stratified by genetic mutational profiles, POLE mutation, and microsatellite instability. *PLoS One*. 2018 Apr 16;13(4):e0195655. DOI: 10.1371/journal.pone.0195655.
  60. Gottwald L, Pluta P, Piekarski J, Szych M, Hendzel K, Topczewska-Tylinska K, et al. Long-term survival of endometrioid endometrial cancer patients. *Arch Med Sci*. 2010;6:937–44. DOI: 10.5114/aoms.2010.19305.
  61. Moss EL, Gorsia DN, Collins A, Sandhu P, Foreman N, Gore A, et al. Utility of Circulating Tumor DNA for Detection and Monitoring of Endometrial Cancer Recurrence and Progression. *Cancers (Basel)*. 2020 Aug 1;12(8):1–13. DOI: 10.3390/cancers12082231.
  62. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*. 2017 Jun 1;58(5):235. DOI:

- 10.1002/em.22087.
63. Wolters S, Schumacher B. Genome maintenance and transcription integrity in aging and disease. *Front Genet.* 2013. Feb 25;4:19. DOI: 10.3389/jgene.201300019.
  64. Ghosal G, Chen J. DNA damage tolerance: a double-edged sword guarding the genome. *Transl Cancer Res.* 2013 Jun 1;2(3):107–29. DOI: 10.3978/j.issn.2218-676X.2013.04.01
  65. Sharma S, Helchowski CM, Canman CE. The roles of DNA polymerase  $\zeta$  and the Y family DNA polymerases in promoting or preventing genome instability. *Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen.* 2013 Mar;743–744:97–110. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2012.11.002.
  66. Jiricny J. The multifaceted mismatch-repair system. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006 May;7(5):335–46. DOI: 10.1038/nrm1907.
  67. Jiricny J. Postreplicative mismatch repair. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013 Apr;5(4):1–23. DOI: 10.1101/cshperspect.a012633.
  68. Guillotin D, Martin SA. Exploiting DNA mismatch repair deficiency as a therapeutic strategy. *Exp Cell Res.* 2014;329(1):110–5. DOI: 10.1016/j.yexcr.2014.07.004
  69. Kunkel TA, Erie DA. DNA mismatch repair. *Annu Rev Biochem.* 2005;74:681–710. DOI: 10.1146/annurev.biochem.74.082803.133243
  70. Wang C, Zhang L, Vakiani E, Shia J. Detecting mismatch repair deficiency in solid neoplasms: immunohistochemistry, microsatellite instability, or both? *Mod Pathol.* 2022 Nov;35(11):1515–28. DOI: 10.1038/s41379-022-01109-4.
  71. Hall G, Clarkson A, Shi A, Langford E, Leung H, Eckstein RP, et al. Immunohistochemistry for PMS2 and MSH6 alone can replace a four antibody panel for mismatch repair deficiency screening in colorectal adenocarcinoma. *Pathology.* 2010 Aug;42(5):409-13. DOI: 10.3109/00313025.2010.493871.
  72. Xiao X, Melton DW, Gourley C. Mismatch repair deficiency in ovarian cancer -- molecular characteristics and clinical implications. *Gynecol Oncol.* 2014 Feb;132(2):506–12. DOI: 10.1016/j.ygyno.2013.12.003.

73. Zannoni GF, Bragantini E, Castiglione F, Fassan M, Troncone G, Inzani F, et al. Current Prognostic and Predictive Biomarkers for Endometrial Cancer in Clinical Practice: Recommendations/Proposal from the Italian Study Group. *Front Oncol.* 2022;12(April):1–20. DOI: 10.3389/fonc.2022.805613
74. Ryan NAJ, Morris J, Green K, Lalloo F, Woodward ER, Hill J, et al. Association of Mismatch Repair Mutation With Age at Cancer Onset in Lynch Syndrome: Implications for Stratified Surveillance Strategies. *JAMA Oncol.* 2017 Dec 1;3(12):E1–5. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.0619.
75. Oaknin A, Gilbert L, Tinker AV, Brown J, Mathews C, Press J, Sabatier R, O'Malley DM, et al. Safety and antitumor activity of dostarlimab in patients with advanced or recurrent DNA mismatch repair deficient/microsatellite instability-high (dMMR/MSI-H) or proficient/stable (MMRp/MSS) endometrial cancer: interim results from GARNET-a phase I, single-arm study. *J Immunother Cancer.* 2022 Jan;10(1):e003777. DOI: 10.1136/jitc-2021-003777.
76. McCourt CK, Mutch DG, Gibb RK, Rader JS, Goodfellow PJ, Trinkaus K, et al. Body mass index: relationship to clinical, pathologic and features of microsatellite instability in endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2007 Mar;104(3):535–9. DOI: 10.1016/j.ygyno.2006.09.019
77. Cohn DE, Pavelka JC, Frankel WL, Morrison CD, Hampel H, Copeland LJ, et al. Correlation between patient weight and defects in DNA mismatch repair: is this the link between an increased risk of previous cancer in thinner women with endometrial cancer? *Int J Gynecol Cancer.* 2008 Jan;18(1). DOI: 10.1111/j.1525-1438.2007.00964.x.
78. Joehlin-Price AS, Perrino CM, Stephens J, Backes FJ, Goodfellow PJ, Cohn DE, et al. Mismatch repair protein expression in 1049 endometrial carcinomas, associations with body mass index, and other clinicopathologic variables. *Gynecol Oncol.* 2014;133(1):43–7. DOI: 10.1016/j.ygyno.2014.01.017.
79. Matthews KS, Estes JM, Conner MG, Manne U, Whitworth JM, Huh WK, et al. Lynch syndrome in women less than 50 years of age with endometrial cancer. *Obstet Gynecol.* 2008 May;111(5):1161–6. DOI: 10.1097/AOG.0b013e31817051d9.

80. Lu KH, Schorge JO, Rodabaugh KJ, Daniels MS, Sun CC, Soliman PT, et al. Prospective determination of prevalence of lynch syndrome in young women with endometrial cancer. *J Clin Oncol*. 2007 Nov 20;25(33):5158–64. DOI: 10.1200/JCO.2007.10.8597.
81. Kahn RM, Gordhandas S, Maddy BP, Baltich Nelson B, Askin G, Christos PJ, et al. Universal endometrial cancer tumor typing: How much has immunohistochemistry, microsatellite instability, and MLH1 methylation improved the diagnosis of Lynch syndrome across the population? *Cancer*. 2019 Sep 15;125(18):3172–83. DOI: 10.1002/cncr.32203.
82. Wang Y, Xue F, Broaddus RR, Tao X, Xie SS, Zhu Y. Clinicopathological features in endometrial carcinoma associated with Lynch syndrome in China. *Int J Gynecol Cancer*. 2009 May;19(4):651–6. DOI: 10.1111/IGC.0b013e3181a12fb9.
83. Westin SN, Lacour RA, Urbauer DL, Luthra R, Bodurka DC, Lu KH, et al. Carcinoma of the Lower Uterine Segment: A Newly Described Association With Lynch Syndrome. *J Clin Oncol*. 2008 Dec 20;26(36). DOI: 10.1200/JCO.2008.18.6296
84. Tibiletti MG, Furlan D, Taborelli M, Facco C, Riva C, Franchi M, et al. Microsatellite instability in endometrial cancer: Relation to histological subtypes. *Gynecol Oncol*. 1999;73(2):247–52. DOI: 10.1006/gyno.1999.5351
85. Catusus L, Machin P, Matias-Guiu X, Prat J. Microsatellite instability in endometrial carcinomas: Clinicopathologic correlations in a series of 42 cases. *Hum Pathol*. 1998;29(10):1160–4. DOI: 10.1016/s0046-8177(98)90430-0.
86. Black D, Soslow RA, Levine DA, Tornos C, Chen SC, Hummer AJ, et al. Clinicopathologic significance of defective DNA mismatch repair in endometrial carcinoma. *J Clin Oncol*. 2006 Apr 10;24(11):1745–53. DOI: 10.1200/JCO.2005.04.1574.
87. Backes FJ, Leon ME, Ivanov I, Suarez A, Frankel WL, Hampel H, et al. Prospective evaluation of DNA mismatch repair protein expression in primary endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2009 Sep;114(3):486–90. DOI: 10.1016/j.ygyno.2009.05.026.

