




ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



TESIS DOCTORAL

**Implicaciones clínicas y caracterización molecular de
la respuesta al tratamiento con inhibidores de
PD-1/PD-L1 en cáncer de endometrio asociado a
inestabilidad de microsatélites**

Autora:

Lorena Fariñas Madrid

Directora:

Ana M. Oaknin Benzaquen

Tutor:

Jordi Giralte López de Sagredo

Programa de Doctorado en Medicina
Departamento de Medicina
Universidad Autònoma de Barcelona

Barcelona, 2026

*A mis padres, Lumi y Juan, por su amor y apoyo incondicional.
A mi marido Jesús por estar a mi lado en todo momento.
A mis hijos por ser el motor de mi vida.*

A las pacientes y sus familias.

AGRADECIMIENTOS

Durante todos estos años de carrera profesional, han sido muchas las personas que me han apoyado y ayudado a conseguir mis logros y poder crecer tanto personal como profesionalmente. Por este motivo, creo que es muy importante agradecer y dedicar esta tesis doctoral a las personas más especiales que han estado a mi lado.

En primer lugar, quiero agradecer **a mi madre, Lumi, y a mi padre, Juan** (allí donde esté), muchas gracias por el amor infinito y el apoyo constante que me habéis dado a lo largo de mi vida, especialmente tú mamá. vuestras enseñanzas, vuestra dedicación y vuestro ejemplo han sido la base sobre la que he construido mis valores y mi manera de ser. Os quiero.

A **Jesús**, mi marido y compañero de vida, gracias por caminar siempre a mi lado, por apoyarme cada día y por regalarme el mayor tesoro de mi vida: nuestros hijos. Hemos formado una familia llena de recuerdos inolvidables y un futuro de sueños compartidos.

A mis hijos **Álvaro y Jorge**, quienes son el motor de mi vida, gracias por enseñarme el verdadero significado del amor incondicional.

Gracias a mis tíos y primos por estar siempre.

A todo el resto de familia, tanto a los que están físicamente como a los que están en el recuerdo, gracias por formar parte de mi vida.

Quiero dar las gracias a la **Dra. Ana Oaknin**, mi mentora y directora de esta tesis, por confiar en mí y ayudarme a crecer profesionalmente con rigurosidad y elegancia.

Al **Dr. Giralt**, tutor de mi tesis, por hacérmelo todo fácil.

Muchas gracias a todo mi equipo de Oncología Ginecológica; **Carmen, David, Roberta, Irene, Alba, Olga**, trabajar en equipo con vosotros es todo un lujo y no se puede considerar trabajo.

Durante mis años en Vall d'Hebron, gracias al Dr. Tabernero, y a todos los médicos, enfermeras, coordinadoras, auxiliares y a cada miembro del equipo del servicio oncología médica por haber contribuido a mi crecimiento como Oncóloga Médica.

Finalmente, gracias **a los pacientes y sus familias**, cuyo compromiso y confianza hacen posible el avance continuo de la Oncología Médica.

LISTADO DE ABREVIATURAS

ACVR2A, del inglés, activin A receptor type 2A.
ALK, del inglés, anaplastic lymphoma kinase.
APC, del inglés, adenomatous polyposis coll.
ARID1, del inglés, AT-rich interactive domain-containing protein 1A.
ATF3, del inglés, Activating transcription factor 3.
ATP, del inglés, adenosine triphosphate.
B2M, del inglés, Beta-2-microglobulin.
BAF, del inglés. BRG1-associated factors.
Batf3, del inglés, basic leucine zipper transcription factor ATF-like3.
BAX, del inglés, bcl-2-line protein 4.
BCL2, el inglés, B-cell lymphoma 2.
BRAF, del inglés, v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B.
BRCA, del inglés, breast cancer.
CCL, del inglés, C-C Motif Chemokine Ligand.
CE, cáncer de endometrio.
CEA, antígeno carcinomaembrionario.
CEIC, comité Ético de Investigación Clínica.
CMH, complejo mayor de histocompatibilidad.
CMS, del inglés, Consensus Molecular Subtype.
CNH, del inglés, Copy number high
CNL, del inglés, Copy number low
CPS, del inglés, Composite Positive Score.
CR, del inglés complete response.
CTCAE, del inglés, Common Toxicity Criteria Adverse Events.
CTLA-4, del inglés, Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4.
CTNNB1, del inglés, Catenin (Cadherin-Associated Protein), Beta 1.
dMMR, del inglés, deficient mismatch repair (determinado por PCR)
DNA, del inglés, deoxyribonucleic acid.
EC, del inglés, endometrial cancer.
EE, enfermedad estable.
EGFR, del inglés epidermal growth factor receptor.
EMA, del inglés, European Medicines Agency.
ESMO, del inglés, European Society of Medical Oncology.
FDA, del inglés, Food and Drug Administration.
FGFR, del inglés, fibroblast growth factor receptor.
FIGO, Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia
HR, del inglés, Hazard Ratio.
IC, intervalo de confianza.
IC-PDL1, Inmunohistoquímica de la expresión PD-L1.
IHQ, inmunohistoquímica.
Inmuno-T, inmunoterapia.
JAK, del inglés, janus kinase.

KRAS, del inglés, Kirsten rat Sarcoma virus.

MAPK, del inglés, mitogen-activated protein kinase.

Mb, megabase.

MMR, del inglés, mismatch repair.

MMRd, del inglés, mismatch repair deficiency (determinado por IHQ)

MMRp, del inglés, mismatches repair proficiency (determinado por IHQ)

MS, microsatelites.

MSH1, gen mutL homolog 1

MSH2, gen mutS homolog 2

MSH6, gen mutS homolog 6

MSI-H, del inglés, microsatellite instability high (determinado por PCR)

MSS, del inglés, microsatellite stability (determinado por PCR)

NGS, del inglés, Next Generation Sequencing.

NR, del inglés, not reached.

NRAS, del inglés, neuroblastoma RAS viral oncogene homolog.

NTRK, del inglés, Neurotrophic tyrosine kinase.

P53 abn, p53 aberrante (determinado por IHQ)

PCR, del inglés, polymerase chain reaction.

PD-1, del inglés, Programmed Cell Death protein 1.

PD-L1, del inglés, Programmed Cell Death protein 1 ligand.

PE, progresión de la enfermedad.

PIK3C, del inglés, phosphatidylinositol 3-kinase gene.

PMS2, del inglés gen postmeiotic segregation increased 2

POLE, polimerasa e

PTEN, del inglés, Phosphatase and tensin homolog.

RECIST, del inglés, Response Evaluation Criteria in Solid Tumors.

RNA, del inglés, acid ribonucleic.

RP, respuesta parcial.

RR, del inglés, response rate.

SG, supervivencia global.

SL, síndrome de Lynch.

SLP, supervivencia libre de progresión.

SNPs, del inglés, Single Nucleotide Polymorphisms.

TCGA, del inglés, The Cancer Genome Atlas.

TGFBeta, del inglés, transforming growth factor beta.

TGFBR2, del inglés, transforming growth factor beta. receptor2.

TMB, del inglés, tumor mutational burden.

TNM, del inglés, tumor-node-metastases.

TP53, del inglés, tumor protein p53. (determinado por NGS).

TPS, del inglés, Tumor Proportion Score.

VEGF, del inglés, vascular endothelial growth factor.

VHIO, del inglés, Vall d'Hebron Institute of Oncology.

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1. Incidencia del cáncer de endometrio estandarizado por edad.....	15
Figura 2. Asociación entre IMC y cáncer.....	16
Tabla 1. Estadificación FIGO2009.....	18
Tabla 2. Estadificación FIGO2023.....	19
Tabla 3. Clasificación histológica de los tumores de endometrio (OMS2014).....	21
Figura 3. Representación de la función de los heterodímeros MSH2-MSH6 y MLH1-PMS2.....	24
Tabla 4. Pérdida del heterodímero en función de la pérdida de expresión por inmunohistoquímica.....	25
Figura 4. Supervivencia libre de progresión acorde al subgrupo molecular.....	29
Figura 5. Clasificación molecular ProMise. Adaptación.....	30
Figura 6. SLP y SG acorde a los subgrupos del ProMise. Adaptación.....	31
Figura 7. Clasificación molecular TransPORTEC. Adaptación.....	31
Figura 8. Curvas de supervivencia Kaplan-Meier a 5 años; supervivencia libre de recaída y supervivencia global. Adaptación.....	32
Tabla 5. Estudios Fases 2 con agentes citotóxicos y anti angiogénicos en 2as líneas y posteriores de tumores de endometrio.....	35
Figura 9. Correlación entre TMB y MMR estudio GARNET. Adaptación.....	41
Tabla 6. Correlación entre MMR, PDL1 y TMB. Adaptación.....	42
Tabla 7. Panel VHIO-Card_300v5.1.....	55
Tabla R1. Características clínicas.....	59
Tabla R2. Características del tratamiento primario al diagnóstico.....	61
Tabla R3. Tipo de tratamiento adyuvante administrado.....	61
Tabla R4. Líneas de tratamiento realizadas.....	63
Tabla R5. Resumen del tratamiento anti-PD-1/PD-L1.....	63
Tabla R6. Perfil de pérdida de expresión por inmunohistoquímica de las proteínas MMR.....	64
Tabla R7. Resultados acordes a la presencia de hipermetilación de MLH1.....	64
Tabla R8. Resultados acordes a la expresión de PD-L1.....	65
Tabla R9. Resultados del análisis molecular.....	66
Tabla R10. Resultados acordes al TMB.....	67
Tabla R11. Resultados de p53 aberrante analizada por IHQ.....	67
Tabla R12. Resultados de TP53mut analizada por NGS.....	67
Tabla R13. Correlación entre p53abn(IHQ) y TP53 (NGS).....	67
Tabla R14. Fracción alélica mutada en las pacientes TP53 mutadas.....	68
Figura R1. Kaplan-Meier de la SLP de la inmunoterapia.....	69
Figura R2. Kaplan-Meier de la SG desde el diagnóstico.....	70
Figura R3. Kaplan-Meier de la SG desde la recidiva.....	71
Tabla R15. Respuesta radiológica al tratamiento de inmunoterapia.....	72
Tabla R16. Tabla resumen de la eficacia del tratamiento con inhibidores de PD-1/PD-L1 entre primera línea y líneas sucesivas.....	73
Figura R4. Tasa de respuestas radiológicas en función de la línea en la que se administra el tratamiento antiPD-1/PD-L1.....	74
Figura R5. Kaplan-Meier de la SLP de inmunoterapia entre L1 y L2+.....	75
Figura R6. Kaplan-Meier de la SLP de inmunoterapia entre respondedoras y no respondedora.....	77

Figura R7. Kaplan-Meier de la SG al tratamiento con inmunoterapia entre respondedoras y no respondedoras.....	78
Tabla R17. Eficacia del tratamiento en función de las alteraciones en la vía del MMR.....	79
Figura R8. Kaplan-Meier de la SLP acorde a la metilación de MLH1.....	80
Figura R9. Kaplan-Meier de la SG acorde a la metilación de MLH1.....	81
Tabla R18. Tabla de contingencia de TMB acorde a la respuesta al tratamiento.....	82
Figura R10. Kaplan-Meier de la SLP a la inmunoterapia en función del TMB.....	82
Figura R11. Kaplan-Meier de la SG a la inmunoterapia en función del TMB.....	83
Tabla R19. Beneficio clínico en función de la expresión de CPS PD-L1.....	84
Figura R12. Kaplan-Meier de SLP a la inmunoterapia en función de CPS PD-L1.....	85
Figura R13. Kaplan-Meier SG a la inmunoterapia en función de CPS PD-L1.....	86
Tabla R20. Expresión de TMB y CPS PD-L1.....	87
Figura R14. Correlación entre PD-L1 y TMB.....	87
Tabla R21. Beneficio clínico del tratamiento con inmunoterapia en función de la expresión de PD-L1 y TMB.....	88
Tabla R22. Características moleculares en función de las pacientes consideradas respondedoras y no respondedoras.....	89
Figura R15. Kaplan-Meier de SLP entre las pacientes que suspenden el tratamiento por toxicidad o progresión de la enfermedad.....	91

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	12
1 INTRODUCCIÓN	14
1.1 PREÁMBULO.....	14
1.2 EPIDEMIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO	15
1.3 FACTORES PRONÓSTICOS.....	17
1.3.1 <i>Factores clínicos</i>	17
1.3.2 <i>Factores histológicos</i>	20
1.4 GENÉTICA Y CE	22
1.5 INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES EN CÁNCER DE ENDOMETRIO	23
1.5.1 <i>Definición de microsatélites (MS)</i>	23
1.5.2 <i>Definición de DNA MMR</i>	23
1.5.3 <i>Definición de inestabilidad de microsatélites (IMS)</i>	25
1.5.4 <i>Análisis del fenotipo de MMRd/MSI-H</i>	26
1.6 CLASIFICACIÓN MOLECULAR DE LOS TUMORES DE ENDOMETRIO SEGÚN LA PLATAFORMA DEL ATLAS DEL GENOMA DEL CÁNCER	27
1.7 CLASIFICACIÓN MOLECULAR DE LOS TUMORES DE ENDOMETRIO SIMPLIFICADA	29
1.7.1 <i>Doble Clasificador</i>	32
1.7.2 <i>Tratamiento para CE avanzado y/o recurrente basado en quimioterapia</i>	33
1.7.3 <i>Inmunoterapia en CE</i>	35
2 JUSTIFICACIÓN.....	43
3 HIPÓTESIS.....	45
3.1 HIPÓTESIS PRIMARIA	45
3.2 HIPÓTESIS SECUNDARIAS.....	45
4 OBJETIVOS.....	46
4.1 OBJETIVO PRIMARIO	46
4.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS	46
5 METODOLOGÍA.....	47
5.1 MATERIALES Y MÉTODOS	47
5.1.1 <i>Tipo de estudio:</i>	47
5.1.2 <i>Población a estudio:</i>	47
5.1.3 <i>Variables clínicas del estudio:</i>	48
5.2 MUESTRA TUMORAL	48
5.3 ANÁLISIS DEL FENOTIPO MMRd/MSI-H	49
5.4 ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE PD-L1	50
5.5 ESTUDIO GENÓMICO	51
5.6 ANÁLISIS DEL TMB	52
5.7 ANÁLISIS DE DATOS.....	53
5.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	55
5.8.1 <i>Estadística Descriptiva</i>	56
5.8.2 <i>Análisis de Supervivencia</i>	56
5.8.3 <i>Comparaciones entre Grupos</i>	57
6 RESULTADOS	58
6.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA POBLACIÓN INCLUIDA EN EL ESTUDIO	58
6.2 DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO INICIAL	59
6.3 DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO REALIZADO	61
6.4 CARACTERÍSTICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS O MOLECULARES	63

6.5	DESCRIPCIÓN DE LAS ALTERACIONES INMUNOHISTOQUÍMICAS	64
6.6	RESULTADOS ACORDES A LA EXPRESIÓN DE PD-L1	65
6.7	DESCRIPCIÓN DE LAS ALTERACIONES MOLECULARES IDENTIFICADAS MEDIANTE SECUENCIACIÓN TUMORAL.....	65
6.8	RESULTADOS ACORDES AL NÚMERO DE MUTACIONES.....	66
6.9	RESULTADOS DE LAS PACIENTES CON DOBLE CLASIFICACIÓN MOLECULAR.....	67
6.10	ANÁLISIS DE LA EFICACIA	68
6.11	EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON INHIBIDORES DE PD-1/PD-L1 ENTRE PRIMERA LÍNEA Y LÍNEAS SUCESIVAS..	72
6.12	EFICACIA DEL TRATAMIENTO ACORDE A LA RESPUESTA OBTENIDA	75
6.13	EFICACIA DEL TRATAMIENTO EN FUNCIÓN DE LAS ALTERACIONES EN LA VÍA DE MMR.....	78
6.14	EFICACIA DEL TRATAMIENTO EN FUNCIÓN DEL TMB	81
6.15	EFICACIA DEL TRATAMIENTO EN FUNCIÓN DEL CPS PD-L1.....	83
6.16	CORRELACIÓN ENTRE PDL1 Y TMB	86
6.17	ANÁLISIS SUBGRUPO DEFINIDO COMO DOBLE CLASIFICADOR.....	88
6.18	ANÁLISIS ACORDE A MUTACIONES PATOGENICAS.....	89
6.19	CORRELACIÓN ENTRE TOXICIDAD Y BENEFICIO AL TRATAMIENTO ANTI-PD-1/PD-L1	90
7	DISCUSIÓN.....	92
8	CONCLUSIONES.....	98
9	LAS LÍNEAS DE FUTURO	99
10	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100

RESUMEN

Introducción

El carcinoma de endometrio (CE) es uno de los tumores ginecológicos más frecuentes. En estadios avanzados (FIGO III-IV) presentan alta tasa de recaídas y escasas opciones terapéuticas. El subtipo molecular MMR-d/MSI-H constituye aproximadamente un 30% de los CE, se asocia a alta carga mutacional, mayor infiltración linfocitaria, y sobreexpresión de PD-1, lo cual lo hace un tumor potencialmente sensible al tratamiento con inmunoterapia (inmunoT) basado en inhibidores del punto de control (inhibidores de PD-1/PD-L1).

El objetivo principal del trabajo de tesis es evaluar si el tratamiento con inhibidores de PD-1/PD-L1 impacta en la supervivencia global (SG) y en la supervivencia libre de enfermedad (SLE) de pacientes con CE avanzado/recurrente asociado a MMR-d/MSI-H.

En cuanto a los objetivos secundarios se analizarán diversos factores que pueden influir en la respuesta al tratamiento con inhibidores de PD-1/PD-L1 (PD-1/PD-L1 inh) tales como: la pérdida de expresión de proteínas del fenotipo MMRd/MSI-H y la hipermetilación del promotor del gen MLH1, la prevalencia de carga mutacional tumoral (TMB) y la expresión de PD-L1.