88. Garg K, Leitao MM, Kauff ND, Hansen J, Kosarin K, Shia J, et al. Selection of endometrial carcinomas for DNA mismatch repair protein immunohistochemistry using patient age and tumor morphology enhances detection of mismatch repair abnormalities. *Am J Surg Pathol*. 2009 Jun;33(6):925–33. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318197a046.
89. Shikama A, Minaguchi T, Matsumoto K, Akiyama-Abe A, Nakamura Y, Michikami H, et al. Clinicopathologic implications of DNA mismatch repair status in endometrial carcinomas. *Gynecol Oncol*. 2016;140(2):226–33. DOI: 10.1016/j.ygyno.2015.11.032.
90. Ma J, Setton J, Lee NY, Riaz N, Powell SN. The therapeutic significance of mutational signatures from DNA repair deficiency in cancer. *Nat Commun*. 2018 Dec 1;9(1). DOI: 10.1038/s41467-018-05228-y.
91. Shia J, Ellis NA, Klimstra DS. The utility of immunohistochemical detection of DNA mismatch repair gene proteins. Vol. 445, *Virchows Archiv*. 2004. p. 431–41. DOI: 10.1007/s00428-004-1090-5.
92. Colle R, Cohen R, Cochereau D, Duval A, Lascols O, Lopez-Trabada D, et al. Immunotherapy and patients treated for cancer with microsatellite instability. *Bull Cancer*. 2017 Jan;104(1). DOI: 10.1016/j.bulcan.2016.11.006.
93. Doghri R, Houcine Y, Boujelbène N, Driss M, Charfi L, Abbes I, et al. Mismatch Repair Deficiency in Endometrial Cancer: Immunohistochemistry Staining and Clinical Implications. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019 Oct 1;27(9):678–82. DOI: 10.1097/PAI.0000000000000641.
94. Amankwah EK, Friedenreich CM, Magliocco AM, Brant R, Courneya KS, Speidel T, et al. Anthropometric Measures and the Risk of Endometrial Cancer, Overall and by Tumor Microsatellite Status and Histological Subtype. *Am J Epidemiol*. 2013 Jun 15;177(12). DOI: 10.1093/aje/kws434.
95. Santa Cruz de Tenerife: Población por municipios y sexo.: <https://www.ine.es/jaxiT3/Datos.htm?t=2892#!tabs-tabla>
96. Alektiar KM, Venkatraman E, Abu-Rustum N, Barakat RR. Is endometrial carcinoma intrinsically more aggressive in elderly patients? *Cancer*. 2003 Dec 1;98(11):2368–77. DOI: 10.1002/cncr.11830.

97. Koual M, Ngo C, Girault A, Lécuru F, Bats AS. Endometrial cancer in the elderly: does age influence surgical treatments, outcomes, and prognosis? *Menopause*. 2018 Sep 1;25(9):968–76. DOI: 10.1097/GME.0000000000001119.
98. Bhaskaran K, Dos-Santos-Silva I, Leon DA, Douglas IJ, Smeeth L. Association of BMI with overall and cause-specific mortality: a population-based cohort study of 3.6 million adults in the UK. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018 Dec;6(12):944–53. DOI: 10.1016/S2213-8587(18)30288-2.
99. Win AK, Dowty JG, Antill YC, English DR, Baron JA, Young JP, et al. Body mass index in early adulthood and endometrial cancer risk for mismatch repair gene mutation carriers. *Obstet Gynecol*. 2011 Apr;117(4):899–905. DOI: 10.1097/AOG.0b013e3182110ea3.
100. Doulgeraki T, Vagios S, Kavoura E, Yiannou P, Messini I et al. Mismatch repair status in high-grade endometrial carcinomas of endometrioid and non-endometrioid type. *J BOUN*. 2019 Sep-Oct;24(5):2020-2027.
101. Rabban JT, Calkins SM, Karnezis AN, Grenert JP, Blanco A, Crawford B, et al. Association of tumor morphology with mismatch-repair protein status in older endometrial cancer patients: Implications for universal versus selective screening strategies for lynch syndrome. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(6):793–800. DOI: 10.1097/PAS.000000000000177.
102. Shia J, Black D, Hummer AJ, Boyd J, Soslow RA. Routinely assessed morphological features correlate with microsatellite instability status in endometrial cancer. *Hum Pathol*. 2008. Jan;39(1):116–25. DOI: 10.1016/j.humpath.2007.05.022
103. Klarskov L, Ladelund S, Holck S, Roenlund K, Lindebjerg J, Elebro J, et al. Interobserver variability in the evaluation of mismatch repair protein immunostaining. *Hum Pathol*. 2010 Oct;41(10):1387–96. DOI: 10.1016/j.humpath.2010.03.003.
104. Koh W-J, Abu-Rustum NR, Bean S, Bradley K, Campos SM, Cho KR, et al. Uterine Neoplasms, Version 1.2018, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Cancer Netw*. 2018 Feb 8;16(2):170–99. DOI: 10.6004/jnccn.2018.0006.



105. Barrow E, Jagger E, Brierley J, Wallace A, Evans G, Hill J, et al. Semiquantitative assessment of immunohistochemistry for mismatch repair proteins in Lynch syndrome. *Histopathology*. 2010 Feb 1;56(3):331–44. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2010.03485.x.
106. Evrard C, Alexandre J. Predictive and Prognostic Value of Microsatellite Instability in Gynecologic Cancer (Endometrial and Ovarian). *Cancers (Basel)*. 2021 May 18;13(10):2434. DOI: 10.3390/cancers13102434
107. Arciuolo D, Travaglino A, Raffone A, Raimondo D, Santoro A, Russo D, et al. TCGA Molecular Prognostic Groups of Endometrial Carcinoma: Current Knowledge and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2022;23(19):1–10. DOI: 10.3390/ijms231911684.
108. Aiyer KTS, Doeleman T, Ryan NA, Nielsen M, Crosbie EJ, Smit VTHBM, et al. Validity of a two-antibody testing algorithm for mismatch repair deficiency testing in cancer; a systematic literature review and meta-analysis. *Mod Pathol*. 2022 Dec 1;35(12):1775–83. DOI: 10.1038/s41379-022-01149-w..
109. Índice de masa corporal población adulta según sexo y comunidad autónoma. Población de 18 y más años. <https://www.ine.es/jaxi/Datos.htm?path=/t15/p420/a2014/p06/l0/&file=01004.px#!tabs-mapa>



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Tumores más frecuentes por sexo .....	10
<b>Tabla 2.</b> Clasificación del cáncer de endometrio en las tres dimensiones .....	17
<b>Tabla 3.</b> Características clínicas generales, “The signs of two main pathogenetic types of endometrial carcinoma” .....	19
<b>Tabla 4.</b> Características tumorales, “Influence of pathogenetic type of the disease on tumor peculiarities” .....	19
<b>Tabla 5.</b> Clasificación del cáncer de endometrio, OMS.....	21
<b>Tabla 6.</b> Clasificación del cáncer de endometrio. Tres dimensiones.....	39
<b>Tabla 7.</b> Diferencias entre el síndrome de Lynch y el déficit de MMR.....	54
<b>Tabla 8.</b> Aspectos clínicos y morfológicos relacionados con el déficit de MMR en el cáncer de endometrio .....	59
<b>Tabla 9.</b> Revisión del Padrón Municipal de Habitantes .....	79
<b>Tabla 10.</b> Variantes histológicas según la clasificación de la OMS.....	83
<b>Tabla 11.</b> Distribución de las variables de acuerdo con el fenotipo MMR .....	93
<b>Tabla 12.</b> Distribución del IMC según fenotipo MMR .....	94
<b>Tabla 13.</b> Características demográficas de las muestras analizadas en función de la obesidad .....	94
<b>Tabla 14.</b> Distribución de las variables anatomopatológicas de acuerdo con el fenotipo MMR.....	97
<b>Tabla 15.</b> Características patológicas de las muestras analizadas en función de la obesidad.....	97
<b>Tabla 16.</b> Frecuencia de fenotipo MMR.....	104
<b>Tabla 17.</b> Modelo de regresión logístico.....	109
<b>Tabla 18.</b> Puntos de corte para la probabilidad de estimada de fenotipo MSI... ..	110
<b>Tabla 19.</b> Resultados de los diferentes supuestos dado el predictor. ....	111



# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estimación de la incidencia mundial de cáncer por localización en mujeres de todas las edades en el año 2020.....	7
<b>Figura 2.</b> Estimación de la incidencia mundial de cáncer de endometrio por países en mujeres de todas las edades en el año 2020.....	8
<b>Figura 3.</b> Incidencia de cáncer por localización en mujeres de todas las edades en España en el año 2020.....	9
<b>Figura 4.</b> Proyección de incidencias en el futuro.....	9
<b>Figura 5.</b> Distribución porcentual de las localizaciones más frecuentes en mujeres.....	10
<b>Figura 6.</b> Cáncer de endometrio. Comunidad autónoma de Canarias... ..	11
<b>Figura 7.</b> Cáncer de endometrio. Casos estimados por isla.....	11
<b>Figura 8.</b> Cáncer de endometrio asociado a la obesidad: vías hacia la carcinogénesis.....	15
<b>Figura 9.</b> Enfoque pragmático respaldado por la OMS para la clasificación molecular del cáncer de endometrio en la práctica clínica .....	34
<b>Figura 10.</b> Distribución de los histotipos en cada uno de los cuatro subtipos moleculares del cáncer de endometrio .....	38
<b>Figura 11.</b> Reconocimiento del mismatch.....	46
<b>Figura 12.</b> Unión de MutS.....	47
<b>Figura 13.</b> MutS dependiente de ATP, reclutamiento de MutL.....	47
<b>Figura 14.</b> Escisión del error.....	48
<b>Figura 15.</b> Reclutamiento de la exonucleasa 1.....	48
<b>Figura 16.</b> Escisión y reclutamiento de RPA.....	48
<b>Figura 17.</b> Resíntesis del ADN... ..	49
<b>Figura 18.</b> Diagrama de la vía de reparación del ADN.....	50
<b>Figura 19.</b> Heterodímeros proteicos de MMR.....	52
<b>Figura 20.</b> Déficit de MMR en el cáncer de endometrio.....	53