De forma adicional, se determinará si pacientes con tumores MMRd/MSI-H-p53abn (múltiples clasificadores) presentan una respuesta y evolución diferente.

Por último, se evaluará la respuesta y evolución de las pacientes que presentaron toxicidades inmunomediadas frente a aquellas que no las desarrollaron.

Metodología

Se recopilarán datos de pacientes con CE avanzado o recurrente tratadas con inmunoT entre agosto de 2017 y diciembre de 2024 en el Hospital Universitario Vall d'Hebron. Se analizarán datos histológicos y moleculares del tumor así como los datos clínicos de las pacientes y su evolución a largo plazo. La detección del estatus de MMRd/MSI-H se hará mediante inmunohistoquímica y se confirmará con PCR. El análisis del TMB y perfil molecular se realizará mediante Mass-Spect (Sequenom) o NGS (Illumina). Todos los datos serán procesados con análisis estadísticos adecuados según las variables con el software versión R 4.0.3 especializado.

Resultados

Se identificaron 24 pacientes con dMMR/MSI-H CE tratadas con PD-1/PD-L1 inh. Con una mediana de seguimiento de 7,4 años (rango 6,1 a 9,1 años), en el momento del cierre de la base de datos, el 33% estaban vivas sin enfermedad, el 46% vivas con enfermedad y el 21% habían fallecido por progresión de la enfermedad. La tasa de supervivencia libre de progresión (SLP) fue del 75% al año y del 59% a los 5 años. La supervivencia global (SG) a 5 años fue del 86% y del 61% a los 10 años. En cuanto a la tasa de respuestas se objetivaron 70,8% de respuestas (29,2% RC y 41,7% RP) y 16,6% EE.

De las 24 pacientes, 14 discontinuaron la inmunoterapia: 8 pacientes (57%) por progresión y 6 pacientes (43%) por toxicidad, principalmente hepática. Las 6 pacientes que suspendieron el tratamiento por toxicidad siguen vivas y libres de progresión tras 5 años.

No se observaron diferencias significativas en la respuesta al tratamiento en relación con la pérdida de expresión de proteínas MMR (MLH1, MSH2, PMS2, MSH6). En las pacientes con alteraciones en MLH1, tampoco se detectaron diferencias según el estado de hipermetilación de este gen. Del mismo modo, no se encontraron asociaciones significativas con la expresión de PD-L1, el TMB u otras alteraciones moleculares específicas.

En este estudio, las 7 pacientes con clasificador dual MMRd/MSI-H-p53abn respondieron al tratamiento; 2 siguen en tratamiento, 4 lo suspendieron por toxicidad sin progresión y 1 por progresión con enfermedad controlada.

Conclusiones

El estudio confirma que las pacientes con cáncer de endometrio MMRd/MSI-H tratadas con anti-PD-1/PD-L1 presentan una elevada SLE y SG, especialmente en aquellas con respuesta parcial o completa al tratamiento. No se encontró una asociación significativa entre la respuesta al tratamiento y la pérdida de proteínas MMR, la hipermetilación del gen MLH1, el TMB ni la expresión de PD-L1. Las pacientes con tumores doble clasificador MMRd/MSI-H-p53abn muestran una respuesta similar al grupo MMRd/MSI-H. Además, el desarrollo de toxicidades inmunomediadas se asocia a un mejor pronóstico, sugiriendo su valor como posible marcador predictivo.

A pesar del limitado número de pacientes, nuestro estudio muestra como aquellas pacientes con MMRd/MSI-H CE tratadas con anti-PD-1/PD-L1 inh. que alcanzan respuesta al tratamiento y desarrollan toxicidades inmunomediadas al mismo tiempo son las pacientes con mejor pronóstico a largo plazo.

No se han podido identificar otros factores adicionales al fenotipo MMRd que puedan influir en la evolución de este grupo seleccionado de pacientes

ABSTRACT

Introduction

Endometrial carcinoma (EC) is one of the most common gynecologic malignancies. Advanced-stage disease (FIGO II–IV) is associated with high recurrence rates and limited therapeutic options. The MMRd/MSI-H subtype, present in approximately 30% of EC cases, is characterized by high tumor mutational burden, increased lymphocytic infiltration, and PD-1 overexpression, making it potentially sensitive to immunotherapy.

The primary objective of this study is to evaluate whether treatment with PD-1/PD-L1 inhibitors impacts overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) in patients with MMRd/MSI-H EC.

Secondary objectives include analyzing various factors associated with immunotherapy response, such as the loss of MMR protein expression and MLH1 promoter hypermethylation, as well as tumor mutational burden (TMB) and PD-L1 expression. The study also examines clinical outcomes in patients with MMRd/MSI-H–p53abn tumors (multiple classifiers) compared to those without this classification and assesses the prognostic impact of immune-related toxicities.

Methodology

Data will be collected from patients with advanced or recurrent EC who were treated with immunotherapy between August 2017 and December 2024 at Vall d’Hebron Hospital. Clinical, histological, molecular data, and disease progression will be analyzed. MMRd/MSI-H status will be determined by immunohistochemistry and confirmed by PCR. Tumor mutational burden (TMB) and molecular profiling will be performed using Mass-Spect (Sequenom) or NGS (Illumina). All data will be processed with appropriate statistical analyses according to the variables, using specialized software, R version 4.0.3.

Results

A total of 24 patients with dMMR/MSI-H EC treated with PD-1/PD-L1 inhibitors were identified. With a median follow-up of 7 years, at the time of database closure, 33% were alive without disease, 46% were alive with disease, and 21% had died from disease progression. The progression-free survival (PFS) rate was 75% at 1 year and 59% at 5 years. Overall survival (OS) was 86% at 5 years and 61% at 10 years. Regarding response rates, 70.8% of patients achieved a response (29.2% complete response [CR] and 41.7% partial response [PR]), while 16.6% had stable disease (SD).

Of the 24 patients, 14 discontinued immunotherapies: 8 patients (57%) due to disease progression and 6 patients (43%) due to toxicity, primarily hepatic. The 6 patients who discontinued treatment due to toxicity remain alive and progression-free after 5 years.

No significant differences in treatment response were observed according to loss of MMR protein expression (MLH1, MSH2, PMS2, MSH6). In patients with MLH1 alterations, no differences were detected according to the hypermethylation status of this gene. Similarly, no significant associations were found with PD-L1 expression, TMB, or other specific molecular alterations.

In this study, the 7 patients with dual classifier MMRd/MSI-H-p53abn responded to treatment; 2 remain on therapy, 4 discontinued due to toxicity without progression, and 1 discontinued due to progression but with disease control.

Conclusions

The study confirms that patients with MMRd/MSI-H endometrial cancer treated with anti-PD-1/PD-L1 therapy exhibit higher progression-free survival (PFS) and overall survival (OS), particularly in those achieving a partial or complete response to treatment. No significant association was found between treatment response and MMR protein loss, MLH1 gene hypermethylation, tumor mutational burden (TMB), or PD-L1 expression. Patients with dual-classifier MMRd/MSI-H-p53abn tumors show a response similar to the MMRd/MSI-H group, with a possible favorable trend. Additionally, the development of immune-mediated toxicities is associated with better prognosis, suggesting its potential value as a predictive marker. Despite the limited number of patients, our study shows that those with MMRd/MSI-H EC treated with anti-PD-1/PD-L1 inhibitors who achieve a treatment response and develop immune-mediated toxicities are the patients with the best long-term prognosis. No other factors influencing the course of this selected patient group could be identified.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Preámbulo

El Cáncer de Endometrio (CE) es uno de los tumores más prevalentes en la mujer, por detrás de los tumores de mama, colon y pulmón. Constituye la 6ª causa de muerte por cáncer. Además, se estima que la incidencia de carcinoma de endometrio aumente entre un 1% y un 2% anualmente debido a los factores de riesgo asociados. (1)

La mayoría de los tumores epiteliales de endometrio se diagnostican en estadios iniciales de la clasificación de la FIGO (las iniciales corresponden a su nombre original en francés Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique). En estos casos, el pronóstico es muy favorable y el tratamiento principal se basa en la cirugía, aunque en ocasiones se debe asociar radioterapia/braquiterapia o quimioradioterapia adyuvante acorde a las características patológicas y moleculares del tumor. Sin embargo, en aquellas pacientes diagnosticadas en estadios avanzados o no resecables, entendiéndose por ello estadios III/IV de la clasificación de la FIGO, el porcentaje de recaídas después del tratamiento inicial es mayor, en torno al 50% (2) (3) (4). El tratamiento de 1º línea en las pacientes con CE avanzando/ recurrente ha sido, hasta recientemente, la quimioterapia basada en carboplatino y paclitaxel con una supervivencia global (SG) de 37 meses y una supervivencia libre de progresión (SLP) de 13 meses. Cuando las pacientes progresan o son refractarias a la primera línea de tratamiento, el pronóstico es infausto con una SLP de 5.7 meses una SG de 9 meses. (5)

El punto de inflexión en el tratamiento del CE fue su caracterización molecular realizada a través del proyecto, “The Cancer Genome Atlas” (TCGA). En este análisis, a través de una combinación de tecnologías avanzadas, se analizaron distintos niveles de alteraciones genómicas, transcriptómicas, epigenómicas y proteómicas. Acorde a los resultados obtenidos, se estableció una clasificación molecular que agrupa a los tumores de endometrio en cuatro categorías: Ultramutado o DNA polimerasa épsilon (POLE), Inestabilidad de microsátelites (hipermutado o MMRd/MSI-H), número de copias bajo (NCB, endometriode) y número de copias alto (tipo seroso), demostrando además que dicha clasificación molecular constituye también un factor pronóstico de la enfermedad. (6)

De forma adicional, hasta la fecha, son pocos los datos publicados que correlacionen las características histopatológicas del CE con su perfil molecular y sus implicaciones

pronósticas y/o predictivas de respuesta a los diferentes tipos de tratamientos oncoespecíficos.

Este trabajo de Tesis estudia una población concreta de pacientes con CE, el grupo molecular clasificado como MMRd/MSI-H. El trabajo analizará la histología, las causas subyacentes a su perfil molecular, los tratamientos realizados y la evolución de la enfermedad acorde a dichas características.

El objetivo principal de esta tesis es analizar si el tratamiento con inhibidores de PD-1/PD-L1 mejora la SG y la SLE en pacientes con CE recurrente o avanzado con perfil molecular MMR-d/MSI-H.

1.2 Epidemiología y factores de riesgo

El cáncer de CE representa al 6º tumor maligno más frecuente en mujeres. A nivel mundial en el año 2022 su incidencia estimada fue de aproximadamente 417.367 nuevos casos, representando el 4,5% de diagnósticos de cáncer en el sexo femenino. (7)

Su incidencia es mayor en norte América, el norte de Europa y Asia del Norte (Europa Oriental) y en el Reino Unido (Figura 1). Además, se ha objetivado que su incidencia está aumentando aproximadamente entre 1-2% de forma anual sobre todo en Reino Unido debido a los factores de riesgo asociados. (7) (8)

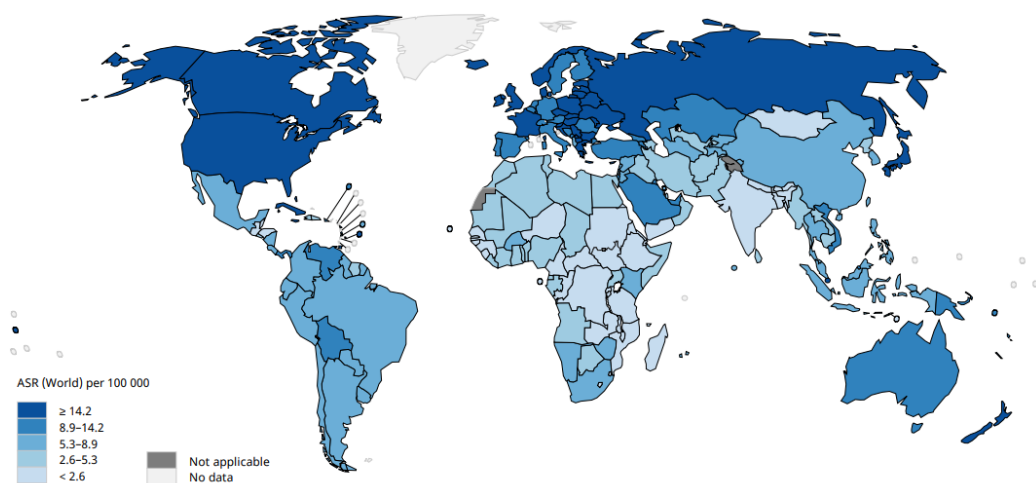


Figura 1. Incidencia del cáncer de endometrio estandarizado por edad. Adaptado de (7)

La curva de incidencia de edad del CE muestra que la mayoría de los casos se diagnostican en mujeres mayores de 50 años, con una mediana de edad de 63 años. No obstante, existe un 4% de pacientes cuya edad es inferior a los 40 años. (9)

Se han identificado múltiples factores de riesgo que predisponen al desarrollo de este tipo de tumores siendo la obesidad el factor más relevante. Las pacientes con un Índice de masa corporal (MC) entre 20-25 (nivel de peso normal) tienen un 3% de riesgo de desarrollar CE, pero en pacientes con $IMC > 30$ el riesgo puede aumentar en más del 6-9%. Además, se ha demostrado que la correlación entre obesidad y riesgo de cáncer es más significativa en el cáncer endometrio en comparación con otros tumores sólidos. (10) (Figura 2). Este riesgo puede estar asociado a que las pacientes con obesidad presentan niveles de estradiol y estrógeno más altos en sangre periférica. (11)

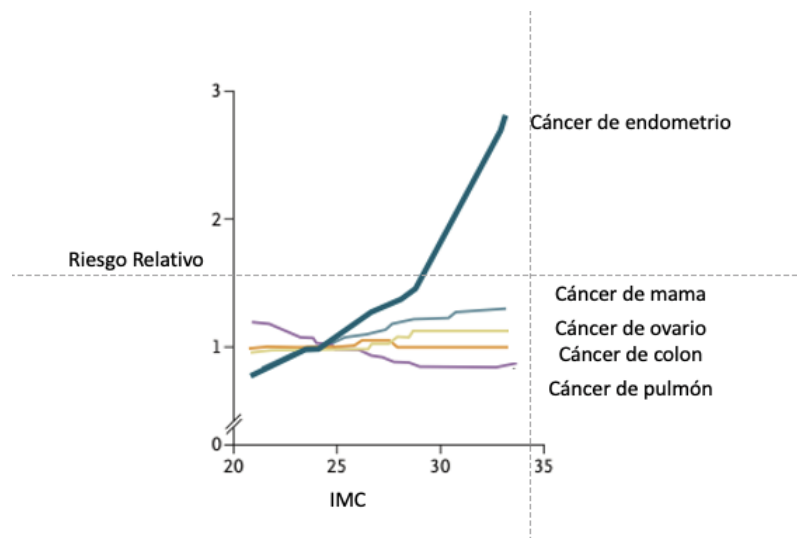


Figura 2. Asociación entre IMC y cáncer. Adaptado de (12).

Además, en muchas ocasiones la obesidad se asocia a diabetes mellitus produciendo el conocido síndrome metabólico. Múltiples metaanálisis han demostrado una relación entre diabetes mellitus y CE. (13) Este aumento de riesgo se debe a que la resistencia a la insulina, la hiperinsulinemia y la hiperglicemia activan mecanismos proinflamatorios que promueven la carcinogénesis, a través del factor de crecimiento similar a la insulina-1 (cuyas siglas en inglés son IGF-1) y otras vías de la proliferación celular (14).

Es decir que, todo proceso que produzca un exceso de estrógenos se puede considerar un factor de riesgo para el desarrollo de CE como pueden ser; las terapias con estrógeno, el síndrome del ovario poliquístico o la nuliparidad. Así mismo, el tratamiento con tamoxifeno (tratamiento hormonal para el cáncer de mama) durante más de 5 años se ha

demostrado que puede aumentar hasta 3,6% el riesgo de CE debido a su efecto agonista estrogénico en el tejido endometrial. (15)

1.3 Factores pronósticos

1.3.1 Factores clínicos

1.3.1.1 *Edad*

La edad al diagnóstico es un factor pronóstico independiente en el CE, habiendo identificado como el riesgo relativo de muerte aumenta con la edad avanzada: 2,3 (55 años), 4,6 (65 años) y 7,6 (75 años) (16) (17).

1.3.1.2 *Raza*

Las mujeres afroamericanas con CE, tienen una mortalidad 86% mayor, lo cual se atribuye a una mayor incidencia de histologías agresivas y a diagnósticos en estadios avanzados. Esto último se relaciona con bajos niveles socioeconómicos y dificultades de acceso al sistema sanitario. (18) (19) (20)

1.3.1.3 *Estadio quirúrgico*

El estadio quirúrgico es el factor pronóstico más importante para el CE ya que impacta de forma determinante en la supervivencia. A los 5 años, la supervivencia relativa acorde al estadio es del 94,9% para los estadios I-II, 69,3% para los estadios III y del 17,8% para los estadios IV. (21)

En el estudio GOG#33 se analizaron las características patológicas en los estadios precoces, que se asociaban a una mayor recurrencia de la enfermedad. Se llegó a la conclusión de que la recurrencia aumentaba cuando existía invasión del miometrio y afectación ganglionar a nivel pélvico y/o paraórtico. Las implicaciones de estos hallazgos fueron importantes para confirmar la importancia de la estadificación quirúrgica y clasificar a los pacientes en grupos de pronóstico con el fin de proporcionar un tratamiento adyuvante adecuado. (22)

La clasificación FIGO (Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia) para el CE se utiliza para establecer la extensión del tumor, establecer el pronóstico y acorde a ello determinar el tratamiento más adecuado.

Hasta recientemente, el CE se clasificaba acorde a la FIGO2009 (23). Esta clasificación se basaba únicamente en parámetros clínicos, quirúrgicos e histológicos. Si bien ha sido y continúa siendo, una herramienta clínica fundamental en el diagnóstico y tratamiento del CE, está siendo lentamente reemplazada por la FIGO 2023

La nueva clasificación FIGO2023 del CE, no solo mantiene la evaluación anatómica, sino que integra la factores clínico-patológicos y la caracterización molecular para definir subgrupos de riesgo. Es este último punto lo que la hace en muchos aspectos más precisa en términos pronósticos y predictiva de respuesta comparada con la FIGO 2009

Dicho esto, y dado el carácter retrospectivo de este trabajo de Tesis, es la FIGO 2009 la usada en nuestro análisis.

Tabla 1. Estadificación FIGO 2009

Estadio	Definición
I	Tumor confinado al cuerpo uterino
IA	Invasión limitada al endometrio o con invasión <50% del miometrio
IB	Invasión ≥50% del miometrio
II	Tumor que invade el estroma cervical, pero no se extiende más allá del útero
III	Extensión local y/o regional del tumor
IIIA	Invasión de la serosa uterina y/o anexos (trompas de Falopio u ovarios)
IIIB	Invasión de la vagina y/o parametrio
IIIC	Metástasis a ganglios linfáticos pélvicos y/o paraaórticos
IIIC1	Metástasis en ganglios pélvicos
IIIC2	Metástasis en ganglios paraaórticos, con o sin afectación de ganglios pélvicos
IV	Invasión tumoral más allá de la pelvis verdadera
IVA	Invasión de la mucosa del recto y/o vejiga (confirmada por biopsia)
IVB	Metástasis a distancia, incluyendo ganglios intraabdominales o inguinales

Tabla 2. Estadificación FIGO 2023. (24)

ESTADIO	DESCRIPCIÓN
Estadio I	Confinado al útero
IA	Enfermedad limitada al endometrio o histología de bajo grado, con invasión <50% del miometrio y sin infiltración linfovascular.
IAI	Tumor sobre pólipo con histología de bajo grado.
IA2	Tumor con histología de bajo grado e invasión <50% del miometrio sin invasión linfovascular o focal.
IA3	Tumor con histología de bajo grado limitado al útero (+/-ovario unilateral con cápsula integra) sin infiltración linfovascular.
IB	Tumor histología de bajo grado e invasión >50% del miometrio sin invasión linfovascular o focal.
IC	Tumor histología de alto grado limitado a pólipo y confinado al endometrio.
II	Invasión del cérvix sin afectación extrauterina o infiltración linfovascular sustancial o histologías agresivas con invasión miometrial.
IIA	Tumor histología de bajo grado, pero afectación del cérvix.
IIB	Tumor histología de bajo grado, pero infiltración sustancial linfovascular
IIC	Tumor histología agresiva sin infiltración miometrial.
III	Tumor con afectación regional de cualquier histología
IIIA1	Tumor con invasión del ovario.
IIIA2	Tumor con afectación de la serosa uterina
IIIB1	Tumor con diseminación en parametrios o vagina
IIIB2	Diseminación en el peritoneo pélvico
IIIC1	Metástasis en ganglios linfáticos pélvicos
IIIC1i	Micrometástasis
IIIC1ii	Macrometástasis
IIIC2	Metástasis en ganglios linfáticos paraórticos
IIIC2i	Micrometástasis
IIIC2ii	Macrometástasis
IV	Tumor afecta a la mucosa de la vejiga o intestinal o diseminación a distancia.
IVA	Tumor invade la mucosa de la vejiga o mucosa intestinal
IVB	Diseminación peritoneal.
IVC	Diseminación a distancia.

1.3.2 Factores histológicos

1.3.2.1 Grado histológico

El grado de diferenciación tumoral es un marcador pronóstico ya que, en múltiples estudios, se ha demostrado una correlación entre el grado tumoral y el riesgo de recidiva. Los tumores de alto grado (Grado 3) tienen un riesgo relativo 3 veces superior de presentar una recidiva precoz que los tumores de bajo grado (Grado 1). (25) (26)

1.3.2.2 Afectación linfovascular

La invasión linfovascular (LVSI) es la penetración de células malignas en vasos linfáticos o sanguíneos. Es un factor pronóstico importante en el CE, ya que, los casos con LVSI sustancial (≥ 4 vasos afectados en una laminilla) tienen mayor riesgo de recurrencia, peor pronóstico y suelen requerir tratamientos más agresivos. (27)

1.3.2.3 Histología

Los tumores de endometrio se dividen clásicamente en tipo I, correspondiente al adenocarcinoma endometriode (80–90% de los casos), y tipo II, que incluye subtipos no endometrioides como seroso, de células claras, indiferenciado y carcinosarcomas (10–20% de los casos). (28) (29)

Los tumores endometrioides o tipo I surgen en mujeres pre y postmenopáusicas, asociado a hiperplasia y exceso de estrógenos. Se clasifica en grados FIGO 1–2 (bajo) y 3 (alto). Molecularmente puede presentar mutaciones en POLE, dMMR/MSI-H, K-RAS, PIK3CA, CTNNB1, PTEN y FGFR2. (30) Suele tener buen pronóstico con una SG 5 años aproximadamente del 86%. (31) (32)

Los tumores no endometriode o tipo II son más frecuente en mujeres postmenopáusicas, independiente de hormonas y lesiones precursoras. Incluyen las histologías seroso, células claras y carcinosarcomas, y se asocian a mutaciones en TP53, E-cadherina y amplificación de ERBB2/HER2. Así mismo suelen asociarse a mal pronóstico (SG 5 años aproximadamente del 59%). (32) (33) (34) (35)

En el momento actual, esta clasificación dualística basada exclusivamente en características histopatológicas está siendo reemplazada por la clasificación molecular.

Dicho esto, la histología sigue siendo un pilar en la clasificación del CE. En este sentido, la organización Mundial de la Salud (OMS) en su última versión del año 2014, clasifica los tumores de endometrio según sus características microscópicas y los criterios patológicos predefinidos (tabla 1).

Tabla 3. Clasificación histológica de los tumores de endometrio (OMS2014)

Tipo de Tumor	Subtipos
Carcinomas Epiteliales	<ul style="list-style-type: none"> - Carcinoma endometrioide (Con diferenciación escamosa, velloglandular, secretor) - Carcinoma mucinoso - Carcinoma seroso - Carcinoma de células claras - Carcinoma indiferenciado o dediferenciado - Adenocarcinoma mixto
Tumores Neuroendocrinos	<ul style="list-style-type: none"> - Tumor neuroendocrino de bajo grado - Tumor neuroendocrino de alto grado - Tumor carcinoide - Carcinoma neuroendocrino de células pequeñas - Carcinoma neuroendocrino de células grandes

1.3.2.3.1 Carcinomas epiteliales

- **Carcinoma endometrioide:** el más frecuente; suele expresar receptores hormonales. Se clasifica en bajo grado (grado 1 y 2) suelen tener buen pronóstico con una SG 5 años 86%) y en alto grado (grado 3) con un pronóstico variable.
- **Carcinoma mucinoso:** representa <10%; requiere >50% de mucina intracitoplasmática o luminal; bien diferenciado, suele estar asociado a hiperplasia endometrial. (36)
- **Carcinoma seroso:** representa el 15%; suelen ser tumores muy agresivos, con marcada atipia y frecuente diseminación extrauterina (37% al diagnóstico). (37) (38)
- **Carcinoma de células claras:** corresponden al 4%; tiene mal pronóstico (SG 5 años 40%) y una elevada tasa de metástasis al diagnóstico (40%). (39)
- **Carcinoma indiferenciado/dediferenciado:** su incidencia es <2%; es una histología agresiva, asociada a invasión profunda y mal pronóstico; puede originarse de carcinomas endometrioides. (40) (41)

- **Carcinosarcoma (tumores müllerianos mixtos malignos):** representan <5%; son también tumores agresivos con una SG 5 años <40%. Hoy se consideran carcinomas epiteliales de alto grado. (42) (43)

- **Tumores neuroendocrinos:** muy poco comunes (células pequeñas o grandes), deben marcar positividad para cromogranina, sinaptofisina, leu-7 o enolasa y tienen un pronóstico muy desfavorable. (44)

1.4 Genética y CE

El CE puede estar asociado entre el 2-5% al síndrome de Lynch.

La incidencia de síndrome de Lynch varía según la población y la región geográfica. Es importante destacar que el síndrome de Lynch es una condición hereditaria autosómica dominante con penetrancia incompleta, lo que significa que una persona afectada tiene un 50% de probabilidad de poder transmitir la mutación a cada uno de sus hijos.

Este síndrome se caracteriza por conferir una susceptibilidad hereditaria a desarrollar CE, así como también otros tumores tales como; colon, gástrico, ovario y próstata entre otros. Aproximadamente el 90% de los casos de síndrome de Lynch se deben a variantes patogénicas germinales en los genes MLH1 (50%) y MSH2 (40%), seguido de MSH6 (7-10%) y PMS2 (< 5%). (45) El riesgo de desarrollar CE asociado a la presencia de estas mutaciones es de del 20-54%, 21-49%, 16-71% y un 15% respectivamente. (46) (47)

Así mismo, el 9% de los CE diagnosticados en pacientes con edad inferior a los 50 años están relacionados con este síndrome

El síndrome de Codwen también puede predisponer al desarrollo de CE. Se caracteriza por presentar una mutación patogénica en el gen PTEN (cuyas siglas corresponden a fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato 3-fosfatasa) a nivel germinal. Este síndrome presenta un patrón de herencia autosómico dominante y las mujeres portadoras tienen un riesgo del 18-28% de desarrollar CE. Además, este fenotipo tumoral también se asocia a cáncer de mama y de tiroides. (48)

Recientemente, también se han relacionado las mutaciones germinales patogénicas en los genes BRCA1 y BRCA 2 con el CE. Esta alteración genética tiene un patrón de herencia autosómica dominante confiriendo un alto riesgo de cáncer de mama y ovario en las mujeres portadoras. Además, la mutación en BRCA1 puede otorgar un 2-5% de riesgo de

padecer tumores de endometrio especialmente de histología serosa. En cambio, la relación entre la alteración en BRCA2 y CE es dudosa. (49)

Es importante identificar estos síndromes que conllevan una predisposición al CE en las pacientes. Esta información permite valorar de forma individual, a la paciente y a su familia, el riesgo de desarrollar cáncer. Además, proporciona una oportunidad para realizar estrategias de detección precoz y prevención personalizadas y puede ser un factor predictivo de respuesta a terapias dirigidas. (50)

1.5 Inestabilidad de microsatélites en Cáncer de Endometrio

1.5.1 Definición de microsatélites (MS)

Los MS son secuencias cortas de nucleótidos que se repiten en diferentes regiones del ADN. Algunos MS se encuentran en regiones codificantes de ADN, como BAT25, BAT26, BAT40 o D2S123, mientras que otros se encuentran en regiones no codificantes. Cada codón está compuesto por tres nucleótidos, normalmente, se leen en grupos de tres (marco de lectura) para producir los aminoácidos correctos en la síntesis de proteínas. Sin embargo, si ocurre un cambio en la longitud de la secuencia de ADN debido a la inestabilidad de MS puede alterarse el marco de lectura, lo que resulta en la producción de proteínas anómalas con secuencias de aminoácidos incorrectas durante la replicación del ADN.

1.5.2 Definición de DNA MMR

La integridad del genoma y la prevención de acumulación de mutaciones se lleva a cabo, entre otros mecanismos, por un grupo de genes llamados genes reparadores del ADN (MMR del inglés mismatch repair) constituido por MLH1 (mutL homolog 1, colon cáncer, nonpolyposis type 2), MSH2 (mutS homolog 2, colon cancer, nonpolyposis 1), MSH6 (mutS homolog 6), PMS2 (postmeiotic segregation increased 2) o deleciones en el gen EPCAM que causa una inactivación del gen MSH2.

Las cuatro proteínas homónimas MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 codificadas por estos genes funcionan en heterodímeros, específicamente MLH1-PMS2 y MSH2-MSH6.

El primer paso en este proceso es el reconocimiento del desajuste por parte de una proteína llamada heterodímero mutS α , que está compuesta por las proteínas MSH2-

MSH6. Esta proteína identifica la anomalía en la secuencia de ADN. Una vez que el desajuste ha sido reconocido, se recluta otro heterodímero llamado mutL α , que está compuesto por las proteínas MLH1-PMS2. Esta proteína se une al complejo mutS α y prepara el terreno para los pasos siguientes en la reparación del desajuste.

Cuando el complejo formado por mutS α -mutL α encuentra una discontinuidad en la cadena de ADN, se activa una maquinaria de escisión. Esto implica la degradación del fragmento de ADN que contiene el desajuste y la síntesis de una nueva cadena de ADN que corrija el error. (51) (52)

Además de las proteínas MMR, este proceso de reparación requiere la participación de varias otras proteínas que colaboran en la detección, señalización y ejecución de la reparación del desajuste.

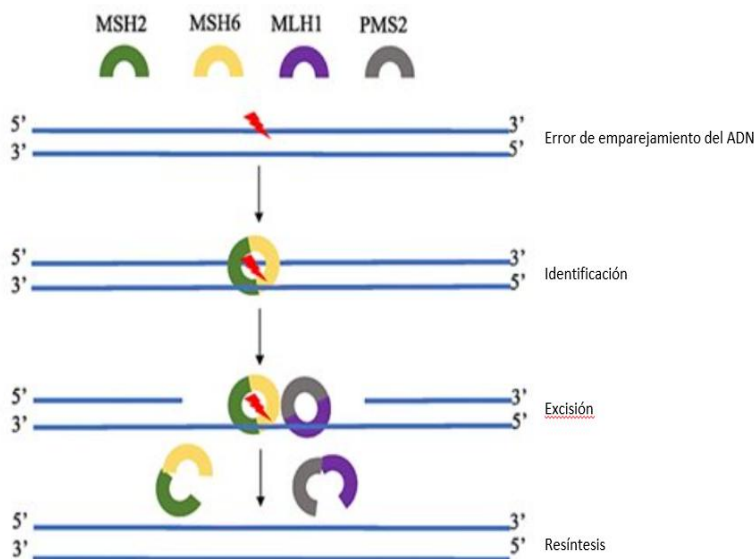


Figura 3. Representación de la función de los heterodímeros MSH2-MSH6 y MLH1-PMS2.

Los heterodímeros MSH2-MSH6 y MLH1-PMS2 desempeñan papeles diferentes en el reconocimiento de errores, la escisión y la resíntesis del ADN en sitios mal emparejados. (53)

Para formar un heterodímero estable tanto PMS2 como MSH6 requieren que las proteínas MLH1 y MSH2 respectivamente se expresen. Un MLH1 defectuoso se manifiesta por la pérdida combinada de MLH1 y PMS2, y una alteración en MSH2 se asocia a la pérdida conjunta de MSH2 y MSH6. Sin embargo, en el caso de una mutación en PMS2 o MSH6,

la expresión de MLH1 o MSH2, no se ve afectada, ya que estos genes se expresan de manera independiente. Por lo tanto, cuando existe mutación en PMS2 solo hay pérdida de expresión de PMS2, y una mutación en MSH6 solo causa la pérdida de expresión de MSH6, mientras que MLH1 o MSH2 continúan expresándose de manera normal.

Tabla 4. Pérdida del heterodímero en función de la pérdida de expresión por inmunohistoquímica.

MMR deficiente	Inmunohistoquímica			
	MLH-1	MSH-2	MSH-6	PMS-2
MLH-1	-	+	+	-
MSH-2	+	-	-	+
MSH-6	+	+	-	+
PMS-2	+	+	+	-

1.5.3 Definición de inestabilidad de microsatélites (IMS)

La pérdida de expresión o de función en cualquiera de los genes del MMR (MLH1, PMS2, MSH6, MSH2) conduce a un estado en el que la reparación de desajustes de ADN está comprometida, conocido como estado deficiente de reparación de desajustes, del inglés, mismatch repair deficient (MMRd). La inactivación de uno de estos genes puede ser debido a mutaciones germinales y/o somáticas o a silenciamiento epigenético. La deficiencia en esta vía de reparación del DNA, da lugar a una inestabilidad en los microsatélites (MSI) del inglés microsatélite instability y que se caracteriza un estado hipermutable de las células, con alteración en la regulación transcripcional o en la apoptosis celular desencadenando un fenotipo tumoral. (54)

Por lo tanto, la MSI es una forma de hipermutabilidad genética caracterizada por alteraciones en la longitud de secuencias repetitivas del ADN. Su presencia indica un mal funcionamiento del sistema MMR. Cuando la MSI es alta (MSI-H), se considera una manifestación fenotípica de MMRd, por lo que ambas condiciones se entienden como biológicamente equivalentes (MMRd/MSI-H).

1.5.4 Análisis del fenotipo de MMRd/MSI-H

La determinación del fenotipo MMRd/MSI-H se ha realizado mediante dos enfoques principales.

- El primero implica el uso de la técnica de inmunohistoquímica (IHQ) para analizar la expresión de las proteínas MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 (MMRd).
- El segundo enfoque implica el uso de la técnica de amplificación por reacción en cadena de polimerasa (PCR) para detectar la inestabilidad de ciertos MS en comparación con el tejido normal.

En el contexto del estudio de MMRd/MSI-H, es importante seleccionar la muestra tumoral adecuada para obtener resultados precisos. En general, se prefiere utilizar la muestra del tumor primario, ya que no está influenciado por los tratamientos realizados, sin embargo, es importante tener en cuenta que existe una concordancia estimada del 80% entre la muestra del tumor primario y la obtenida de la metástasis.

La ESMO publicó en 2019 una recomendación que respalda la determinación del fenotipo MMRd/MSI-H mediante el análisis por IHQ de las cuatro proteínas principales (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) del sistema de MMR. Según esta recomendación, se define el fenotipo MMRd cuando hay una pérdida de expresión nuclear de al menos dos de estas proteínas siempre y cuando las células estromales circundantes tengan tinción positiva. El umbral de corte se establece en el 10%; si la pérdida de tinción es superior al 10%, se considera que el tumor presenta pérdida de expresión de la proteína correspondiente. (55)

En caso de resultados inespecíficos o heterogéneos, especialmente en áreas con tinción heterogénea en el tumor, se pueden realizar repeticiones de la prueba o utilizar métodos complementarios como la técnica de PCR o pruebas moleculares para confirmar el diagnóstico.