<b>Figura 21.</b> Algoritmo diagnóstico utilizado para el estudio inmunohistoquímico del heterodímero MSH2-MSH6.....	86
<b>Figura 22.</b> Algoritmo diagnóstico utilizado para el estudio inmunohistoquímico del heterodímero MLH1-PMS2. ....	86
<b>Figura 23.</b> Gráfico de ramas. Relación de los tipos de carcinoma endometrioides .....	96
<b>Figura 24.</b> Gráfico de ramas. Relación de los tipos de carcinoma no endometrioides.....	96
<b>Figura 25.</b> Carcinoma endometriode de endometrio FIGO 1.....	98
<b>Figura 26.</b> Carcinoma endometriode de endometrio FIGO 2 y 3.....	99
<b>Figura 27.</b> Carcinoma seroso de endometrio.....	100
<b>Figura 28.</b> Carcinoma mucinoso de endometrio.....	100
<b>Figura 29.</b> Carcinosarcoma.....	101
<b>Figura 30.</b> Carcinoma adenoescamoso.....	101
<b>Figura 31.</b> Carcinoma de células claras.....	102
<b>Figura 32.</b> Carcinoma mixto de endometrio.....	102
<b>Figura 33.</b> Invasión linfovascular .....	103
<b>Figura 34.</b> Fenotipo MSS.....	104
<b>Figura 35.</b> Fenotipo MSI.....	105
<b>Figura 36.</b> Fenotipo MSI.....	106
<b>Figura 37.</b> Características clínicas y morfológicas frente a obesidad .....	107
<b>Figura 38.</b> Fenotipo MMR frente a obesidad .....	108
<b>Figura 39.</b> Fenotipo MMR frente a subtipo histológico y grado FIGO .....	108
<b>Figura 40.</b> Área bajo la curva ROC .....	109

# ANEXOS







# An effective algorithm to detect the possibility of being MSI phenotype in endometrial cancer given the BMI status and histological subtype: a statistical study

Isabel González Villa<sup>1,2</sup> · Enrique Francisco González Dávila<sup>3</sup> · Idaira Jael Expósito Afonso<sup>4</sup> · Leynis Isabel Martínez Blanco<sup>4</sup> · Juan Francisco Loro Ferrer<sup>5</sup> · Juan José Cabrera Galván<sup>6</sup>

Received: 8 October 2021 / Accepted: 5 April 2022 / Published online: 5 May 2022  
© The Author(s) 2022

## Abstract

**Purpose** In endometrial cancer, the incidence of mutations in mismatch repair genes (MMR) is estimated at 17–30%. Patients with alterations at this level (MSI) are known to have different clinical and anatomopathological characteristics than those without this genetic alteration (MSS). In this study, we aim to identify the MSI phenotype in patients who underwent hysterectomy for endometrial cancer. We assessed the correlation of this phenotype with anatomoclinical parameters such as obesity and histological subtype.

**Methods/patients** Clinical and anatomopathological data were collected from 147 patients diagnosed with endometrial cancer and an immunohistochemical study of MMR system proteins was performed. PMS2 and MSH6 proteins were evaluated as primary screening and subsequent evaluation of MLH1 and MSH6, respectively, if the former were negative. Statistical association between the anatomopathological data and the immunohistochemical result was analyzed.

**Results and conclusions** 22.4% of our patients were MSI phenotype. We obtained statistically significant differences by multivariate analysis between endometrioid subtype and higher FIGO classification grade with MSI phenotype and obesity with MSS phenotype. Given these statistical results, we propose a function for predicting the probability of being MSI phenotype taking into account the histological subtype (endometrioid/non-endometrioid carcinoma) and FIGO grade as well as obesity. This prediction may be useful prior to hysterectomy, for genetic study of the MLH1 promoter and subsequent genetic counseling.

**Keywords** Endometrial neoplasms · DNA mismatch repair deficiency · MSI phenotype · Immunohistochemistry · Body mass index

✉ Juan José Cabrera Galván  
juanjose.cabrera@ulpgc.es

Isabel González Villa  
isabelglezv@gmail.com

Enrique Francisco González Dávila  
egonzale@ull.edu.es

Idaira Jael Expósito Afonso  
ijexpafo@gmail.com

Leynis Isabel Martínez Blanco  
leynis.martinezblanco@gmail.com

Juan Francisco Loro Ferrer  
juanfrancisco.loro@ulpgc.es

<sup>1</sup> Pathological Anatomy Service, Canary University Hospital, Tenerife, Spain

<sup>2</sup> Faculty of Health Sciences, University of Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

<sup>3</sup> Department of Mathematics, Statistics and Operations Research, University of La Laguna, Tenerife, Spain

<sup>4</sup> Pathological Anatomy Service, Nuestra Señora de Candelaria University Hospital, Canary Islands Health Service, Tenerife, Spain

<sup>5</sup> Department of Clinical Sciences, Faculty of Health Sciences, University of Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

<sup>6</sup> Pathological Anatomy Unit, Morphology Department, University Institute for Biomedical and Health Research (IUIBIS), University of Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

## Introduction

Endometrial cancer is the seventh most common in incidence worldwide, being the fourth most common in women in Spain, with 6,874 new diagnoses in 2018, and the fourth most common in incidence in the autonomous community of the Canary Islands, with 298 cases [1]. On the island of Tenerife, 137 new cases were diagnosed that year [2].

In endometrial cancer, the incidence of mutations in mismatch repair genes (MMR) is estimated at 17–30% [3–5]. The proteins of the MMR system are arranged in dimers, MLH1 together with PMS2 and MSH2 together with MSH6. The dominant proteins are MLH1 and MSH2, respectively, while PMS2 and MSH6 are unstable proteins when unpaired. Based on the functional structure of the heterodimer, it is feasible to perform an immunohistochemical panel of PMS2 and MSH6 markers as primary screening for MMR deficiency [6]. The study of the microsatellite instability (MSI) phenotype by these techniques is validated by standardized guidelines that confirm the direct association between MMR genetic study and protein assessment [7–9]. The distinction between patients with MSI phenotype and those with stable phenotype (MSS) allows the identification of patients who are candidates for MMR germline testing and the differentiation of Lynch syndrome cases from sporadic cases, as they present different anatomoclinical, prognostic and therapeutic factors [4].

Despite the scarce literature correlating MSI status and endometrial cancer, several studies have suggested that any histological subtype of endometrial cancer can be MSI, with a distribution similar to that found in the MSS population [4, 10–14].

One of the best known risk factors associated with endometrial cancer is obesity [15]. Thus, women with a higher body mass index (BMI) have been studied to have an increased risk of endometrial cancer with the MSS phenotype, but not with the MSI phenotype. Therefore, a differentiated risk of endometrial cancer associated with BMI based on the MMR phenotype is suggested [15–17].

To our knowledge, there are no statistical algorithms that predict the probability of having MSI phenotype in relation to anatomoclinical factors such as obesity and histological subtype, which motivates the present work.

## Material and methods

We conducted a *prospective observational case study* of all patients diagnosed with endometrial cancer after undergoing total hysterectomy at the Anatomic Pathology Department of the Complejo Hospitalario Universitario

de Canarias (Tenerife, Spain) from January 2017 to May 2020 (40 months). The geographical reference area of this center is the northern area and the Isla Baja region of the island of Tenerife with a population census of 187,998 women as of 1 January 2018 [18].

## Inclusion and exclusion criteria

We included in this work patients over 18 years who had undergone total hysterectomy for endometrial cancer from January 2017 to May 2020 in our hospital. Inclusion criteria consisted of a previous endometrial biopsy performed at the hospital center and a clinical history that included data on body mass index, pre- or postmenopausal status, and the presence of previous tumor pathology. Tumor location (uterine cavity or lower uterine segment) in the macroscopic report was also considered an inclusion criterion. Cases that did not meet these criteria were excluded.

## Clinical data

Clinical data were extracted from the center's electronic record. The variables collected were age at diagnosis (dividing patients into those older and younger than 70 years according to 19, 20), pre- or post-menopausal status, BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), existence of previous tumor pathology, and death during the study as a consequence of such pathology.

BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) was collected according to nutritional status: underweight (if BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) < 18.5), normal weight (18.5–24.9), overweight (25–29.9), obese I (30–34.9), obese II (35–39.9) and obese III (greater than 40) [21]. Also, for statistical reasons, patients were divided into non-obese (BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) < 30) and obese (BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )  $\geq$  30) [22].

## Pathological aspects

Hysterectomy specimens were fixed in 10% buffered formaldehyde for 24–72 h and subsequently, histological sections were embedded in paraffin. Sections of 3  $\mu\text{m}$  were made and stained with conventional hematoxylin–eosin. The diagnosis was confirmed independently by three subspecialized pathologists in gynecological pathology and any discrepancies between them were resolved by consensus.

The anatomopathological variables analyzed were the macroscopic location of the tumor in the uterine cavity or in the lower uterine segment [23], the histological subtype according to the criteria of the World Health Organization (WHO, 2020 5th Edition), and its classification according to the FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) system [24], the presence or absence of lymphovascular invasion, the pathological staging according to the

AJCC TNM indications (8th edition) [25] and the presence of associated non-tumor pathology.

### Immunohistochemical study

An immunohistochemical study of DNA repair proteins was performed. Staining was performed on 3 µm thick sections on automated silanized slides. We used four prediluted antibodies (prediluted and incubated for 60 min–each one), from the ROCHE VENTANA immunohistochemistry panel: for MLH1, mouse anti-human monoclonal antibody, clone M1 (1 µg/mL); for PMS2, mouse anti-human monoclonal antibody, clone A16-4 (1 µg/mL); for MSH2, mouse anti-human monoclonal antibody, clone G219-1129 (1 µg/mL); and for MSH6, rabbit anti-human monoclonal antibody, clone SP93 (1 µg/mL).

The presence or absence of nuclear staining was assessed. Corresponding normal tissue (non-tumor epithelial cells as well as lymphocytes and endometrial stromal cells) provided a positive internal control.

Taking into account the immunohistochemical panel for MMR proteins of Hall et al. [6], PMS2 and MSH6 expression is assessed first and, in case of loss of nuclear expression, MLH1 and MSH2 are studied, respectively to differentiate isolated from concomitant loss.

The immunohistochemical variables assessed were expression of intact nuclear protein (MSS phenotype) and loss of nuclear expression of any protein (MSI phenotype) [26, 27].

### Statistical analysis

Statistical analysis was performed using IBM Statistics SPSS V25.0 software, being considered significant when  $p$  value  $< 0.05$ . For the comparison of continuous variables in two groups, the Student  $t$  test and contingency tables (chi-square test and Fisher's exact test for  $2 \times 2$  tables) were used for the comparison of categorical variants. A logistic regression model was used for the prediction of MSI (where  $p(MSI)$  = probability of being MSI) with the backward (Wald) method for variable selection. Initially, the variables age, pre- or post-menopausal status, BMI status (obese or non-obese), pathological staging (pT1, pT2, pT3, and pT4), macroscopic tumor location, and histological type and grade (non-endometrioid, endometrioid grade 1, grade 2 and grade 3) were entered. The area under the ROC curve (AUROC) was calculated. With the selected variables, the linear predictor  $\eta$  was constructed, obtaining the estimated probability of being MSI from the formula [28]:

$$\widehat{p(MSI)} = e^{\eta} / (1 + e^{\eta}) \quad (1)$$

where  $e$  represents the exponential. Data were described by showing the mean  $\pm$  standard deviation for continuous variables and the frequency (%) for categorical variables.

### Results

The total number of cases under study was 147 patients with a mean age of 64.3 (11.7) years, ranging from 39 to 91 years, with 36.1% of patients being over 70 years of age (Table 1). Of the patients, 82.3% (121/147) were postmenopausal and 6.1% (9/147) had previous tumor pathology (six diagnosed with breast cancer, one with renal cancer, one with thyroid cancer, and one with bladder cancer). During the study period, 10 patients died as a result of endometrial pathology.

According to BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) status, 37 patients were normal weight, 30 were overweight, 32 obese I, 23 obese II, 22 obese III, and 3 obese IV. There were 67 non-obese patients and 80 obese patients (54.5%).

The macroscopic tumor lesion was located in the endometrial cavity in 136 (92.5%) patients and 18.4% had lymphovascular invasion. According to histological type, 124 cases (84.4%) were endometrioid carcinoma, of which 95 were grade 1, 18 grade 2, and 11 grade 3. The 23 patients with non-endometrioid carcinoma were divided into 13 serous carcinomas, 5 carcinosarcomas, 2 mixed carcinomas (one serous, clear cell, and endometrioid; the other serous and clear cell), one mucinous carcinoma, one adenosquamous carcinoma, and one clear cell carcinoma. Stage pT1 was the most frequent with 126 (85.7%) patients (94 cases pT1a and 32 cases pT1b), 13 pT2, 5 pT3a, 2 pT3b, and one pT4. The associated non-tumoral endometrial pathology was varied, with hyperplasia standing out in 32 cases (21.8%).

A total of 114 tumors had intact nuclear protein expression, MSS (Fig. 1) and 33 protein loss, MSI (22.4%), of which 25 were due to loss of MLH1 and PMS2 expression, and 8 due to loss of MSH2 and MSH6 expression (Fig. 2). No cases were identified with isolated loss of PMS2 or MSH6 expression.

No differences were detected in the demographic characteristics or anatomopathological features of the patients based on obesity. Of obese patients, 36% were MSI compared to 64% of non-obese patients ( $p = 0.018$ ) (Fig. 3a). Table 1 shows the data according to the distribution of patients in MSI or MSS. Apart from obesity, there were statistically significant differences in histological type ( $p = 0.023$ ) (Fig. 3b), divided into non-endometrioid and endometrioid subtypes of FIGO grades 1, 2, and 3.

The variables that remained within the logistic regression model were obesity ( $p = 0.018$ ), and histological type (endometrioid–non-endometrioid) and FIGO grade in endometrioid carcinomas ( $p = 0.023$ ). The logistic regression model (Table 2), indicates that non-obese endometrial cancer patients

**Table 1** Distribution of the variables collected according to the MMR phenotype

	Total (N= 147)	MSI (N= 33)	MSS (N= 114)	p value
Age at diagnosis (years)	64.3 ± 11.7	64.9 ± 11.5	64.1 ± 11.8	0.724
Age at diagnosis				0.838
< 70	94 (63.9)	22 (66.7)	72 (63.2)	
≥ 70	53 (36.1)	11 (33.3)	42 (36.8)	
Post-menopausal status	121 (82.3)	27 (81.8)	94 (82.5)	0.933
Obesity	80 (54.5)	12 (36.4)	68 (59.6)	0.018
Previous tumor pathology	9 (6.1)	4 (12.1)	5 (4.4)	0.115
Death	10 (6.8)	1 (3.0)	9 (7.9)	0.458
Histological subtype				0.023
Non-endometrioid	23 (15.6)	3 (9.1)	20 (17.5)	
Endometrioid	124 (84.3)	30 (90.9)	94 (82.5)	
Grade 1	95 (64.6)	18 (54.5)	77 (67.6)	
Grade 2	18 (12.2)	6 (18.2)	12 (10.5)	
Grade 3	11 (7.4)	6 (18.2)	5 (4.4)	
Stage				0.249
pT1	126 (85.7)	29 (87.9)	97 (85.1)	
pT2	13 (8.8)	2 (6.1)	11 (9.6)	
pT3	7 (4.7)	1 (3.0)	6 (5.3)	
pT4	1 (0.6)	1 (3.0)	-	
Stage				0.538
pT1a	94 (63.9)	23 (69.7)	71 (62.3)	
Rest	53 (36.0)	10 (30.3)	43 (37.7)	
Macroscopic location				0.711
Uterine cavity	136 (92.5)	30 (90.9)	106 (93.0)	
Lower uterine segment	11 (7.4)	3 (9.1)	8 (7.0)	
Lymphovascular invasion	27 (18.4)	8 (24.2)	19 (16.7)	0.318
Associated non-tumor pathology				0.345
Absent	37 (25.1)	6 (18.2)	31 (27.2)	
Atrophy	22 (14.9)	4 (12.1)	18 (15.8)	
Hyperplasia	32 (21.8)	6 (18.2)	26 (22.8)	
Others (polyps, leiomyomas, ...)	56 (38.0)	17 (51.5)	39 (34.2)	

are 2.487 (95% CI 1.087, 5.690,  $p=0.031$ ) times more likely to be MSI than obese and that endometrioid grade 3 is 7.866 (95% CI 1.395, 44.370,  $p=0.019$ ) times more likely to be MSI than non-endometrioid histological type. Overall, both grade 1 and 2 had Odds ratios of 1.583 and 3.109 in favor of MSI over the non-endometrioid group, although these were not significant. The ROC curve is shown in Fig. 4.