Existen diferentes paneles de MS utilizados en el análisis mediante PCR para determinar MMRd/MSI-H.

Dos de los paneles más utilizados son:

1. Panel de dos nucleótidos y tres dinucleótidos: Este panel utiliza dos MS mono nucleótidos (BAT-25 y BAT-26) y de tres MS dinucleótidos (D5S346, D2S123, D17S250).

2. Panel recomendado por la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO): Este panel ha demostrado tener una mayor sensibilidad y especificidad en la detección de inestabilidad de MS. Analiza cinco poly-A mono nucleótidos (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 y NR-27).

Ambos definen el fenotipo MMRd/MSI-H cuando existe pérdida de estabilidad en mínimo dos de los cinco MS estudiados.

La PCR y la IHQ proporcionan información diferente en la determinación del fenotipo MMRd/MSI-H. La PCR se utiliza principalmente para detectar la presencia de una alta inestabilidad de MS y diagnosticar la presencia de MSI-H. Por otro lado, la IHQ permite diagnosticar el fenotipo MMRd y proporciona información sobre qué proteínas del sistema de reparación del ADN están alteradas. Ambas técnicas tienen un alto porcentaje de detección del fenotipo MMRd/MSI-H, aunque la PCR es más sensible que la IHQ, especialmente en casos esporádicos donde alcanza un porcentaje de detección superior al 90%, mientras que la IHQ detecta alrededor del 88% de estos casos.

Cuando se diagnostica un CE asociado a MMRd/MSI-H, es esencial comprobar si dicha alteración está relacionada con la hipermetilación del promotor del gen MLH1. Si se confirma que no existe esta causa epigenética, resulta imprescindible derivar a la paciente a la unidad de consejo genético. Allí se podrá determinar si hay una mutación hereditaria en los genes del sistema MMR, característica del síndrome de Lynch o cáncer colorrectal hereditario no polipósico (HNPCC).

1.6 Clasificación molecular de los tumores de endometrio según la plataforma del Atlas del Genoma del Cáncer

El proyecto Atlas del Genoma el Cáncer (traducción del inglés The Cancer Genome Atlas, cuyas siglas son TCGA) (56) marca un punto de inflexión en el CE con la identificación de los grupos moleculares. El TCGA usa técnicas de secuenciación del genoma completo, secuenciación del exoma, estudio de la inestabilidad de microsatélites y el análisis del número de copias de ADN alterados en el tumor (cuyas siglas en inglés corresponden a SCNv).

La secuenciación del exoma consiste en determinar la composición de los exones (fracción de ADN que codifica la producción de proteínas) para identificar una variante genética que puede tener implicación clínica.

Se analizaron 373 muestras tumorales de pacientes con tumores de endometrio (307 tumores endometrioides, 53 tumores serosos y 13 histología mixta).

Se secuenciaron los exomas de 232 de las 373 muestras tumorales, acorde a las frecuencias y patrones de sustitución de nucleótidos, la carga de mutaciones tumorales (cuyas siglas en inglés corresponden a TBM), el estado de la inestabilidad de microsatélites y el número de SCN. Tras analizar todos los resultados se identificaron 4 subgrupos moleculares de CE:

- POLEmut o grupo ultra-mutado: Se caracteriza por mutaciones en el dominio exonucleasa del gen POLE, que alteran la función de la polimerasa del ADN y generan un fenotipo ultra-mutado con una elevada carga de mutaciones somáticas (~232/megabase). Las mutaciones más frecuentes son P286R y V411L, que representan alrededor de dos tercios de los casos, y suelen detectarse en los exones 9, 11, 13 y 14. Este subgrupo está compuesto principalmente por carcinomas endometrioides, tanto de bajo (52%) como de alto grado (47%). (57)
- MSI-H o grupo hipermutado: estaba compuesto por carcinomas endometrioides con alteraciones en las proteínas de reparación del ADN (MLH1, PMS2, MSH2, MSH6). Se caracteriza por una elevada tasa de mutaciones (18×10^6 mutaciones por megabase), aunque menor que en el grupo ultramutado. El mecanismo más frecuente fue el silenciamiento epigenético de MLH1 mediante metilación de su promotor. Histológicamente, predominaban los tumores endometrioides: 27,7% grado 1, 33,8% grado 2 y 38,5% grado 3. Este grupo se identifica como MSI-H y constituye la base sobre la cual se desarrolla este trabajo de Tesis.
- El grupo con variaciones en el Número de Copias Somáticas bajo (cuyas siglas en inglés corresponden a CNL): Se caracteriza por un número moderado de mutaciones (~2,9/megabase). Está compuesto principalmente por carcinomas endometrioides (93,3% grado 1-2; 6,7% grado 3). Presenta alta frecuencia de mutaciones en CTNNB1 (53%) y alteraciones inactivadoras en la vía AKT. Se considera el grupo sin un perfil molecular específico (NSMP). (cuyas siglas en inglés son NSMP) (58)

- El grupo con un alto número de Copias Somáticas (cuyas siglas en inglés corresponde a CNH). Constituido principalmente por carcinomas serosos (71,6%), además de un 25–30% de grado 3 y un 5,1% de histología mixta. Se caracteriza por una alta frecuencia de mutaciones en TP53 (92%), lo que justifica su denominación “serous-like”, ya que la mayoría de los carcinomas serosos se incluyen en este grupo. (59) (60)

En términos de pronóstico, análisis del TCGA mostro como CE del subgrupo POLEmut, tenían una SLP superior que el resto de los subgrupos, en contraste, los tumores del subgrupo serous-like fueron los de peor pronóstico ($p = 0.003$, prueba de log-rank). Los otros dos subgrupos, MSI-H y SCNV, mostraron un pronóstico intermedio.

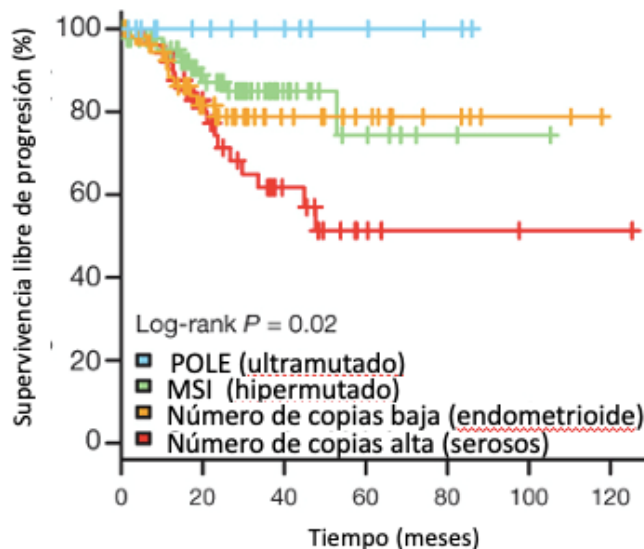


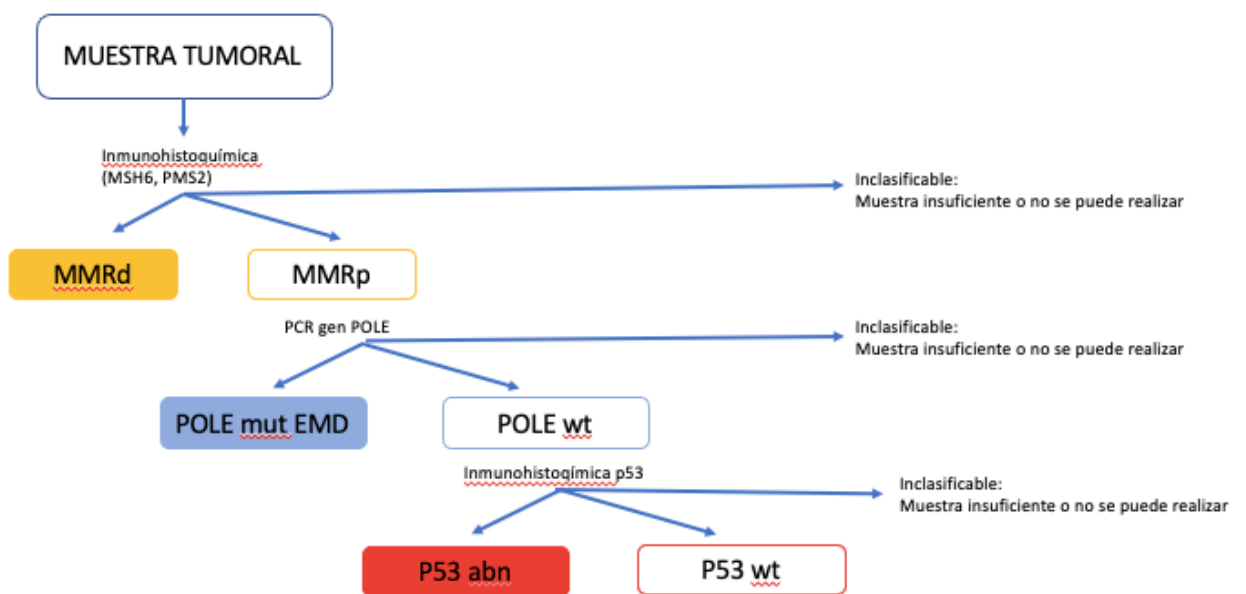
Figura 4. Supervivencia libre de progresión acorde al subgrupo molecular. Adaptación (56)

1.7 Clasificación molecular de los tumores de endometrio simplificada

Debido a la alta complejidad de la caracterización molecular utilizado en el TCGA y al elevado coste de los métodos utilizados en este tipo de análisis, se han desarrollado alternativas simplificadas para categorizar los tumores de endometrio que puedan ser implementadas en la práctica diaria.

En este sentido la clasificación más extendida es la denominada ProMisE (cuyas siglas corresponden a “Proactive Molecular Risk Classifier for Endometrial Cancer”) establece cuatro subgrupos de riesgo, análogos a los definidos por el TCGA: MMRd (hipermutado), POLE (ultramutado), p53 wt/NSMP (bajo número de copias) y p53 mutado o serous-like (alto número de copias). El análisis se realiza en pasos secuenciales: primero se detecta por inmunohistoquímica la pérdida de proteínas MMR; posteriormente se estudian mutaciones en el gen POLE; y finalmente, se analiza la expresión de p53 mediante inmunohistoquímica. en inglés corresponden a “Proactive Molecular Risk Classifier for Endometrial Cancer”). (61)

Figura 5. Clasificación molecular ProMise. Adaptación (61) (62)



La clasificación ProMise fue validada retrospectivamente en confirmando su valor pronóstico. (61) (62)

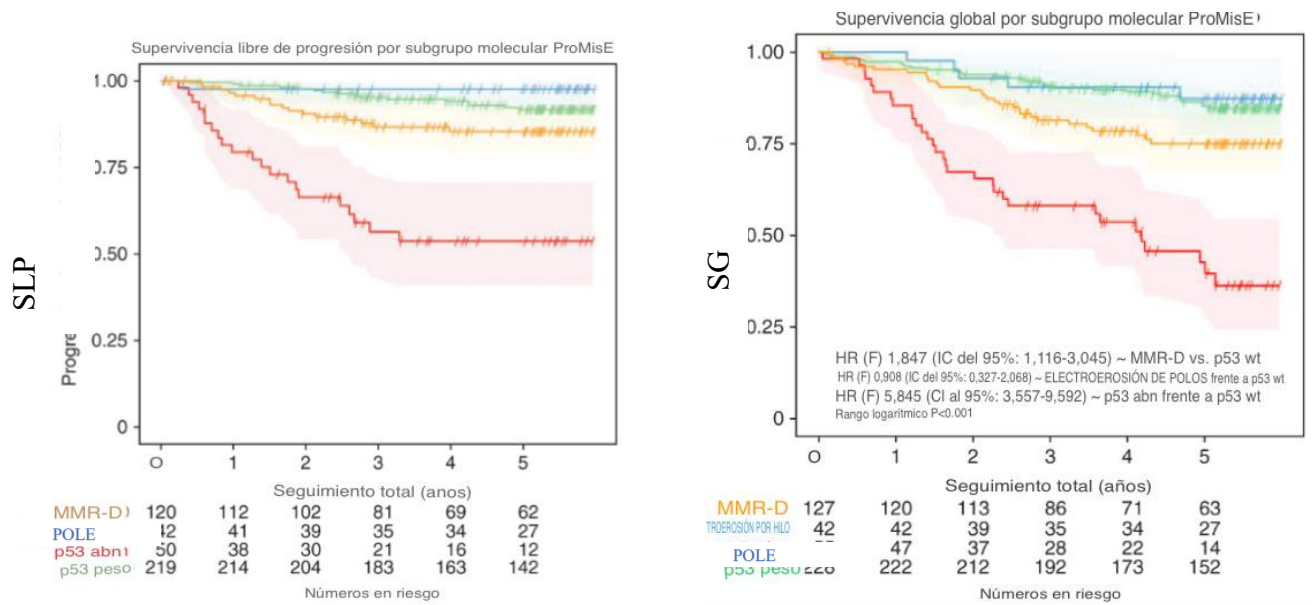
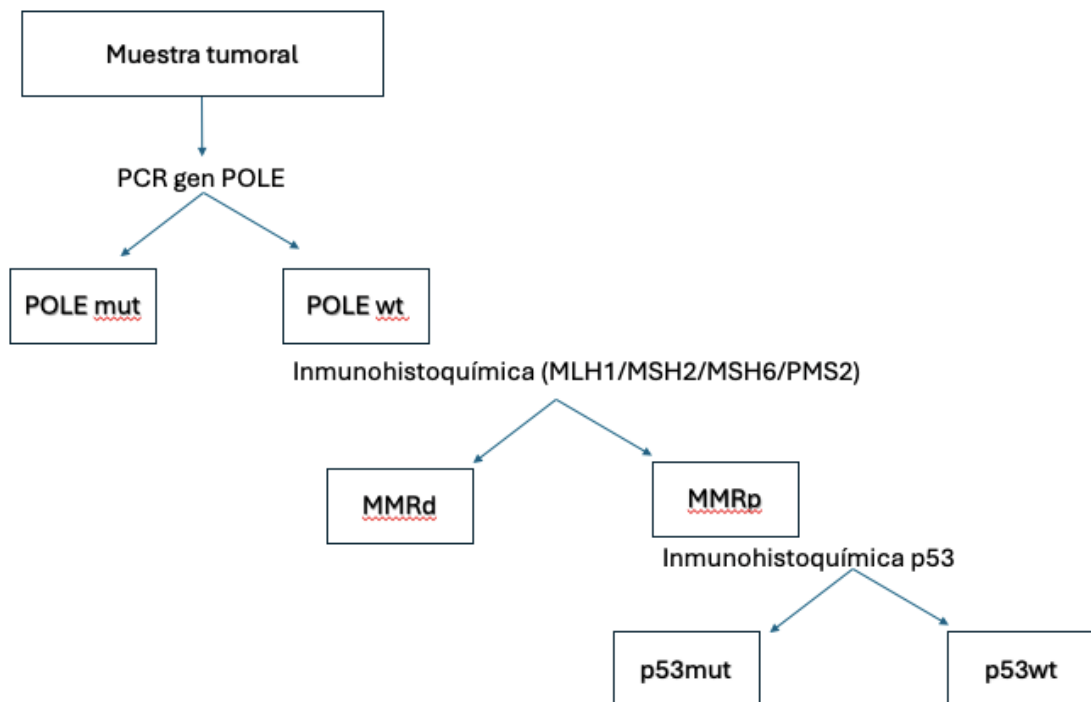


Figura 6. SLP y SG acorde a los subgrupos del ProMise. Adaptación (62).

Figura 7. Clasificación molecular TransPORTEC. Adaptación (63)



El análisis molecular TransPORTEC, basado en TCGA, se validó en 410 pacientes con cáncer de endometrio de alto riesgo del estudio PORTEC-3, tratados con radioterapia o quimiorradioterapia. Se evaluaron p53 y MMR mediante inmunohistoquímica y POLE mediante secuenciación. Los tumores se clasificaron en cuatro grupos: p53 anormal (p53abn), POLE mutado (POLE-mut), pérdidas de proteínas MMR (MMRd) y tumores sin perfil molecular específico (cuyas siglas en inglés eran NSMP).

El estudio molecular confirmó el carácter pronóstico de la clasificación. Demostró que la presencia de p53abn era un factor de mal pronóstico tanto para supervivencia libre de recaída (HR de 2,52, IC del 95% 1,61 a 3,91, $p=0,001$) como para SG (HR 2,3 IC 95% 1,42-3,73; $p=0,001$). Mientras que la presencia de POLE-mut se asoció con un pronóstico muy favorable para supervivencia libre de recaída (HR 0,08; IC 95% 0,01-0,58; $p=0,012$) y para la SG (HR, 0,12; IC del 95%, 0,02 a 0,87; $P 5 .036$). Los grupos de MMRd y NSMP nuevamente mostraron un pronóstico intermedio.