The area under the ROC curve is 0.683 (95% CI 0.576, 0.790;  $p=0.001$ ) (Fig. 4). For a false positive rate of 20% it has a sensitivity of 46.1%. From Table 2 we obtain the expression of the linear predictor,  $\eta$ , as follows:

$$\begin{aligned} \eta = & -2,369 + 0,911 * (\text{if Non - obese}) \\ & + 0,459 * (\text{if Endometrioid Grade1}) \\ & + 1,1 * (\text{if Endometrioid Grade2}) \\ & + 2,063 * (\text{if Endometrioid Grade3}) \end{aligned}$$

For example, if we have a non-obese woman and endometrioid carcinoma grade 3:

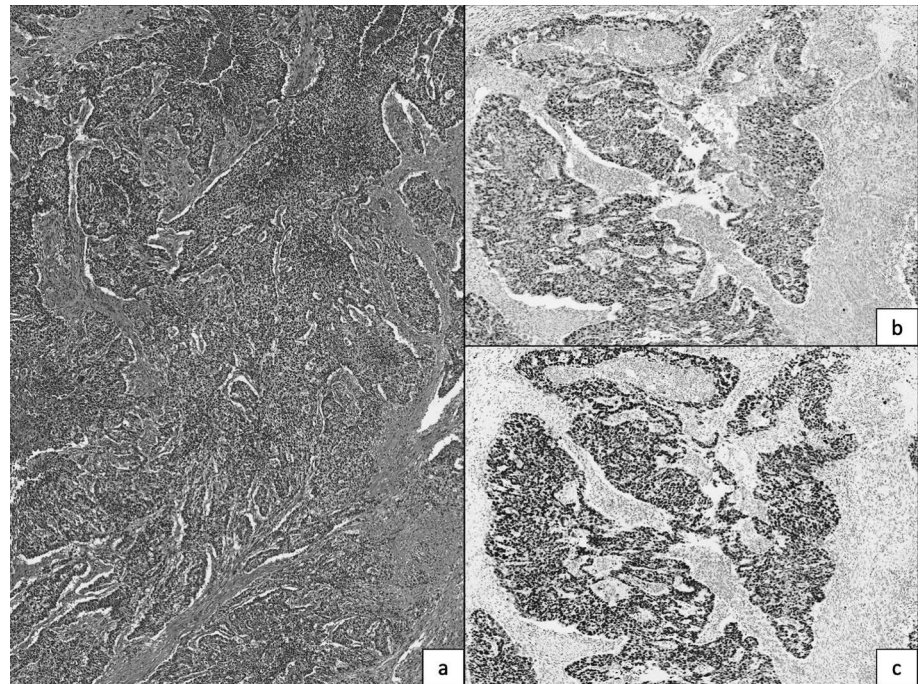
$$\eta = -2,369 + 0,911 + 2,063 = 0,604$$

So  $p(\widehat{MSI}) = 0,647$ , i.e., she would have a 64.7% probability of being MSI. If she were obese with the same degree, this probability would be 42.4%, according to the Eq. (1).

## Discussion

In this study, we identified the MSI phenotype in patients diagnosed with endometrial cancer using immunohistochemical techniques. Following the recommendations of standardized guidelines [7–9], we analyzed its association

**Fig. 1** An example of a MSS phenotype case. **a** H&E ( $\times 10$ ): Grade 3 endometrioid carcinoma of endometrium. **b** IHC PMS2: Intact nuclear protein expression. **c** IHC MSH6: Intact nuclear protein expression



with clinical variables such as obesity and anatomopathological variables as histological subtypes.

MMR proteins are functionally arranged in heterodimers, MLH1 together with PMS2 and MSH2 together with MSH6. Based on their functional structure, it is possible to perform an immunohistochemical panel of PMS2 and MSH6 markers as primary screening for MMR deficiency [6]. For immunohistochemical assessment we have taken into account the presence or absence of nuclear staining [26, 27, 29], accepting that any positive reaction of tumor cells is considered intact protein expression (MSS phenotype) and that loss of expression, with positive internal control, is considered MSI phenotype. However, there are other ways of assessing this immunohistochemical expression, such as that performed by Barrow et al. [30] using a semi-quantitative study of nuclear staining intensity. In our opinion, the evaluation system we have used is sufficient for the determination of the MSI phenotype, as has already been used [29, 31].

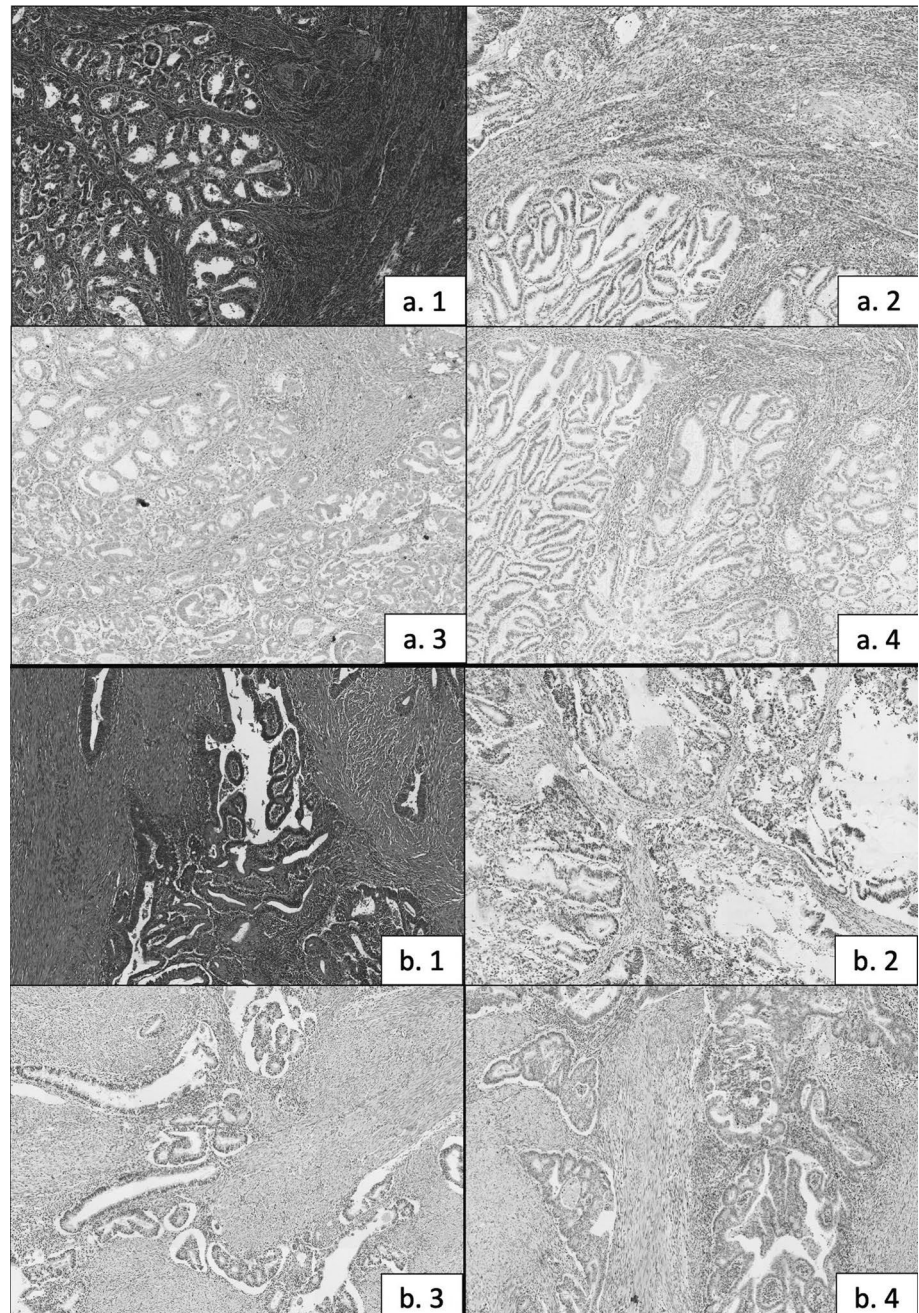
In the present study, 22.4% (33/147) of the patients had MSI phenotypes, which is very similar to other series [4, 15, 17, 26]. The percentage of loss of the MLH1–PMS2 complex was 17% (25/147) while that of the MSH2–MSH6 complex was 5.4% (8/147), with no isolated loss of PMS2 or MSH6 expression identified. This high percentage of MLH1 loss in endometrial cancer can be largely attributed to hypermethylation of the MLH1 gene promoter and not to MMR gene mutations [31]. If we compare our data with those of other series with a similar percentage of MSI phenotype, we can say that loss of the MLH1–PMS2 complex is found in a very similar proportion (15.7% in the series of Joehlin Price

et al. [31] and 15.5% in that of Doghri et al. [4]) while the proportion of MSH2–MSH6 loss is somewhat higher (1.9% in the series of Joehlin Price et al. [31] and 2.22% in that of Doghri et al. [4]). We believe that these differences may be due to the fact that in our series we did not identify isolated loss of PMS2 or MSH6, whereas in the series of Joehlin Price et al. [31] the loss of PMS2 is as high as 22%.

In relation to histological subtype, 84.4% were endometrioid carcinomas (124/147), 10.8% were serous (13/147) and the rest (carcinosarcomas, mixed, mucinous, adenosquamous, and clear cell carcinomas) accounted for 4.8% (10/147), with no undifferentiated or undifferentiated carcinomas in our series, figures that coincide with those published by the WHO (2020, 5th Edition). For statistical analysis, we divided the tumors according to histological subtype into endometrioid (84.4%) and non-endometrioid (15.6%). The association between MMR protein deficiency and histological subtype of endometrial cancer is not fully established. Some authors propose that MSI status is more characteristic of endometrioid carcinoma [10–12], while others claim that it is present in both endometrioid carcinomas and non-endometrioid subtypes in the same proportion [13, 31–33]. In our series, 90.9% (30/33) of MSI patients were endometrioid subtype ( $p=0.023$ ) (Table 1), evidencing the association between MSI status and endometrioid subtype described in other series [10–12].

Apart from the histological subtype, other anatomopathological features associated with MSI status have been considered. Thus, based on studies on the MSI status of colon cancer, Bartosch et al. [14] established several variables to

**Fig. 2** Two examples of MSI phenotype cases. **a. 1** H&E ( $\times 10$ ): Grade 1 endometrioid carcinoma of endometrium. **a. 2** IHC MSH6: Intact nuclear protein expression. **a. 3** IHC PMS2: Loss of protein expression. **a. 4** IHC MLH1: Loss of protein expression. **b. 1** H&E ( $\times 10$ ): Grade 2 endometrioid carcinoma of endometrium. **b. 2** IHC PMS2: Intact nuclear protein expression. **b. 3** IHC MSH6: Loss of protein expression. **b. 4** IHC MSH2: Loss of protein expression

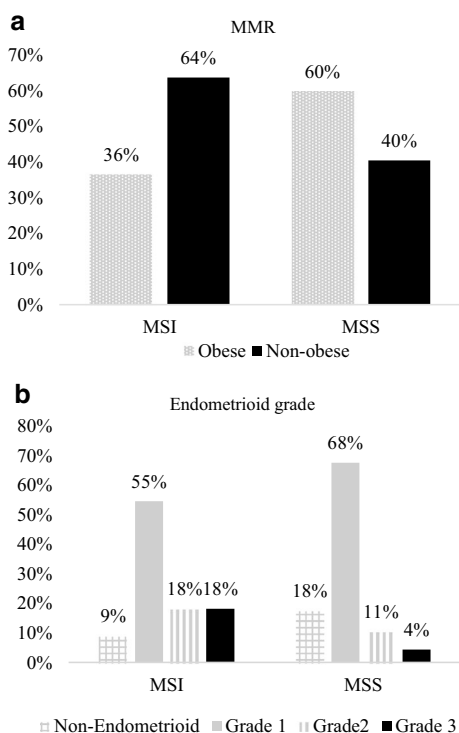


identify the anatomopathological aspects of MSI endometrial cancer: intense immune response manifested as peritumoral infiltration and infiltrating lymphocytes in the tumor, mucinous differentiation, morphological heterogeneity, and location in the lower uterine segment [23], as well as being associated with higher grade, presence of lymphovascular invasion and higher stage.

In our study, we found no statistically significant differences in terms of location in the lower uterine segment, higher stage, or the presence of lymphovascular invasion.

However, when we evaluated differences in FIGO grade classification in endometrioid carcinomas, we found differences between those with the MSI phenotype versus the MSS phenotype. There was a predominance of FIGO grade 3 in endometrioid carcinomas with the MSI phenotype compared to those with the MSS phenotype (Table 2).

Regarding the presence of other pathologies in the histological study, Shia et al. [7] found statistically significant differences between the presence of endometrial hyperplasia in MSI cases compared to MSS. In our case, we



**Fig. 3** **a** Confronting the MMR phenotype against obesity. 64% of MSI patients are non-obese. While 60% of MSS patients are obese. **b** Confronting the MMR phenotype against the FIGO grade of endometrioid carcinomas. In both cases, most patients present with grade 1 endometrioid carcinoma

assessed the presence of hyperplasia, atrophy, and other non-neoplastic endometrial pathologies (polyps, leiomyomas, endometriosis) in both groups without finding statistical significance.

Obesity is one of the best-known risk factors for endometrial cancer [15]. For its measurement, the most accessible and widely used variable has been BMI (kg/m<sup>2</sup>) [15–17]. The percentage of obese women in Spain (BMI (kg/m<sup>2</sup>) ≥ 30) is 16.6% of the population, but in the autonomous community of the Canary Islands, it is 18.8%

[34]. We divided the patients according to BMI (kg/m<sup>2</sup>) status, with 45.5% being non-obese patients and 54.5% obese patients, a much higher percentage than in the general population. In this study (Table 1), almost 60% of the MSS patients were obese (BMI (kg/m<sup>2</sup>) ≥ 30) (*p* = 0.018). If we compare the results with the literature, we observe that they are similar to studies by McCourt et al. [16], Cohn et al. [17], and Joehlin-Price et al. [26] agreeing that the higher the BMI (kg/m<sup>2</sup>), the higher the risk of MSS endometrial cancer. While in the series by Amankwa et al. [15], they found that patients with BMI (kg/m<sup>2</sup>) ≥ 30 had twice the risk of being MSI than MSS.

As reflected in the results from our multivariate study, the variables that remained within the logistic regression model were obesity, histological subtype along with FIGO classification grade, and MSI phenotype.

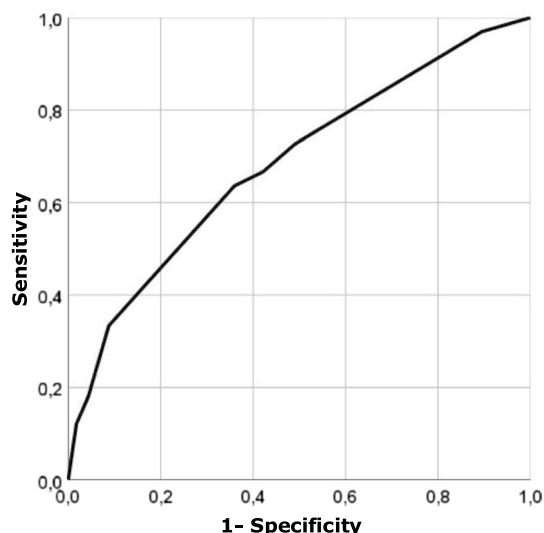
Accordingly (Table 2), we observed that endometrial cancer patients with BMI (kg/m<sup>2</sup>) < 30 are 2.4 times more likely to be MSI than those with BMI (kg/m<sup>2</sup>) ≥ 30 while those with a diagnosis of FIGO grade 3 endometrioid carcinoma are 7.8 times more likely to be MSI than those with a diagnosis of non-endometrioid carcinoma.

This study demonstrates that by applying the predictive equation and as reflected in our results, we can obtain an estimated probability that a patient, given her histological subtype (endometrioid or non-endometrioid) and FIGO grade, as well as her BMI (kg/m<sup>2</sup>) (< 30 or ≥ 30), is an MSI phenotype.

In conclusion, and for clinical practice, both variables, obesity in the clinical history and the histological subtype through previous biopsy, would allow us to determine the probability that the patient is of MSI phenotype, data that would be subsequently confirmed in the hysterectomy specimen with the study of MMR proteins, as recommended by the NCCN [29], except in very specific cases. This information can be of great use when planning a genetic study of the MLH1 promoter and subsequent genetic counseling.

**Table 2** Logistic regression model for the prediction of MSI

	Coefficient	s.e	<i>p</i> value	Odds ratio (OR)	IC <sub>95%</sub> for OR
Non-obese (Ref. Obese)	0.911	0.422	0.031	2.487	(1.087; 5.690)
Endometrioid grade (Ref. Non-endometrioid)			0.048		
Grade 1	0.459	0.681	0.500	1.583	(0.417; 6.008)
Grade 2	1.134	0.808	0.161	3.109	(0.637; 15.160)
Grade 3	2.063	0.883	0.019	7.866	(1.395; 44.370)
Constant	- 2.520	0.699	0.0000	0.080	



**Fig. 4** An ROC curve for obesity, histological type (endometrioid-non-endometrioid) and FIGO grade (in endometrioid carcinoma). The area under the ROC curve is 0.683

**Acknowledgements** The authors would like to thank Lena Peñate Spicer for manuscript translation and revision.

**Funding** Open Access funding provided thanks to the CRUE-CSIC agreement with Springer Nature. There is no funding sources.