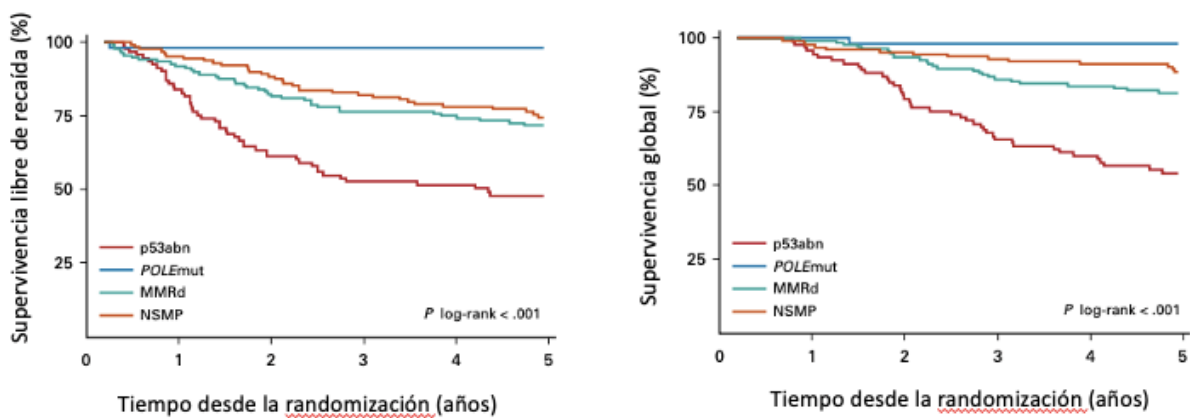


Figura 8. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para 5 años: supervivencia libre de recaída y supervivencia global;Adaptación (64)

1.7.1 Doble Clasificador

La mayoría de los CE pueden ser clasificados en una sola clase molecular, denominada como CE de "clasificador único". Sin embargo, entre un 3% y un 6% de los tumores muestran más de una característica clasificadora molecular, denominados como CE de "múltiples clasificadores". Estos CE de múltiples clasificadores incluyen aquellos con mutación en POLE y p53 anormal (POLEmut-p53abn), MMRd/MSI-H y p53abn(MMRd-p53abn), MMRd/MSI-H y POLE combinados (MMRd-POLEmut), y

los que presentan los tres defectos (MMRd–POLEmut–p53abn). Resulta interesante observar que los CE clasificados como MMRd–p53abn y POLEmut–p53abn, comparten similitudes en los cambios mutacionales con los CE de "clasificador único" MMRd/MSI-H y POLEmut, respectivamente. Este hallazgo sugiere fuertemente que las variantes de TP53 que aparecen en el contexto de un CE MMRd/MSI-H o POLEmut probablemente sean eventos secundarios que no afectan el perfil molecular del tumor, considerándose mutaciones subclonales. Esta interpretación se ve respaldada por el fenotipo de los CE con múltiples marcadores de clasificación, que muestran características asociadas con los CE MMRd/MSI-H o POLEmut, como la presencia de linfocitos infiltrantes del tumor (TILs), linfocitos peritumorales y metaplasia escamosa, en lugar de características similares a los CE serosos (p53abn). Estas mutaciones "no hotspot" en TP53 parecen no afectar la expresión ni función de p53.

Este hecho se confirmó en un estudio donde se analizaron 3518 ECs clasificados molecularmente acorde a la clasificación de TCGA, 107 (3%) tumores mostraron p53abn además de otro o más clasificadores, incluyendo 64 con MMRd/MSI-H–p53abn, 31 con POLEmut–p53abn, y 12 con las tres aberraciones (MMRd/MSI-H–POLEmut–p53abn). Los tumores MMRd/MSI-H–p53abn se agruparon molecularmente con los tumores MMRd/MSI-H de clasificador único, en lugar de con los tumores p53abn de clasificador único. Por otro lado, los tumores POLEmut–p53abn se agruparon mayoritariamente con los tumores POLEmut de clasificador únicos y raramente con los tumores p53abn de clasificador únicos (ambos $p \leq 0.001$). Se observó una diferencia significativa en la Supervivencia libre de recaída (SLR) a 5 años entre los pacientes con CE MMRd/MSI-H–p53abn y POLEmut–p53abn, quienes presentaron una SLR del 92.2% y del 94.1%, respectivamente, en comparación con los CE de p53abn de clasificador único, con una SLR del 70.8%. (65) (66)

1.7.2 Tratamiento para CE avanzado y/o recurrente basado en quimioterapia

Las pacientes que debutan con enfermedad metastásica o aquellas que presentan un CE recurrente hasta recientemente eran tratadas exclusivamente con quimioterapia de primera línea con una mediana de supervivencia global (SG) en torno a los 12-15 meses (67).

El tratamiento de primera línea considerado estándar desde el año 2012 hasta el año 2021 ha sido la combinación de paclitaxel y carboplatino acorde a los resultados del estudio GOG#209.

El GOG#209 un estudio de no inferioridad comparando el régimen doxorrubicina (45mg/m²), cisplatino (59mg/m²) y paclitaxel (160mg/m²) (TAP) considerado el estándar hasta el momento, con carboplatino (AUC6)-paclitaxel(175mg/m²) (CP). Los resultados demostraron que la combinación CP no era inferior al tratamiento con la triple terapia con una SLP de 14 meses para ambos grupos (HR 1,03) y una SG equivalente (37 meses en el grupo CP frente a 41 meses en el grupo TAP; (HR, 1.032; 90% CI, 0.93 to 1.15). Además, se demostró que la combinación de carboplatino-paclitaxel tenía mejor perfil de tolerabilidad. (68)

Una alternativa al tratamiento de quimioterapia de primera línea es la terapia endocrina con progestágenos principalmente con medroxiprogesterona o acetato de megestrol, pero también se utilizan los moduladores selectivos del receptor de estrógeno como el tamoxifeno o el fulvestrant o también los inhibidores de la aromatasa como el letrozol, el anastrozol o el exemestano. (69)

Aquellas pacientes que progresaban al tratamiento con platino tenían un pronóstico infausto dada la falta de tratamientos activos. (Ver tabla) (70)

Tabla 5. Estudios Fases 2 con agentes citotóxicos y antiangiogénicos en 2as líneas y posteriores de tumores de endometrio.

AGENTE	TASA RESPUESTA	MEDIANA DURACIÓN RESPUESTA	SLP	SG
Doxorrubicina liposomal (71)	9,5%	3 meses	----	8,2 meses
Paclitaxel (72)	27,3%	4,2 meses	----	10,3 meses
Gemcitabina (73)	4%	11 meses	7 meses	No alcanzada
Topotecan (74)	9%	4,5 meses	----	----
Pemetrexed (75)	4%	----	2,7 meses	9,4 meses
Oxaliplatino (76)	13,5%	10,9 meses	----	----
Ixabepilone (77)	12%	7,9 meses	2,9 meses	8,7 meses
Bevacizumab (78)	13,5%	6 meses	4,2 meses	10,5 meses
Aflibercept (79)	7%	----	2,9 meses	14,6 meses
Sunitinib (80)	18,1%	----	3 meses	19,4 meses
Sorafenib (81)	5%		Carcinomas: 3,2 meses Carcinosarcoma s; 1,8meses	Carcinomas; 11,4 meses Carcinosarcomas; 5 meses.

1.7.3 Inmunoterapia en CE.

En el momento actual una de las terapias más prometedoras en campo de la oncología es la vía de la inmunogenicidad tumoral.

La inmunoterapia oncológica (IO) aprovecha la inmunogenicidad tumoral, donde las mutaciones generan neoantígenos que activan linfocitos T CD3+ y CD8+, aumentando la respuesta citotóxica. Los tumores de endometrio con alta carga mutacional, como los POLEmut y MMRd/MSI-H, son más sensibles a estos tratamientos.

La IO en el campo de la oncología comprende un conjunto de estrategias terapéuticas cuyo objetivo es modular la respuesta inmunitaria antitumoral. Hay diferentes clases de IO, pero, en los tumores de endometrio los más estudiados son los fármacos que bloquean CTLA-4, PD-1 y PD-L1 (también conocidos como Immune Checkpoint Inhibitors, ICIs).

Al inhibir estas vías, se restaura la activación y función efectora de los linfocitos T citotóxicos, favoreciendo la destrucción tumoral. Los principales fármacos son los inhibidores de PD-1 (nivolumab y pembrolizumab), Inhibidores de PD-L1 (atezolizumab, duravalumab, avelumab) y anti CTLA-4 (ipilimumab).

Estudios multicohortes en fase inicial mostraron la actividad de los inhibidores PD-1, en concreto de Pembrolizumab en tumores sólidos con las características de MMRd/MSI-H llevando a la aprobación de este fármaco como Tumor agnostic por la FDA (Food Drug Administration) en mayo de 2017 para tumores sólidos MMRd/MSI-H irresecables o metastásicos tras progresión con tratamiento estándar.

Posteriormente el estudio Fase 2 como KEYNOTE-158 confirmó la eficacia de pembrolizumab (200 mg cada 3 semanas) en una cohorte de pacientes con CE (49 pacientes) que habían progresado al tratamiento con platino con unas respuestas del 57% (16% completas y 40% parciales). Los efectos secundarios más frecuentes fueron astenia y diarrea, con un 9% de discontinuaciones por toxicidad y 3 casos de toxicidades grado 4 (síndrome de Guillain-Barré, transaminasas elevadas y enterocolitis con neutropenia). (82)

Este estudio llevo a la aprobación de Pembrolizumab por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) para el tratamiento de pacientes con tumores de endometrio MMRd/MSI-H que han progresado tras un tratamiento con carboplatino-paclitaxel.

A continuación, otro agente Anti-PD1, Dostarlimab (TSR-042) fue evaluado en el ensayo clínico Fase1b GARNET. Pacientes con CE MMRd/MSI-H (83) recibieron tratamiento con dostarlimab 500 mg cada 3 semanas durante 4 dosis, seguido de 1000 mg cada 6 semanas hasta progresión o toxicidad inaceptable. Los resultados fueron muy prometedores con una tasa de respuesta objetiva del 45% % y con más del 85% de las pacientes en respuesta tras 27 meses de seguimiento. Los efectos secundarios más frecuentes (>10%) fueron astenia, diarrea, fatiga y náuseas. Respecto a las toxicidades grado 3 o superior incluyeron anemia (2,9%), colitis (1,9%) y diarrea (1,9%). A raíz de estos resultados, el 21 de abril de 2021 la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) aprobó dostarlimab para el tratamiento de pacientes con tumores de endometrio MMRd/MSI-H que han progresado tras un tratamiento con carboplatino-paclitaxel.

Otros inhibidores de PD-1/PD-L1 como nivolumab, avelumab y durvalumab han mostrado también actividad en monoterapia en tumores avanzados de CE asociados a MMRd/MSI-H pero no han sido aprobados por la EMA. (84) (85)

1.7.3.1 Inmunoterapia asociada a quimioterapia para enfermedad avanzada o recurrente

Debido a la eficacia de los inhibidores de PD-1/PD-L1 en enfermedad recurrente resistente al platino, se estudió su combinación con quimioterapia. Esta aumenta la inmunogenicidad tumoral al generar neoantígenos y mejorar su presentación a las células T, potenciando la respuesta inmunitaria y generando un posible efecto sinérgico con la inmunoterapia. (86)

Diferentes ensayos clínicos de Fase 3 han explorado esta aproximación. Cabe destacar aquellos cuyos resultados han sido la base para un cambio en el tratamiento estándar.

El ensayo clínico fase 3 ENGOT-EN-6-NSGO/GOG-3031/RUBY evaluó la eficacia y seguridad del tratamiento de quimioterapia estándar carboplatino-paclitaxel (CP) concomitante con dostarlimab durante 6 ciclos seguido de dostarlimab de mantenimiento hasta un máximo de 3 años comparado con CP. en pacientes con tumores epiteliales de endometrio en estadios III/IV con enfermedad medible o en recaída. Los objetivos primarios fueron la SLP en pacientes MMRd/MSI-H y en la población general, así como la SG en la población general. En la población MMRd/MSI-H (23,9% de los pacientes), la SLP a los 24 meses fue del 61,4% en el grupo de dostarlimab frente al 15,7% en el grupo placebo, con una reducción del riesgo de progresión o muerte del 72% en el grupo de dostarlimab (HR 0,28; $P < 0,001$). La SG en esta población fue del 83,3% con dostarlimab y del 58,7% con placebo (HR 0,30; $P < 0,001$). (87)

En la población total, la SLP a los 24 meses fue del 36,1% en el grupo de dostarlimab y del 18,1% en el grupo placebo, con una reducción del riesgo de progresión o muerte del 36% (HR 0,64; $P < 0,001$). La SG a los 24 meses fue del 71,3% con dostarlimab y del 56,0% con placebo (HR 0,64; $P < 0,001$).

El ensayo fase 3 NRG-GY018 evaluó la eficacia y seguridad de pembrolizumab más CP seguido de Pembrolizumab por un máximo de 2 años frente a placebo más CP en

pacientes con CE en estadios III/IV o recaídas. El estudio tenía dos cohortes, una para pacientes con CE MMRd/MSI-H y otra para CE MMRp/MSS. El objetivo primario fue la SLP en las cohortes MMRd/MSI-H y MMRp/MSS. Entre los secundarios destacaron seguridad y SG.

En el análisis a 12 meses de las 225 pacientes incluidas en la cohorte dMMR/MSI-H, se objetivó SLP del 74% con pembrolizumab, frente al 38% con placebo, con un HR de 0,30 (IC 95%, 0,19-0,48; $P < 0,001$), indicando una reducción del 70% en el riesgo de progresión o muerte. En la cohorte pMMR/MSS, la mediana de SLP fue de 13,1 meses en el grupo de pembrolizumab y 8,7 meses en el grupo placebo (HR: 0,54; IC 95%, 0,41-0,71; $P < 0,001$). Los eventos adversos observados fueron acordes con el perfil esperado de pembrolizumab en combinación con quimioterapia. (88). La SG era todavía inmadura en el momento de la publicación de los resultados.

El ensayo fase III ENGOT-en7/AtTEnd evaluó atezolizumab en combinación con quimioterapia estándar en 549 pacientes con carcinoma o carcinosarcoma de endometrio avanzado o recurrente, independientemente del estado de MMR. La combinación mostró beneficios significativos en la SLP en la población MMRd/MSI-H, sin embargo, a diferencia de los estudios previos, no se observó ningún beneficio en el grupo de MMRp/MSS. Este estudio a diferencia de los previos no cuenta con la aprobación por la EMA. (89)

1.7.3.2 Inmunoterapia asociada a inhibidores de la proteína PARP

La hipótesis biológica para combinar inhibidoras de la PARP con la IO es que estos incrementan el daño en el DNA acompañado por un incremento de los linfocitos TCD8 a través de la vía STING produciendo una respuesta antitumoral sinérgica.

En el estudio Fase 3 DUO-E se incluyeron un total de 718 que fueron randomizadas a 3 brazos, brazo estándar CP, CP+ Durvalumab/Placebo seguido de Durvalumab/Placebo y un tercer brazo con CP+ Durvalumab/Olaparib seguido de Durvalumab/Olaparib hasta progresión y/o toxicidad inaceptable. Los resultados mostraron un beneficio estadísticamente significativo en la SLP a favor del brazo de de tratamiento con durvalumab (HR, 0.71 [IC 95%, 0.57 a 0.89]) y durvalumab + olaparib (HR, 0.55 HR, 0.55 [IC 95%, 0.43 a 0.69]; $P < 0.0001$) en comparación con el grupo control. En el análisis exploratorio preespecificado en el subgrupo MMRp/MSS, el HR fue de 0.57 (IC

95%, 0.44 a 0.73) para durvalumab + olaparib frente al control. Los resultados intermedios de SG corroboraron los hallazgos primarios, mostrando una tendencia favorable en los brazos con durvalumab y durvalumab + olaparib. En cuanto a la seguridad, no se objetivaron eventos adversos inesperados. (90) Acorde a estos resultados en agosto de 2024 la EMA aprueba este esquema de tratamiento para población MMRp/MSS.

En contra en el grupo de dMMR/MSI-H, la adición de Olaparib a Durvalumab no pareció añadir beneficio adicional al obtenido por el Durvalumab.

1.7.3.3 Inmunoterapia asociada a anti-angiogénico

Lenvatinib es un inhibidor multiquinasa tirosin kinasa que bloquea receptores clave como VEGFR, FGFR, PDGFR, RET MMRd/MSI-H KIT, involucrados en la angiogénesis y proliferación tumoral.

El estudio de fase 3, KEYNOTE-775, evaluó la combinación de Lenvatinib-Pembrolizumab frente a quimioterapia en pacientes con CE tras progresión a primera línea basada en platino. Las pacientes se aleatorizaban con una ratio 1:1 a recibir lenvatinib 20mg p.o. día en combinación con Pembrolizumab 20mg iv cada 3 semanas o quimioterapia a elección del investigador (paclitaxel semanal o doxorrubicina cada 28 días hasta toxicidad inaceptable o progresión de la enfermedad. Se alcanzaron los objetivos del estudio, demostrando que la combinación de Lenvatinib-Pembrolizumab mejora de manera significativa la SLP y la SG en pacientes con CE MSS/MMRp que habían progresado tras quimioterapia. En la población MMRp, se observó una mPFS de 6.6 frente a 3.8 meses, y una mOS de 17.4 frente a 12.0 meses. En la población global, la mPFS fue de 7.2 frente a 3.8 meses, y la mOS de 18.3 frente a 11.4 meses. Los efectos adversos más frecuentes fueron hipertensión, hipotiroidismo, diarreas y náuseas. (91) En consecuencia, la EMA aprobó la combinación de lenvatinib y Pembrolizumab en CE tras progresión a platino en noviembre de 2021.

1.7.3.4 Biomarcadores de respuesta a tratamiento con inmunoterapia

Acorde a lo explicado previamente, en el momento actual el biomarcador más destacado y predictivo de respuesta a IO en CE es el biomarcador MMRd/MSI-H. Sin embargo,

existen otros biomarcadores que pueden influir en la respuesta a la Inmunoterapia como es PDL1 y el TMB.

La proteína de muerte celular programada (PD-1) es uno de los receptores del punto de control inmunitario que se expresa en los linfocitos T CD4 que infiltran el tumor y activan a los linfocitos T CD8. Cuando PD1 se une a PD-L1 bloquea la activación de las células T, permitiendo la evasión inmunitaria de las células tumorales. El papel de PD-L1 como biomarcador de respuesta al tratamiento de IO, en el cáncer de endometrio está poco definido. En primer lugar, la prevalencia de positividad para PD-L1 varía ampliamente según el método utilizado para determinar su expresión. En segundo lugar, en los distintos estudios realizados no se ha logrado establecer una correlación consistente entre la positividad para PD-L1 y la respuesta clínica a la IO.