**Data availability** Not applicable.

**Code availability** Not applicable.

## Declarations

**Conflict of interest** The authors declare that they have no conflict of interest.

**Ethical approval** The project was approved by the Research Ethics Committee of the Complejo Hospitalario Universitario de Canarias. The processing of personal data required in this study is regulated by the Organic Law on Personal Data Protection 15/1999.

**Consent for publication** All authors gave their consent for publication and we provide the statement.

**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

## References

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer*. 2019. <https://doi.org/10.1002/ijc.31937>.
2. Alemán Herrera A, Rojas Martín MD, Red Española de Registros de Cáncer. Estimaciones de la incidencia de cáncer. *Canarias 2018*. Red Española Regist Cáncer. 2019;1–20. [https://www3.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs/content/8e1d1c9c-43fd-11e9-af3a-bd8e6246c9be/Estimacion\\_Incidencia\\_Cancer\\_Canarias2018.pdf](https://www3.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs/content/8e1d1c9c-43fd-11e9-af3a-bd8e6246c9be/Estimacion_Incidencia_Cancer_Canarias2018.pdf)
3. Risinger JI, Berchuck A, Kohler MF, Watson P, Lynch HT, Boyd J. Genetic instability of microsatellites in endometrial carcinoma. *Cancer Res*. 1993;53(21):5100–3 (PMID: 8221644).
4. Doghri R, Houcine Y, Boujelbène N, et al. Mismatch repair deficiency in endometrial cancer: immunohistochemistry staining and clinical implications. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(9):678–82. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000641>.
5. Colle R, Cohen R, Cochereau D, Duval A, Lascols O, Lopez-Trabada D, et al. Immunotherapy and patients treated for cancer with microsatellite instability. *Bull Cancer*. 2017;104(1):42–51. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2016.11.006>.
6. Hall G, Clarkson A, Shi A, Langford E, Leung H, Eckstein RP, et al. Immunohistochemistry for PMS2 and MSH6 alone can replace a four antibody panel for mismatch repair deficiency screening in colorectal adenocarcinoma. *Pathology*. 2010;42(5):409–13. <https://doi.org/10.3109/00313025.2010.493871>.
7. Shia J, Black D, Hummer AJ, Boyd J, Soslow RA. Routinely assessed morphological features correlate with microsatellite instability status in endometrial cancer. *Hum Pathol*. 2008;39(1):116–25. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2007.05.022> (Erratum. In: *HumPathol*. 2008; Jul; 39(7):1122).
8. Shia J, Ellis NA, Klimstra DS. The utility of immunohistochemical detection of DNA mismatch repair gene proteins. *Virchows Arch*. 2004;445(5):431–41. <https://doi.org/10.1007/s00428-004-1090-5>.
9. Klarskov L, Ladelund S, Holck S, Roenlund K, Lindebjerg J, Elebro J, et al. Interobserver variability in the evaluation of mismatch repair protein immunostaining. *Hum Pathol*. 2010;41(10):1387–96. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2010.03.003>.
10. Tibiletti MG, Furlan D, Taborelli M, Facco C, Riva C, Franchi M, et al. Microsatellite instability in endometrial cancer: relation to histological subtypes. *Gynecol Oncol*. 1999;73(2):247–52. <https://doi.org/10.1006/gyno.1999.5351>.
11. Catusas L, Machin P, Matias-Guiu X, Prat J. Microsatellite instability in endometrial carcinomas: clinicopathologic correlations in a series of 42 cases. *Hum Pathol*. 1998;29(10):1160–4. [https://doi.org/10.1016/s0046-8177\(98\)90430-0](https://doi.org/10.1016/s0046-8177(98)90430-0).
12. Black D, Soslow RA, Levine DA, Tornos C, Chen SC, Hummer AJ, et al. Clinicopathologic significance of defective DNA mismatch repair in endometrial carcinoma. *J Clin Oncol*. 2006;24(11):1745–53. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.04.1574>.
13. Backes FJ, Leon ME, Ivanov I, Suarez A, Frankel WL, Hampel H, et al. Prospective evaluation of DNA mismatch repair protein expression in primary endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2009;114(3):486–90. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2009.05.026>.
14. Bartosch C, Clarke B, Bosse T. Gynaecological neoplasms in common familial syndromes (Lynch and HBOC). *Pathology*. 2018;50(2):222–37. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2017.10.010>.



15. Amankwah EK, Friedenreich CM, Magliocco AM, Brant R, Courneya KS, Speidel T, et al. Anthropometric measures and the risk of endometrial cancer, overall and by tumor microsatellite status and histological subtype. *Am J Epidemiol*. 2013. <https://doi.org/10.1093/aje/kws434>.
16. McCourt CK, Mutch DG, Gibb RK, Rader JS, Goodfellow PJ, Trinkaus K, et al. Body mass index: relationship to clinical, pathologic and features of microsatellite instability in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2007;104(3):535–9. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2006.09.019>.
17. Cohn DE, Pavelka JC, Frankel WL, Morrison CD, Hampel H, Copeland LJ, et al. Correlation between patient weight and defects in DNA mismatch repair: is this the link between an increased risk of previous cancer in thinner women with endometrial cancer? *Int J Gynecol Cancer*. 2008;18(1):136–40. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1438.2007.00964.x>.
18. Santa Cruz de Tenerife: Población por municipios y sexo. Available from: <https://www.ine.es/jaxiT3/Datos.htm?t=2892#!tab=tabla>. Accessed 22 Mar 2021
19. Koual M, Ngo C, Girault A, Lécuru F, Bats AS. Endometrial cancer in the elderly: does age influence surgical treatments, outcomes, and prognosis? *Menopause*. 2018;25(9):968–76. <https://doi.org/10.1097/GME.0000000000001119>.
20. Alektiar KM, Venkatraman E, Abu-Rustum N, et al. Is endometrial carcinoma intrinsically more aggressive in elderly patients? *Cancer*. 2003;98(11):2368–77. <https://doi.org/10.1002/cncr.1183>.
21. Bhaskaran K, Dos-Santos-Silva I, Leon DA, Douglas IJ, Smeeth L. Association of BMI with overall and cause-specific mortality: a population-based cohort study of 3.6 million adults in the UK. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018;6(12):944–53. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)30288-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30288-2).
22. Win AK, Dowty JG, Antill YC, English DR, Baron JA, Young JP, et al. Body mass index in early adulthood and endometrial cancer risk for mismatch repair gene mutation carriers. *Obstet Gynecol*. 2011;117(4):899–905. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3182110ea3>.
23. Westin SN, Lacour RA, Urbauer DL, Luthra R, Bodurka DC, Lu KH, et al. Carcinoma of the lower uterine segment: a newly described association with lynch syndrome. *J Clin Oncol*. 2008;26(36):5965–71. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.18.6296>.
24. Soslow RA, Tornos C, Park KJ, Malpica A, Matias-Guiu X, Oliva E, et al. Endometrial carcinoma diagnosis: use of FIGO grading and genomic subcategories in clinical practice: Recommendations of the International Society of Gynecological Pathologists. *Int J Gynecol Pathol*. 2019. <https://doi.org/10.1097/PGP.00000000000000518>.
25. Amin MB, Edge SB, Greene FL. *AJCC cancer staging manual*. Springer; 2017.
26. Doulgeraki T, Vagios S, Kavoura E, Yiannou P, Messini I, Nonni A, Papadimitriou C, Vlachos A, Pavlakis K. Mismatch repair status in high-grade endometrial carcinomas of endometrioid and non-endometrioid type. *J BUON*. 2019;24(5):2020–7.
27. Rabban JT, Calkins SM, Karnezis AN, Grenert JP, Blanco A, Crawford B, Chen LM. Association of tumor morphology with mismatch-repair protein status in older endometrial cancer patients: implications for universal versus selective screening strategies for Lynch syndrome. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(6):793–800. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000177>.
28. Rossi RJ. *Applied biostatistics for the health sciences*. Edt: Wiley; 2009.
29. Koh WJ, Abu-Rustum NR, Bean S, Bradley K, Campos SM, Cho KR, et al. Uterine neoplasms, Version 1.2018, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Cancer Netw*. 2018;16(2):170–99. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2018.0006>.
30. Barrow E, Jagger E, Brierley J, Wallace A, Evans G, Hill J, et al. Semiquantitative assessment of immunohistochemistry for mismatch repair proteins in Lynch syndrome. *Histopathology*. 2010;56(3):331–44. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2010.03485.x>.
31. Joehlin-Price AS, Perrino CM, Stephens J, Backes FJ, Goodfellow PJ, Cohn DE, et al. Mismatch repair protein expression in 1049 endometrial carcinomas, associations with body mass index, and other clinicopathologic variables. *Gynecol Oncol*. 2014;133(1):43–7. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.01.017>.
32. Garg K, Leitao MM, Kauff ND, Hansen J, Kosarin K, Shia J, et al. Selection of endometrial carcinomas for DNA mismatch repair protein immunohistochemistry using patient age and tumor morphology enhances detection of mismatch repair abnormalities. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(6):925–33. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e318197a046>.
33. Shikama A, Minaguchi T, Matsumoto K, Akiyama-Abe A, Nakamura Y, Michikami H, et al. Clinicopathologic implications of DNA mismatch repair status in endometrial carcinomas. *Gynecol Oncol*. 2016;140(2):226–33. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2015.11.032>.
34. Índice de masa corporal población adulta según sexo y comunidad autónoma. Población de 18 y más años. Available from: <https://www.ine.es/jaxi/Datos.htm?path=/t15/p420/a2014/p06/10/&file=01004.px#!tab=mapa>. Accessed 22 Mar 2021.

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.





**XXVIII REUNIÓN ATECAN. XXIV REUNIÓN APIAM**

**6-8 DE DICIEMBRE DE 2018**

**MADEIRA, PORTUGAL**

## **COMUNICACIÓN ORAL: IMPLEMENTACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE CÁNCER DE ENDOMETRIO CON FENOTIPO MSI**

En el cáncer de endometrio la incidencia de mutaciones de los genes de reparación del ADN (MMR) se estima en un 17-30%. No existen criterios clínicos o morfológicos determinantes de déficit de MMR en el cáncer de endometrio. Pero sí que es importante conocer que existen una serie de características muy frecuentes a este tipo de tumores como son los linfocitos infiltrantes en el tumor, la diferenciación mucinosa, la heterogeneidad morfológica y la predisposición por la localización en el segmento uterino inferior.

En este estudio nos proponemos determinar las características clínicas y morfoinmunohistoquímicas del cáncer de endometrio dividiendo a los casos en base a su localización macróscópica. Ya sea si se encuentra el tumor en el segmento uterino inferior o en la cavidad uterina.

Se toman como potenciales sujetos a estudio todas las pacientes diagnosticadas de carcinoma de endometrio a las que se les ha realizado histerectomía en el Complejo Hospital Universitario de Canarias desde enero

2017 hasta noviembre de 2018, un total de 62 pacientes. Se realiza estudio inmunohistoquímico de las proteínas PMS2 y MSH6 como screening primario. Si fuera negativo, se estudia MLH1 o MSH2 respectivamente. En los casos de pérdida proteica de MLH1 se estudian posibles mutaciones en el gen BRAF. Valoramos la localización tumoral macroscópica y el estudio inmunohistoquímico, y se compara para las combinaciones de características morfológicas del tumor, presencia de invasión linfovascular y la edad de la paciente en el momento del diagnóstico. Encontramos diferencias estadísticamente significativas ( $p$  valor  $< 0.05$ ) entre la localización en el segmento uterino inferior y la presencia de invasión linfovascular y un estadio más alto. No encontramos diferencias entre estos dos grupos al estudiar la edad al diagnóstico, el subtipo histológico (dividiendo en carcinomas endometrioides y no endometrioides) y el grado de FIGO.



**XXIX CONGRESO SEAP-IAP.**  
**XXIV CONGRESO SEC. V CONGRESO SEPAF**  
**22-24 DE MAYO DE 2019**  
**GRANADA, ESPAÑA**

**COMUNICACIÓN ORAL: USO DEL SCREENING UNIVERSAL DE DÉFICIT DE MMR POR IHQ EN CÁNCER DE ENDOMETRIO. EXPERIENCIA EN NUESTRA ÁREA**

El síndrome de Lynch (SL) es una predisposición a padecer cáncer debido a una mutación heterocigota autosómica dominante, en línea germinal, de uno de los cuatro genes MMR (genes reparadores). Ello da lugar a una pérdida de la proteína codificada. Si el ADN no puede repararse a sí mismo, se produce una acumulación de mutaciones somáticas y, por tanto, una fuerte predisposición a un espectro de cáncer. Cuando este déficit de MMR ocurre en línea somática, observamos la ausencia de las proteínas que codifican estos genes, es decir, el fenotipo. El más frecuente, en este caso, es el silenciamiento epigenético del gen MLH1 por hipermetilación de su promotor.

Con este estudio, nos proponemos determinar un esquema óptimo para la identificación de pacientes con alteraciones en las proteínas del sistema MMR en cáncer de endometrio.

Se toman como potenciales sujetos a estudio todas las pacientes diagnosticadas de carcinoma de endometrio a las que se les ha realizado

histerectomía en nuestro Centro desde enero 2017 hasta la actualidad, un total de 96 pacientes. Se realiza estudio IHQ de las proteínas PMS2 y MSH6 como screening primario. Si fuera negativo, se estudia MLH1 o MSH2 respectivamente. En los casos de pérdida proteica de MLH1 se estudian posibles mutaciones en el gen BRAF. Este déficit proteico, se compara para las combinaciones de características morfológicas del tumor, presencia de invasión linfovascular, localización y la edad en el momento del diagnóstico.

La media de edad al diagnóstico en nuestra serie fue de 63.4 años. Siendo 82 casos (84%) histotipo endometriode y, de ellos, 75 casos (78.8%) fueron grado I. Se localizaron, 28 de ellos (29%) en istmo-segmento uterino inferior. La presencia de invasión linfovascular se advirtió en 17 casos (17.7%). El déficit proteico de MMR se detectó en 8 pacientes (8.3%). Uno de ellos (12.5%), presentó déficit del heterodímero MSH6-MSH2, siendo el resto por pérdida de MLH1-PMS2. En estos casos, se realizó estudio del gen BRAF, siendo wild-type en todos ellos y, por tanto, subsidiarios a estudio en línea germinal.

Presentamos una propuesta de estudio universal de proteínas reparadoras con la que logramos la identificación, a nivel poblacional, de pacientes con cáncer de endometrio y alteración proteica de MMR mediante pruebas IHQ graduales y estudio del gen BRAF en pacientes con pérdida proteica de MLH1. Encontramos una relación estadísticamente significativa ( $p$  valor  $< 0.05$ ) entre la presencia de dMMR y la localización en segmento uterino inferior, un grado de FIGO más alto

en subtipo endometriode y la presencia de invasión linfocascular. Por el contrario, no encontramos relación estadísticamente significativa entre estos dos grupos (MMR/dMMR) y la edad media al diagnóstico, el histotipo endometriode – no endometriode y un grado pT más alto.







**32<sup>nd</sup> CONGRESS OF THE ESP AND  
XXXIII INTERNATIONAL CONGRESS OF**

**THE IAP**

**6-8 DE DICIEMBRE DE 2020**

**GLASGOW, REINO UNIDO**

**E-POSTER: IMPLEMENTATION OF MMR DEFICIENT ENDOMETRIAL  
CANCER DIAGNOSIS WITH IHQ. EXPERIENCE IN OUR AREA.**

Lynch syndrome (SL) is a predisposition to cancer due to an autosomal dominant heterozygous mutation. In germline, of one of the four MMR genes (repair genes). This results in a loss of an encoded protein. If this deficit occurs in the somatic line, we observe the absence of proteins encoding these genes, that is, the phenotype. The most frequent in this case is the epigenetic silencing of MLH1 by hypermethylation of its promoter.

We aim to determine an optimal scheme for the identification of patients with alterations in the MMR system proteins in endometrial cancer.

All patients diagnosed with endometrial carcinoma who have undergone hysterectomy in our center from January 2017 to May 2019, 96 patients are. IHQ study of the PMS2 and MSH6 proteins was performed as primary screening. If negative, study MLH1 or MSH2 respectively. The prediction of germline mutational status is compared for combinations of tumor morphological features, presence of lymphovascular invasion, location and age at the time of diagnosis.

The mean age at diagnosis in our series was 63.4 years. Being 82 cases (84%) endometrioid histotype and, of them, 75 cases (78.8%) were grade I. 28 of them (29%) were located in the isthmus-lower uterine segment. The presence of lymphovascular invasion was noticed in 17 cases (17.7%). The MMR protein deficit was detected in 10 patients (10.4%). All cases were due to protein deficit in MLH1.

In conclusion, our proposal for a universal study of repair proteins in our area has yielded insightful results in the context of endometrial cancer. The gradual IHQ tests conducted to identify MMR protein alterations in patients have demonstrated a statistically significant relationship between the presence of dMMR and certain factors such as the location in isthmus, higher degree in endometrioid subtype, and the presence of lymphovascular invasion. However, there was no statistically significant relationship observed between these factors and the two groups (MMR/dMMR) in terms of mean age at diagnosis, endometrioid - non-endometrioid histotype, and higher pT. These findings can serve as a basis for further research to better understand the underlying mechanisms involved in endometrial cancer and to explore potential therapeutic targets.