En el estudio NRG-GY018 ya comentado previamente, uno de los objetivos secundarios fue evaluar la SLP acorde a la expresión de PD-L1 ($CPS \geq 1$ vs $CPS < 1$). En la cohorte MMRd/MSI-H mostró que pembrolizumab frente a placebo, mejoró la SLP tanto en pacientes con $CPS \geq 1$ (no alcanzada vs 8,3 meses; HR: 0,27) como en $CPS < 1$ (12,0 vs 4,9 meses; HR: 0,30), indicando beneficio clínico independientemente de la expresión de PD-L1. (92)

Del mismo modo, en el estudio ENGOT-en7/ AtTend en pacientes con MMRd y PD-L1 ($IC \geq 1\%$), la mediana de SLP no fue alcanzada en el brazo con atezolizumab frente a 6,9 meses en el brazo placebo (HR: 0,36; IC 95 %: 0,23–0,57). En el estudio DUO-E, se reportaron los datos, pero en el total de la población y se objetivó que los pacientes PD-L1 positivos ($TAP \geq 1\%$) tratados con durvalumab + olaparib alcanzaron una SLP de 20,8 meses vs 9,5 meses con tratamiento estándar (HR: 0,42). En cambio, en pacientes PD-L1 negativos ($TAP < 1\%$), la SLP fue similar entre grupos: 10,1 vs 9,9 meses (HR: 0,80), sin beneficio clínico claro. No obstante, estos estudios valoraban la expresión del PD-L1 con la escala de TAP (Tumor Area Positivity) y dicha escala no está avalada ni aprobada para la selección de pacientes candidatos a realizar terapia con inhibidores de PD-1/PD-L1. (89)

Otro biomarcador interesante es el TMB (Tumor Mutational Burden) es la cantidad de mutaciones en el ADN tumoral. Aquellos tumores con una TMB-High producen una

mayor cantidad de neoantígenos y por tanto puede activar una respuesta inmune, especialmente la activación de células T efectivas. (93)

En el estudio clínico Fase 2 KEYNOTE-158, se evaluó la eficacia de pembrolizumab en pacientes con tumores sólidos avanzados previamente tratados. Uno de los objetivos principales fue analizar la relación entre el TMB-H y la respuesta al tratamiento. Se utilizó un umbral de ≥ 10 mutaciones por megabase para definir TMB-H. La TR fue del 29.4% (intervalo de confianza del 95%: 17.2%–43.7%), la SLP fue de 4.1 meses. y la SG de 12,9 meses. Estos resultados sugieren que los pacientes con H-TMB tienen una mayor probabilidad de responder al tratamiento con pembrolizumab. (82)

En el estudio GARNET analizamos la correlación entre el estatus de MMR, el TMB y el CPS. Se observó que el 86 % de los tumores dMMR también eran TMB-H, y el 72 % eran CPS positivos. Además, el 44,5 % de los tumores eran simultáneamente dMMR, TMB-H y CPS positivos. Al analizar la actividad según la expresión de estos biomarcadores, se evidenció que las TR en el grupo de dMMR, TMB-H y CPS positivos, fue del 60 %. Asimismo, los tumores pMMR pero TMB-H presentaron una ORR similar a los dMMR. En contraste, aquellos tumores dMMR pero TMB-L lograron solo un 23 % de respuestas, lo que sugiere un papel relevante del TMB en la eficacia del tratamiento inmunoterapéutico. (94)

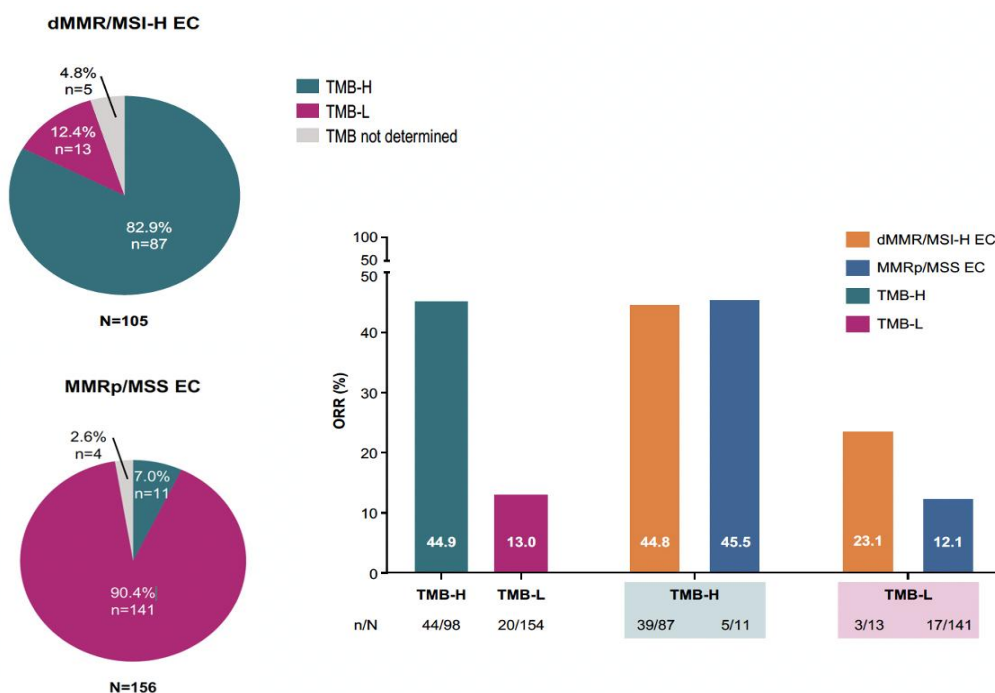


Figura 9. Correlación entre TMB y MMR estudio GARNET. Adaptación (93)

	dMMR / MSI-H CE:	MMRp / MSS CE
TMB, n / N (%; IC del 95%)		
TMB-HI	48/101 (47.5%; 37.5–57.7)	
TMB-H por cohorte	43/90 (47.8%; 37.1–58.6)	5/11 (45.5%; 16.7–76.7)
TMB-L	22/155 (14.2%; 9.1–20.7)	
TMB - L por cohorte	3/14 (21.4%; 4.7–50.8)	19/141 (13.5%; 8.3–20.2)
SPC (expresión de PD-L1), n / N (% ; IC del 95%)		
≥1	58/142 (40.8%; 32.7–49.4)	
> 1 por cohorte	45/82 (54.9%; 43.5–65.9)	13/60 (21.7%; 12.1–34.2)
<1	13/76 (17.1%; 9.4–27.5)	
< 1 por cohorte	10/32 (31.3%; 16.1–50.0)	3/44 (6.8%; 1.4–18.7)
TMB y CPS, n / N (% ; IC 95%)		
TMB-H y CPS ≥ 1	32/53 (60.4%; 46.0–73.5)	4/6 (66.7%; 22.3–95.7)
TMB-H y CPS < 1	5/17 (29.4%; 10.3–56.0)	0/1
TMB-L y CPS > 1	2/5 (40.0%; 5.3–85.3)	9/54 (16.7%; 7.9–29.3)
TMB-L y CPS < 1	1/5 (20.0%; 0.5–71.6)	3/42 (7.1%; 1.5–19.5)

Tabla 6. Correlación entre MMR, PDL1 y TMB. Adaptación (94)

2 JUSTIFICACIÓN

El proyecto de esta tesis se concibió en el año 2019, cuando el CE avanzado o recurrente representaba un desafío significativo en términos de salud, dada la escasez de alternativas terapéuticas disponibles. Sin embargo, en los últimos años y la caracterización molecular del CE con la identificación de cuatro subgrupos moleculares ha permitido mejorar de forma significativa el paradigma de la enfermedad.

Uno de los subgrupos moleculares que ha suscitado mayor interés ha sido el conocido como MMRd/MSI-H. Este subgrupo representa aproximadamente el 30% de los casos de CE y constituye la base del presente trabajo de tesis.

En los últimos años, la introducción de la IO basada en los inhibidores de PD1/PD-L1 ha liderado un cambio significativo en el tratamiento sistémico de las pacientes con CE avanzado y/o recurrente. En el momento del inicio de este trabajo de tesis solo disponíamos de los resultados del estudio GARNET y del estudio KEYNOTE 158. Ambos estudios con Dostarlimab y el Pembrolizumab respectivamente, mostraron un alta de actividad tumoral en pacientes con CE MMRd/MSI-H en progresión a primera línea de tratamiento basado en carboplatino-paclitaxel. Un 50% de las pacientes respondían y un 80% de ellas con una duración de la respuesta muy prolongada. Sin embargo, restaba el otro 50% de las pacientes que, no respondieron al tratamiento con IO a pesar de compartir el mismo biomarcador.

Este aspecto pone de manifiesto la complejidad de la respuesta terapéutica en el CE MMRd/MSI-H y subraya la importancia de identificar biomarcadores adicionales, más allá del estatus del MMR, que permitan predecir la respuesta o resistencia a los inhibidores de PD-1/PD-L1 en este subgrupo molecular.

Hasta la fecha de la concepción de este trabajo seguía siendo desconocido si las pacientes respondían de manera diferente debido al mecanismo que había generado el fenotipo de MMRd/MSI-H. Adicionalmente, los patrones de respuesta a la IO podían ser influenciados por factores genómicos más allá del fenotipo MMRd/MSI-H.

Todo ello subraya la necesidad de una caracterización más exhaustiva y específica del CE con fenotipo MMRd/MSI-H para comprender completamente los determinantes de la respuesta a la inmunoT.

El impacto que ha tenido la introducción de la IO en el tratamiento del CE asociado a MMRd/MSI-H con el subsiguiente impacto en la supervivencia de las pacientes ha sido la razón del desarrollo de este trabajo de tesis.

El objetivo principal de este trabajo es identificar biomarcadores específicos en la población MMRd/MSI-H que permitan optimizar la selección de pacientes e identificar aquellas que más se beneficiarán del tratamiento.

Además, durante el desarrollo de este proyecto de tesis, se decidió analizar el impacto de las toxicidades inmunomediadas podría tener en la respuesta al tratamiento en términos de SLP. Este enfoque busca proporcionar una comprensión más profunda de la relación entre la respuesta inmune inducida por el tratamiento y su eficacia terapéutica en el contexto del CE.

Este proyecto de tesis tiene un carácter exploratorio lo cual permite analizar una amplia gama de variables, características clínicas y moleculares. Esto puede conducir a la identificación de nuevas vías de investigación que permitan el desarrollo de estrategias terapéuticas más efectivas y personalizadas para el CE asociado a MMRd/MSI-H.

3 HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis primaria

- Los CE avanzados y recurrentes asociados a MMRd/MSI-H que han realizado tratamiento con anti-PD-1/PD-L1 presentan una mejor supervivencia global (SG) y mejor supervivencia libre de enfermedad (SLE) que la reportado hasta el momento en la literatura.

3.2 Hipótesis secundarias

- La pérdida de específica de una de las proteínas del sistema MMR: MLH1, PMS2, MSH6, MSH2 influye en la respuesta al tratamiento con IO.
- La causa subyacente al fenotipo dMMR influye en la respuesta al tratamiento de InmunoT
- La presencia de TMB-H y/o la positividad para PD-L1 asociado al fenotipo MMRd/MSI-H son factores predictivos de respuesta al tratamiento con InmunoT.
- La presencia de “doble clasificador” no altera la respuesta en CE dMMR/MSI-H
- Las pacientes que presentan una toxicidad inmunomedida severa presentan mejores resultados a largo plazo.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Primario

Determinar si en pacientes con CE avanzado/recurrente MRd/MSI-H el tratamiento con inhibidores de PD-1 tienen impacto en la supervivencia global (SG) y supervivencia libre de enfermedad (SLE)

4.2 Objetivos Secundarios

1. Determinar la respuesta al tratamiento con inhibidores de PD-1/PD-L1 en tumores MMRd/MSI-H en función del mecanismo subyacente de la deficiencia del sistema MMR, evaluando tanto la pérdida de expresión de las distintas proteínas MMR como la presencia de hipermetilación del promotor de MLH1 o mutaciones en los genes MMR.
2. Determinar la prevalencia de la carga mutacional tumoral (TMB) y la expresión de PD-L1 en MMRd/MSI-H CE y su correlación con la respuesta al tratamiento con anti-PD-1/PD-L1.
3. Determinar las respuestas y los resultados a largo plazo en las pacientes con tumores considerados como múltiples clasificadores MMRd/MSI-H-p53abn y compararla con aquellas que no son múltiples clasificadores.
4. Determinar las respuestas y los resultados a largo plazo en las pacientes con MMRd/MSI-H CE que desarrollaron toxicidades inmunomediadas frente a aquellas que no las tuvieron.

5 METODOLOGIA

Esta tesis en cuestión se encuadra primordialmente como un estudio observacional, exploratorio, dado que no se implementaron intervenciones específicas en las pacientes incluidas. En términos metodológicos, se emplearon diversos enfoques, incluyendo análisis, síntesis, deducción, descripción y análisis estadístico, entre otros. Estos métodos posibilitaron el análisis y la comprensión de los datos recopilados sin interferir directamente en la situación o condición de los sujetos de estudio.

5.1 Materiales y métodos

5.1.1 Tipo de estudio:

El estudio se clasifica como unicéntrico, retrospectivo, de tipo explicativo y correlacional, enfocado en el análisis de pacientes diagnosticadas de carcinomas de endometrio avanzado o recurrente de manera consecutiva en el H. Universitario Vall d'Hebron.

5.1.2 Población a estudio:

Se procedió al análisis de los datos de las pacientes con casos de CE diagnosticadas y tratadas en el H. Universitario Vall d'Hebron en el período comprendido entre agosto de 2017 a diciembre de 2024. Se identificaron de manera retrospectiva las pacientes que cumplían con los siguientes criterios:

- 1/ Pacientes con CE con histología endometriode o serosa.
- 2/ Pacientes con CE asociado a fenotipo MMRd/MSI-H analizado por técnicas de IHQ y/o PCR realizadas en nuestro centro.
- 3/ Pacientes con CE asociado a fenotipo MMRd/MSI-H que realizaron tratamiento con IO (anti PD1- o anti-PD-L1) tanto de forma asistencial como dentro de estudio clínico.
- 4/ Pacientes con CE asociado a fenotipo MMRd/MSI-H de las que se dispusiera muestra tumoral en parafina para poder realizar los estudios moleculares estipulados. La muestra tumoral podría haber sido obtenida bien en el momento del diagnóstico o de la recidiva de la enfermedad.

Todas las pacientes incluidas firmaron el consentimiento informado, mediante el cual autorizaron el uso de las muestras de tumor y la utilización de los datos clínicos asociados

para la investigación, de acuerdo con la Declaración de Helsinki de los Principios Éticos para las investigaciones Médicas en seres Humanos.

5.1.3 Variables clínicas del estudio:

Se diseñó una base de datos para recopilar información exhaustiva sobre pacientes con CE, abordando variables epidemiológicas, clínicas, histológicas y moleculares relevantes. A continuación, se detallan las variables codificadas:

5.1.3.1 *Variables epidemiológicas y clínicas*

Se realizó recogida de datos consistente en fecha de nacimiento, edad al diagnóstico, histología tumoral, estadio FIGO2009 al diagnóstico, fechas de las recaídas, localización de las recaídas, tratamientos realizados a nivel local y sistémico (quimioterapia, terapia endocrina, tratamiento anti-PD1/PDL1), fecha de la realización de dichos tratamientos, se documentó la mejor respuesta alcanzada a cada uno de las terapias realizadas acorde a los criterios RECIST1.1 así como el motivo de discontinuación de los tratamientos (progresión y/o toxicidad inmunomediada de acuerdo a los criterios CTCAE versión 5.0). (95) Se recogieron la fecha del último seguimiento y, en caso de fallecimiento se documentó fecha y motivo del mismo.

5.1.3.2 *Variables histológicas, moleculares y genómicas*

Se recogieron los datos específicos del subtipo histológico, las proteínas alteradas del sistema de MMR, la presencia de alteraciones en la proteína p53 (p53abn) y la expresión de la proteína PD-1/PD-L1. Además, se recogieron todas las mutaciones patogénicas a nivel genómico y la carga mutacional tumoral (TMB).

5.2 Muestra tumoral

Las muestras tumorales de CE fueron obtenidas mediante biopsia y/o cirugía programada como parte del tratamiento del tumor primario. En caso contrario, se utilizó una muestra obtenida durante la recidiva.

Las muestras se enviaron al servicio de anatomía patológica del Hospital Vall Hebrón, donde se recibieron en fresco. Posteriormente se fijaron en formol durante un período de 24 horas y finalmente se realizó el tallado al micrótopo siguiendo el protocolo del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Vall Hebrón. Se incluyen al menos 3 bloques de tumor del endometrio con representación de la máxima infiltración y del orificio cervical interno, orificio cervical externo, anejos uterinos y cualquier otra lesión macroscópicamente sospechosa de malignidad.

El material fue incluido en parafina realizando las tinciones de hematoxilina-eosina y las técnicas de inmunohistoquímicas necesarias para llevar a cabo el diagnóstico, así como confirmar la histología, el grado, la existencia de invasión miometrial, la afectación linfovascular o ganglionar.

5.3 Análisis del fenotipo MMRd/MSI-H

Se llevaron a cabo técnicas de inmunohistoquímica que son utilizadas para detectar la presencia y la localización de proteínas específicas en la muestra. En este caso se analiza la expresión de cuatro proteínas reparadoras: MLH1, PMS2, MSH2 y MSH6. Para ello se utilizaron anticuerpos de PharMingen Biosciences dirigidos a MSH2 (clon G219-1129), MLH1 (clon G168-728), MSH6 (clon 44) y PMS2 (clon A16-A).

Después, se procede a realizar la lectura de las láminas de inmunohistoquímica identificando en cada una la expresión nuclear de los marcadores, sugiriendo que si no hay expresión en alguna de las proteínas significa que el sistema de reparación no funciona de forma adecuada lo que implica una pérdida de expresión.

El patrón normal (MMRp) se define por una tinción nuclear homogénea en todas las células tumorales, con una intensidad igual o superior a la observada en el control interno, que incluye células estromales, linfocitos o epitelio normal. La presencia uniforme de las proteínas MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 indica un sistema de reparación de ADN funcional.

Por otro lado, el patrón deficiente (MMRd) se caracteriza por la pérdida de expresión de una o más de estas proteínas en las células tumorales, mientras que las células estromales circundantes mantienen una tinción positiva, lo que confirma la validez técnica de la prueba. Para considerar un tumor como MMRd, se establece un umbral del 10%. Si más

del 10% de las células tumorales presentan pérdida de tinción nuclear para una de estas proteínas, se clasifica como deficiente en la reparación del ADN.

En las pacientes con tumores asociados a la pérdida de MLH1 se analizaba por PCR si dicha alteración estaba producida por un hipermetilación del promotor de MLH1. Si se identificaba hipermetilación, se cuantificaba el porcentaje dicha hipermetilación.

En casos de resultados dudosos o heterogéneos, se recomienda realizar otros métodos mediante PCR o secuenciación.

Para la realización del estudio de MSI por PCR, la extracción del DNA a partir de tejido tumoral se realizó mediante el DNA Tissue Kit de QIAGEN. La calidad del DNA se comprobó mediante la amplificación del gen de Actina, y se determinó la presencia de inestabilidad de los siguientes MS; BAT25, BAT26, NR-21 y MONO-27, mediante el protocolo del kit de IMSj Analysis System de la casa PROMEGA.

El diagnóstico del fenotipo dMMR se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones establecidas por la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO) (96). Específicamente, se consideró la presencia de pérdida de expresión nuclear de al menos una de las cuatro proteínas previamente definidas en el análisis inmunohistoquímico. Además, se evaluó la inestabilidad en al menos dos de los cinco MS estudiados mediante PCR.

5.4 Análisis de la expresión de PD-L1

Para determinar la expresión de PD-L1 se emplearon técnicas de IHQ junto con anticuerpos específicos contra PD-L1 siendo el más utilizado el SP142.

Las reacciones de tinción se detectaron mediante el uso del kit de detección UltraView Universal DAB, el cual produce un precipitado de color marrón en las áreas donde hay interacción entre el anticuerpo y el antígeno de interés.

Después de la tinción con DAB, los cortes de tejido fueron contra teñidos con hematoxilina, un colorante que resalta los núcleos celulares en tonos azules o morados, mejorando la visualización de las células en el tejido. Posteriormente, los cortes fueron montados en un medio de xilol para su preservación y protección.

Las imágenes digitales de los cortes de tejido fueron capturadas utilizando un escáner específico (NanoZoomer 2.0 HT), permitiendo una visualización detallada de alta resolución. Estas imágenes fueron luego evaluadas por un patólogo experto, quien identificó el área tumoral y realizó el cálculo del Composite Positive Score (CPS).

Se calcula con la siguiente fórmula: (96)

$$CPS = \frac{(Células tumorales PD-L1+) + (Células inmunitarias PD-L1+) \times 100}{Total\ de\ células\ tumorales}$$

Criterios para considerar CPS positivo:

- $CPS < 1 \rightarrow$ PD-L1 negativo.
- $CPS \geq 1 \rightarrow$ PD-L1 positivo (expresión baja a moderada).
- $CPS \geq 10 \rightarrow$ PD-L1 alta expresión.

5.5 Estudio genómico

El análisis de los parámetros genómicos (mutaciones frameshift, TMB) se llevó a cabo en muestras en parafina utilizando tecnología de secuenciación de nueva generación de alta resolución (NGS).

Para realizar el estudio, se extrae el ADN de las muestras en parafina y se fragmenta mediante ultrasonidos. Este proceso tiene como objetivo romper de manera aleatoria las moléculas de ADN cuyos extremos terminales serán secuenciados. Se obtienen fragmentos de entre 150-200 pares de bases que luego son purificados.

Una vez purificadas las muestras, se emplea una sonda de oligonucleótidos biotinilados, los cuales están diseñados para ser complementarios a los genes de interés. En este estudio, se utiliza la plataforma Agilent SureSelect, la cual cuenta con sondas de ARN de 120 pares de bases que abarcan regiones genómicas adyacentes. Esta plataforma ofrece una cobertura estimada de 1.34 megabases del genoma humano en el panel de NGS utilizado. (98)

Este proceso implica la detección y amplificación de regiones genómicas de interés utilizando tecnologías como la plataforma solution-based de Agilent y la secuenciación de próxima generación (NGS) con el HiSeq2000 de Illumina: (99)

- **Selección de regiones de interés:** Se confronta el ADN tumoral con sondas específicas para identificar las zonas de ADN que se unen a estas sondas. Esto se hace utilizando la plataforma solution-based de Agilent, que permite una alta precisión en la identificación de las regiones genómicas de interés.
- **Amplificación mediante PCR:** Una vez identificadas estas regiones, se amplifican utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), lo que permite obtener múltiples copias de las secuencias de interés para su posterior análisis.
- **Secuenciación con HiSeq2000:** Las regiones amplificadas se secuencian utilizando la plataforma HiSeq2000 de Illumina. Esta tecnología de secuenciación de próxima generación ofrece una alta capacidad de lectura, con una cobertura de hasta 415x, lo que significa que cada base del ADN objetivo se secuencia en promedio más de 415 veces.

Esto garantiza una alta precisión en la secuenciación y permite detectar variantes genómicas con gran sensibilidad.

5.6 Análisis del TMB

El TMB, o carga mutacional tumoral, se calcula teniendo en cuenta el número de mutaciones no sinónimas por Megabase, que son mutaciones que afectan la codificación de proteínas. Este valor proporciona una medida de la cantidad de mutaciones presentes en el genoma del tumor, lo que puede indicar la inestabilidad genómica. Según la FDA el criterio aprobado para TMB es el siguiente: (100)

- TMB alto (TMB-MMRD/MSI-H): Generalmente ≥ 10 mut/Mb.
- TMB bajo (TMB-L): Generalmente < 10 mut/Mb.

En este trabajo y acorde al análisis del panel VHIO-Card_300v5.1 el criterio de TMB es el siguiente;

- TMB alto (TMB-MMRD/MSI-H): Generalmente ≥ 13 mut/Mb.
- TMB bajo (TMB-L): Generalmente < 13 mut/Mb.

5.7 Análisis de datos

Después de la secuenciación, se procesan los datos generados para identificar variantes genéticas, mutaciones o cualquier otra información relevante en las regiones de interés. Esto implica el uso de herramientas bioinformáticas para alinear las secuencias, detectar variantes y realizar análisis comparativos con bases de datos genómicas para interpretar los resultados. (101)

En este estudio el análisis bioinformático se realiza mediante el panel VHIO-Card_300v5.1. Este panel, diseñado por el Grupo de Genómica del Cáncer de VHIO, está específicamente diseñado para el estudio genómico del ADN tumoral de muestras parafinadas.

El VHIO-Card_300v5.1 es un panel de secuenciación de 1.35 Mb creado para el análisis genómico en cáncer. Captura las regiones exónicas de 431 genes, enfocándose en áreas de alta confianza y en la detección de SNPs (polimorfismos de un solo nucleótido) que son relevantes para la susceptibilidad al cáncer y la respuesta al tratamiento.

Los resultados del análisis se dividen en diferentes categorías para ayudar a entender su importancia clínica:

- **Variantes patogénicas o probablemente patogénicas:** Son mutaciones con evidencia científica de que pueden causar o contribuir al desarrollo del cáncer.
- **Variantes de significado incierto:** Son mutaciones cuya relevancia clínica aún no está clara. No hay suficiente información para determinar si son perjudiciales o benignas.

Además de estas categorías, se analizan otros aspectos como

- **Fracción mutacional alélica:** Indica proporción de ADN que contiene una variante alélica específica (mutación) en una muestra.
- **Número de copias (pérdidas y ganancias):** Alteraciones en el número de copias de ADN, que afectan la función génica

La clasificación de la importancia clínica de estas variantes se realiza utilizando diversas bases de datos, que incluyen:

- **COSMIC:** Mutaciones somáticas en cáncer. (102)
- **cBioPortal:** Análisis de datos genómicos. (103)
- **ClinVarCL:** Relación de variantes con enfermedades. (104)
- **OncoKB:** Clasificación de variantes oncológicas. (105)
- **VarSome:** Interpretación de variantes genéticas. (106)

El proceso de secuenciación se complementa con filtros específicos para asegurar la calidad de los resultados. Dado que los tumores MMRd/MSI-H son hipermutados, sólo las mutaciones detectadas en un mínimo de 2 o 3 pruebas se considerarán relevantes.

El análisis de los SNPs se lleva a cabo utilizando filtros basados en varias bases de datos, como el 1000 Genomes Project, que ofrece información sobre la variación genética en la población mundial, y la GnomAD database, que recopila datos sobre variantes genéticas comunes en la población general. Además, se establece un criterio para que solo se consideren relevantes las variantes genéticas que sean raras, es decir, aquellas con una frecuencia en la población inferior al 0.0001, ya que estas tienen mayor relevancia en el contexto del cáncer. (107-108)

Para calcular las alteraciones en el número de copias del ADN, se usa la herramienta CNVkit, que detecta duplicaciones o pérdidas de partes del ADN tumoral mediante la técnica PSCBS (Paren-Specific Copy Number Segmentation Method). Para analizar la pérdida de heterocigosidad (LOH), se utilizan los datos de los SNPs y se procede con SAMtools (v.1.7). Luego, se analizan estos datos con ggplot2, un programa que crea gráficos estadísticos.

Todos los procedimientos del estudio genómico se realizaron en los laboratorios de Oncología Molecular del VHIO. La secuenciación genómica, realizada con la plataforma Agilent y el análisis bioinformático mediante el panel VHIO-Card_300v5.1, cubre casi el 100% de los fragmentos de ADN relevantes. Esto garantiza una alta precisión y exhaustividad en la detección de mutaciones en las regiones genómicas de interés, lo que aumenta la confiabilidad de los resultados y la precisión en el cálculo del TMB.

ABL1	BTG1	DIS3	FBXW7	HRAS	LYN	NFKBIA	POLD1	RPTOR	TET2
ABL2	BTK	DNMT1	FGF10	HSD3B1	LZTR1	NKX2-1	POLE	RSPO2	TGFBR1
ACVR1B	C11ORF30	DNMT3A	FGF14	HSP90AA1	MAD2L2	NKX3-1	POLR3A	RSPO3	TGFBR2
AKAP9	CARD11	DNMT3B	FGF19	ICOSLG	MAGI2	NOTCH1	POLR3B	RUNX1	TMEM127
AKT1	CASP8	DOT1L	FGF23	IDH1	MALT1	NOTCH2	PPP2R1A	RUNX1T1	TMPRSS2
AKT2	CBFB	E2F3	FGF3	IDH2	MAP2K1	NOTCH3	PPP2R2A	RYBP	TNFAIP3
AKT3	CBL	EED	FGF4	IFNGR1	MAP2K2	NOTCH4	PRDM1	SDHA	TNFRSF14
ALK	CCND1	EGFL7	FGF6	IGF1	MAP2K4	NPM1	PREX2	SDHAF2	TOP1
ALOX12B	CCND2	EGFR	FGFR1	IGF1R	MAP3K1	NRAS	PRKAR1A	SDHB	TOP2A
AMER1	CCND3	EGLN1	FGFR2	IGF2	MAP3K13	NSD1	PRKCI	SDHC	TP53
APC	CCNE1	EGLN2	FGFR3	IKBKE	MAP3K5	NTRK1	PRKDC	SDHD	TP63
AR	CD274	ELOC	FGFR4	IKZF1	MAPK1	NTRK2	PRSS8	SETD2	TRAF7
ARAF	CD276	EIF1AX	FH	IL10	MAPK7	NTRK3	PTCH1	SF3B1	TSC1
ARFRP1	CD79A	EP300	FLCN	IL7R	MAX	NUP93	PTEN	SH2D1A	TSC2
ARID1A	CD79B	EPAS1	FLT1	INHBA	MCL1	PAK1	PTPN11	SHH	TSHR
ARID1B	CDC73	EPCAM	FLT3	INPP4A	MDC1	PAK3	PTPRD	SHQ1	U2AF1
ARID2	CDH1	EPHA3	FLT4	INPP4B	MDH2	PAK7	PTPRS	SLIT2	VEGFA
ARID5B	CDK12	EPHA5	FOXO1	INSR	MDM1	PALB2	PTPRT	SMAD2	VHL
ASXL1	CDK4	EPHA7	FOXO2	IRAK4	MDM4	PARK2	QKI	SMAD3	VTCN1
ASXL2	CDK6	EPHB1	FOXP1	IRF2	MED12	PARP1	RAC1	SMAD4	WISP3
ATM	CDK8	ERBB2	FRS2	IRF4	MPL	MEF2B	PAX5	RAD50	SMARCA4
ATR	CDKN1A	ERBB3	FUBP1	IRS1	MEN1	PBRM1	RAD51	SMARCB1	XIAP
ATRX	CDKN1B	ERBB4	GABRA6	IRS2	MET	PDCD1	RAD51B	SMARCD1	XPO1
AURKA	CDKN2A	ERCC2	GATA1	JAK1	MITF	PDCD1LG2	RAD51C	SMO	YAP1
AURKB	CDKN2B	ERCC3	GATA2	JAK2	MLH1	PDGFRA	RAD51D	SNCAIP	YES1
AXIN1	CDKN2C	ERCC4	GATA3	JAK3	MLH3	PDGFRB	RAD52	SOCS1	ZBTB2
AXIN2	CEBPA	ERCC5	GATA4	JUN	MPL	PDK1	RAD54L	SOX10	ZNF217
AXL	CHD2	ERG	GATA6	KAT6A	MRE11A	PDPK1	RAF1	SOX17	ZNF703
B2M	CHD4	ERRFI1	GID4	KDM5A	MSH2	PHOX2B	RANBP2	SOX2	
BAP1	CHEK1	ESR1	GLI1	KDM5C	MSH3	PIK3C2B	RARA	SOX9	
BARD1	CHEK2	ETV1	GNA11	KDM6A	MSH6	PIK3C2G	RASA1	SPEN	
BBC3	CIC	ETV6	GNA13	KDR	MTAP	PIK3C3	RB1	SPOP	
BCL2	CREBBP	EXOSC10	GNAQ	KEAP1	MTOR	PIK3CA	RBM10	SPTA1	
BCL2L1	CRKL	EZH2	GNAS	KEL	MUTYH	PIK3CB	RECQL4	SRC	
BCL2L11	CRLF2	FAM175A	ADGRA2	KIT	MYC	PIK3CD	REL	STAG2	
BCL2L2	CSF1R	FAM46C	GREM1	KLF4	MYCL	PIK3CG	RET	STAT3	
BCL6	CTCF	FANCA	GRIN2A	KLHL6	MYCL1	PIK3R1	RFWD2	STAT4	
BCOR	CTLA4	FANCC	GRM3	KMT2A	MYCN	PIK3R2	RHEB	STK11	
BCORL1	CTNNA1	FANCD2	GSK3B	KMT2C	MYD88	PIK3R3	RHOA	STK40	
BLM	CTNNA1	FANCE	H3F3A	KMT2D	MYH9	PIM1	RICTOR	SUFU	
BMPR1A	CUL3	FANCF	H3F3C	KRAS	MYOD1	PLCG2	RIT1	SUZ12	
BRAF	CYLD	FANCG	HGF	LATS1	NBN	PLK2	RNF43	RNF43	
BRCA1	DAXX	FANCL	HIST1H1C	LATS2	NCOR1	PMAIP1	RNPC3	TAF1	
BRCA2	DCUN1D1	FANCM	HIST1H2BD	LIFR	NF1	PMS1	ROS1	TBX3	
BRD4	DDR2	FAS	HIST1H3B	LMO1	NF2	PMS2	RPS6KA4	TERT	
BRIP1	DICER1	FAT1	HNF1A	LRP1B	NFE2L2	PNRC1	RPS6KB2	TET1	

Tabla 7. Panel VHIO-Card_300v5.1

5.8 Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el lenguaje de programación R (versión 4.5.2). En todos los análisis de contraste de hipótesis, se consideró un resultado como estadísticamente significativo si el valor de p era inferior a 0.05.

El presente de este proyecto de tesis fue exploratorio motivo por el que es importante remarcar que el tamaño de la muestra del estudio se definió acorde a las pacientes que cumplían los criterios de inclusión previamente explicados. Dado que el tamaño muestral es pequeño, se obtuvieron algunos valores extremos motivo y dado que la media se modifica con valores extremos y podría, no representar adecuadamente los resultados, se ha utilizado la mediana para las comparaciones entre grupos.

5.8.1 Estadística Descriptiva

Las variables categóricas se resumieron mediante el cálculo de frecuencias absolutas y porcentajes para cada una de sus categorías. Las variables continuas se describieron utilizando medidas de tendencia central y de dispersión. Específicamente, se reportaron la media y su desviación estándar (DE), la mediana junto con su rango intercuartílico (IQR, percentiles 25 y 75), y el rango (valores mínimo y máximo).

5.8.2 Análisis de Supervivencia

En este trabajo de tesis, la SLP fue definida como el período de tiempo comprendido entre la fecha de inicio del tratamiento con un antiPD-1/PD-L1 y la fecha en la se documenta la progresión acorde a los criterios RECIST 1.1 o muerte o bien hasta la fecha del último seguimiento (censura). La SG se calculó entre la fecha de inicio del tratamiento con un antiPD-1/PD-L1 y la fecha del último seguimiento de las pacientes o fecha del fallecimiento.

La respuesta al tratamiento se calcula con la evaluación radiológica acorde a los criterios RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) v1.1, que proporcionan un marco estandarizado para evaluar el cambio en el tamaño de los tumores. Se considera respuesta completa (RC), cuando el tumor desaparece completamente; respuesta parcial (RP), cuando el tumor se reduce en más de un 30%; progresión de la enfermedad (PE), cuando el tumor crece más de un 20% o aparecen nuevas lesiones y enfermedad estable (EE), cuando no cumple los criterios de RC, RP ni PD, Los ganglios linfáticos se consideran patológicos si miden más de 10 mm, siendo considerado como lesiones targets cuando el eje corto es de 15mm o mayor. (95)

La fecha de último seguimiento de los pacientes fue el 31 de diciembre de 2024.

Las SLP y las SG calculadas se estimaron mediante el método de Kaplan-Meier. Se reportaron las tasas de supervivencia en puntos temporales predefinidos (e.g., a 2 y 5 años) con sus correspondientes intervalos de confianza (IC) del 95% así como la mediana del tiempo de supervivencia, que representa el punto temporal en el cual el 50% de los pacientes ha experimentado el evento. La mediana del tiempo de seguimiento se estimó utilizando el método de Kaplan-Meier inverso.

Las diferencias en las funciones de supervivencia entre los distintos grupos (e.g., según el estado de metilación de MLH1, expresión de PDL1 o TMB) se evaluaron mediante la prueba de log-rank (log-rank test).

5.8.3 Comparaciones entre Grupos

Las variables de interés se describieron en función de su naturaleza (continua o categórica). Dado el tamaño reducido de la cohorte analizada, tanto las variables continuas como las categóricas se presentaron en forma de valores absolutos y porcentajes.

Para las variables categóricas, se empleó la prueba de chi-cuadrado. En los casos donde las frecuencias esperadas en alguna de las celdas eran inferiores a 5, se utilizó la prueba exacta de Fisher para garantizar la validez del contraste.

Para las variables continuas, las comparaciones entre dos grupos se realizaron mediante la prueba de la suma de rangos de Wilcoxon, una prueba no paramétrica que no requiere el supuesto de normalidad de los datos.

Para los análisis univariados se empleó el test exacto de Fisher y, en el caso de correlaciones entre variables dicotómicas, se utilizó el coeficiente phi (ϕ).

Todos los análisis estadísticos fueron realizados en el marco del grupo ODYSSEY (Oncology Data Science) del VHIO.

6 RESULTADOS

6.1 Características clínicas de la población incluida en el estudio

Durante el periodo comprendido entre agosto de 2017 y agosto de 2024 se identificaron un total de 24 pacientes en el Hospital Vall Hebrón con tumores de endometrio avanzado o recurrente asociados al perfil molecular MMRd/MSI que recibieron tratamiento con inmunoT.

La mediana de edad de las pacientes es de 61 años, con un rango de edad comprendido entre los 45 y los 73 años. Además, todas las pacientes eran postmenopáusicas al momento del diagnóstico de la enfermedad. Es importante destacar que el 92% de las pacientes eran originarias de Europa, mientras que el 8% restante procedía de Latinoamérica.

Al momento del diagnóstico, según la clasificación FIGO 2009, el 41,67% (n=10) de las pacientes estaban en estadios I-II, el 37,5% (n=9) en estadio III y el 20,83% (n=5) en estadio IVb.

En cuanto a la histología, el 8% de las pacientes (n=2) presentan histología serosa, mientras que el 92% (n=22) presentan histología endometriode. Dentro de este último grupo, el grado histológico se distribuye de la siguiente manera: el 18,18% (n= 4) corresponde grado 1, el 36,36% (n=8) grado 2 y el 45,45% v(n=10) grado 3.

Además, se evaluaron factores histopatológicos que confieren mal pronóstico, como infiltración del miometrio superior al 50% objetivándose en el 54,17% (n=13) de las pacientes y la infiltración linfovascular sustancial presente en el 62,5% (n=15).

Tabla R1: Características clínicas

Variable	Categoría	Cantidad	Porcentaje (%)
Edad al diagnóstico	40-49	2	8,33%
	50-59	9	37,5%
	60-69	11	45,83%
	>70	2	8,33%
Raza	Blanca	22	91,67%
	Latina o Hispánica	2	8,33%
Histología	Endometrioide	22	91,67%
	Seroso	2	8,33%
Grado	1	4	18,18%
	2	8	36,36%
	3	10	45,45%
Estadificación FIGO 2009	IA	8	33,33%
	IB	1	4,17%
	II	1	4,17%
	IIIA-IIIB	2	8,33%
	IIIC1-IIIC2	7	29,17%
	IVb	5	20,83%
Infiltración >50% Miometrio	Presente	13	54,17%
	Ausente	11	45,83%
Infiltración linfoscavular substancial	Presente	15	62,5%
	Ausente	9	37,5%

6.2 Descripción del tratamiento inicial

Del total de 24 pacientes incluidas en el estudio, el 96% (n=23) fueron sometidas a cirugía primaria incluyendo la realización de linfadenectomía en el mismo procedimiento en 19 de ellas (82%).

Del total de pacientes intervenidas, 11 pacientes no recibieron tratamiento complementario(adyuvante) posterior debido a diferentes razones. Siete no eran candidatas por presentar un estadio IA según la clasificación FIGO 2009, 1 paciente experimentó progresión de la enfermedad tras la cirugía y 3 pacientes tenían enfermedad

residual después de la intervención. En consecuencia, en estas últimas 4 pacientes el tratamiento tras la cirugía no se considera adyuvante sino tratamiento de primera línea para enfermedad avanzada/recurrente.

Por otro lado, 12 pacientes sí recibieron tratamiento complementario(adyuvante) a la cirugía. Una de ellas (8.3%) con un tumor IA (grado histológico 1) de la clasificación FIGO2009, recibió únicamente en braquiterapia. Dos pacientes (16.7%) fueron tratadas con radioterapia pélvica, una de ellas con estadio IIIC FIGO2009 y la otra con estadio II (infiltración >50% del miometrio). Seis pacientes (50%) recibieron un tratamiento combinado de radioterapia pélvica y quimioterapia secuencial basada en carboplatino y paclitaxel. De este grupo, 5 pacientes se diagnosticaron en estadio IIIC1-IIIC2 de la FIGO2009 y 1 paciente en estadio IB (infiltración >50% del miometrio e invasión linfovascular difusa). Cabe destacar que, en todas las pacientes tratadas con radioterapia, la dosis total administrada a nivel pélvico fue de 45 Gy.

Finalmente, tres pacientes (25%) recibieron tras la cirugía únicamente tratamiento complementario con quimioterapia sistémica. Dos de ellas, diagnosticadas en estadio IIIC2 según la FIGO 2009 que fueron tratadas con carboplatino y paclitaxel presentando progresión de la enfermedad durante el tratamiento. La tercera paciente con diagnóstico de CE en estadio IVb sin enfermedad residual postcirugía, recibió un esquema de tratamiento basado en carboplatino, paclitaxel y dostarlimab alcanzando una respuesta completa al finalizar el tratamiento de combinación. En este caso, el tratamiento se considera una primera línea para enfermedad avanzada.

Por último, es importante mencionar que, dentro de las 24 pacientes incluidas en el estudio, hubo un caso en el que la paciente no fue candidata a cirugía debido a que debutó con un estadio IVb de la FIGO 2009. En este caso, el tratamiento administrado consistió en carboplatino y paclitaxel, considerándose también, este esquema como la primera línea terapéutica para enfermedad metastásica.

De las 12 pacientes que realizaron tratamiento complementario tras la cirugía, dos pacientes (16%) experimentaron progresión de la enfermedad durante el tratamiento adyuvante, mientras que 10 pacientes (84%) se mantuvieron sin evidencia de recaída tras finalizar el tratamiento.

En las 23 pacientes que recibieron cirugía inicial, el tiempo libre de enfermedad hasta la recaída fue de 14,8 meses, independientemente del tratamiento administrado posteriormente.

Tabla R2. Características de tratamiento primario al diagnóstico.

Característica	Número de Pacientes	Porcentaje (%)	Comentarios
Total de pacientes	24	100%	
Pacientes sometidas a cirugía	23	96%	1 no fue candidata a cirugía
→ Con linfadenectomía	19	82% de las operadas	
Sin tratamiento complementario posterior	11	46% del total	7 en estadio IA, 4 con progresión o enfermedad residual
Tratamiento adyuvante posterior a cirugía	12	50% del total	Detalles abajo

Tabla R3. Tipo de tratamiento adyuvante administrado.

Tipo de Tratamiento Adyuvante	Pacientes	Porcentaje (%)	Estadios
Braquiterapia solo	1	8.3%	IA
Radioterapia pélvica sola	2	16.7%	II y IIIC
Radio + Quimioterapia (Carboplatino + Paclitaxel)	6	50%	5 en IIIC1/IIIC2, 1 en IB
Quimioterapia sola (Carboplatino + Paclitaxel)	3	25%	2 en IIIC2, 1 en IVb (con dostarlimab)

6.3 Descripción del tratamiento realizado

El total de las 24 pacientes incluidas en este análisis realizaron tratamiento con IO, si bien es cierto el tratamiento se administró en diferentes momentos de la enfermedad (tal y como se describe en la tabla R4).

En la primera línea terapéutica, 10 pacientes recibieron inhibidores de PD-1 en régimen de monoterapia o en combinación con carboplatino y paclitaxel. En la segunda línea de tratamiento, el esquema se administró a 12 pacientes, mientras que en líneas subsiguientes el tratamiento se indicó en 2 pacientes adicionales.

De las 10 pacientes que recibieron la IO como tratamiento de primera línea, que 7 (70%) fueron tratadas con IO (anti-PD-1) en monoterapia. Tres habían recibido previamente tratamiento con carboplatino-paclitaxel con intención adyuvante y presentaron recaída de la enfermedad en menos de 12 meses desde la finalización del tratamiento. Las otras 4 pacientes no habían recibido ningún tratamiento sistémico previo y fueron tratadas con pembrolizumab en monoterapia dentro de estudio clínico.

Las 3 pacientes restantes recibieron dostarlimab, en combinación con con la quimioterapia basada en carboplatino-paclitaxel. Dos de las pacientes habían presentado una recaída tras 12 meses del tratamiento adyuvante y una paciente presentaba un estadio IVb sin enfermedad residual postquirúrgica.

En el resto de nuestra cohorte a estudio, 12 pacientes (71%) recibieron la IO en segunda línea, y 2 pacientes (40%) en tercera línea. Todas estas pacientes recibieron IO en monoterapia. De ellas, 13 pacientes (93%) fueron tratadas con un anti-PD-1 (12 con dostarlimab y 1 con pembrolizumab), mientras que solo una paciente (7%) recibió un anti-PD-L1 (durvalumab).

De las 14 pacientes que recibieron tratamiento con inhibidores de PD-1 en segunda línea o posteriores, 11 habían recibido previamente tratamiento de primera línea exclusivamente con quimioterapia (10 con el esquema de carboplatino-paclitaxel y 1 con antraciclina). Además, en esta misma primera línea, dos pacientes fueron tratadas con terapia endocrina debido a la presencia de enfermedad pulmonar asintomática, lo que justificó la elección de un abordaje terapéutico alternativo. Por último, una paciente recibió tratamiento de primera línea en el contexto de un ensayo clínico con un inhibidor de PARP y lurbinectedina.

Tras la segunda línea de tratamiento, se evidencia una disminución progresiva del número de pacientes que precisan líneas sucesivas de tratamiento atribuible tanto a la mortalidad asociada a la progresión de la enfermedad como a la efectividad del último esquema terapéutico que confiere una respuesta radiológica favorable.

Tabla R4. Líneas de tratamiento realizadas

Tratamiento	L1 (N=24)	L2 (N=17)	L3 (N=5)	L4 (N=1)
Quimioterapia	11	5	2	1
Terapia endocrina	2	0	0	0
Dostarlimab	3	10	2	0
Dostarlimab+ QT	3	0	0	0
Pembrolizumab	4	1	0	0
Durvalumab	0	1	0	0
Otras terapias (estudios clínicos)	1	0	1	0

Tabla R5. Resumen del tratamiento anti-PD-1/PD-L1.

Inmunoterapia	L1 (N=10)	L2 + (N=14)
Dostarlimab	3	12
Dostarlimab y QT	3	0
Pembrolizumab	4	1
Durvalumab	0	1

6.4 Características inmunohistoquímicas o moleculares

Es importante destacar que las muestras analizadas en este estudio fueron obtenidas de biopsias diagnósticas o de la cirugía inicial. Estas muestras no habían sido expuestas a ninguna terapia previa, lo que significa que las características inmunohistoquímicas o moleculares no estaban influenciadas por medicamentos o procedimientos médicos anteriores. Esta condición es crucial para asegurar que los resultados reflejen con precisión las propiedades intrínsecas del tumor, sin artefactos inducidos por tratamientos anteriores.

6.5 Descripción de las alteraciones inmunohistoquímicas

La determinación del fenotipo MMRd por IHQ se realizó tal y como está explicado en el apartado 5.3. El estudio inmunohistoquímico se realizó en el total de las 24 pacientes incluidas en este trabajo.

En cuanto al perfil de expresión inmunohistoquímica de las proteínas del complejo MMR, se encontró que el 75% de los pacientes (18 pacientes) exhibían pérdida de expresión en MLH1-PMS2. Por otro lado, el 16,7% (4 pacientes) mostraron pérdida de expresión en MSH2-MSH6. Además, el 8.3% (2 pacientes) presentaron exclusivamente pérdida de PMS2, mientras que no hubo ningún caso con pérdida únicamente de MSH2.

Tabla R6. Perfil de pérdida de expresión por inmunohistoquímica de las proteínas MMR.

Proteína	Casos con pérdida de expresión (N total =24)	Porcentaje (%)
MLH1-PMS2	18	75%
PMS2	2	8,3%
MSH6-MSH2	4	16,7%
MSH2	0	0

De las 18 pacientes que presentaban pérdida de expresión en MLH1-PMS2 destaca el hallazgo de que 14 pacientes (77,8%) exhibieron hipermetilación del promotor de las islas CpG en MLH1, con una mediana de hipermetilación del 45% (5-65) considerando como positivo cuando los tumores presentaban una metilación igual o superior al 15%.

Es fundamental destacar que, después de llevar a cabo las pruebas genéticas correspondientes en las pacientes con alteración en MSH2-MSH6 o en aquellas con alteración en MLH1-PMS2 sin hipermetilación en MLH1, se descartó la presencia del síndrome de Lynch en todas las pacientes.

Hipermetilación MLH1	Casos (N total = 18)	Porcentaje (%)
Si	14	77,8%
No	4	22,2%

Tabla R7. Resultados acordes a la presencia de hipermetilación en MLH1.

6.6 Resultados acordes a la expresión de PD-L1

El análisis de la expresión de PD-L1 se realizó siguiendo los procedimientos detallados en el apartado 5.4.

Se determinó la expresión de PD-L1 en 21 de las 24 pacientes de la cohorte. La media de expresión de PD-L1 acorde al CPS fue de 9,52 (rango 0-50). Considerando el punto de corte de CPS igual o superior a 1, se observó que 15 pacientes (71,4%) presentaban un CPS positivo, mientras que 6 (28,6%) tenían un CPS negativo (<1).

CPS Score	Casos sobre total (N=21)	Porcentaje (%)
≥ 1	14	66,66%
<1	7	33,33%

Tabla R8. Resultados acordes a la expresión de PD-L1.

6.7 Descripción de las alteraciones moleculares identificadas mediante secuenciación tumoral

El análisis molecular únicamente pudo llevarse a cabo en 21 de las 24 pacientes incluidas en este estudio, ya que en 3 casos las muestras que llegaron al laboratorio no cumplían los criterios establecidos (porcentaje tumoral >20%) para poder realizar el proceso de extracción de ADN y la secuenciación. Por lo tanto, estos análisis se basan en una muestra final de 21 casos.

Tal y como se ha comentado en el apartado 5.5 la secuenciación molecular de los tumores MMRd/MSI-H de las pacientes incluidas se llevó a cabo mediante el panel VHIO-Card_300 v5.1.

Como podemos observar en la tabla R9, en el análisis molecular realizado en 21 pacientes, se identificó que el gen con la mayor tasa de mutaciones fue PTEN, presente en el 66,7% de las pacientes, seguido de mutación en ARID1, con un 61,9%, y finalmente por mutaciones en la vía de PIK3CA, en el 52,4% de las pacientes. La mutación menos frecuente fueron las detectadas en el gen SMARC4 (9,5%).

Todas estas mutaciones patogénicas están implicadas en vías de señalización relacionadas con la carcinogénesis del cáncer endometrial, como vía del PI3K (PTEN, PIK3CA,

PIK3R1, FBXW7) vía de wnt (CTTNB1), vía de las MAPK (KRAS, PPP2R1A), en los genes epigenéticos como (ARID1A) así como también, los genes pertenecientes al sistema MMR (MLH1, MSH6, MSH2, PMS2).

GEN PATOGENICO	Pacientes (N total 21)	Porcentaje (%)
PTEN	14	66,7%
PTPRT	5	23,8%
PI3KCA	11	52,4%
NF1	4	19 %
ARID1	13	61,9%
CTNNB1	3	14,3%
TERT	3	14,3%
RNF43	4	19%
TET	3	14,3%
STK11	3	14,3%
KRAS	8	38,1%
SMARC4	2	9,5%
FGFR	6	28,6%

Tabla R9. Resultados del análisis molecular.

6.8 Resultados acordes al número de mutaciones

La determinación del TMB en los tumores de las pacientes incluidas en la cohorte del estudio se realizó tal y como se especifica en el apartado 5.6. Este análisis solo se pudo realizar en 21 pacientes de los 24 totales.

En el conjunto de la cohorte, la mediana del valor de TMB fue de 16 mutaciones por megabase, con un rango que varió entre 13 y 31 mutaciones por megabase. Al considerar como punto de corte 13 mutaciones por megabase, se observó que 16 pacientes (76,2%) presentaban un TMB alto (≥ 13 mut/Mb), mientras que 5 pacientes (38%) presentaban un TMB bajo (< 13 mut/Mb).

TMB (Mut/Mb)	Casos respecto total (N=21)	Porcentaje
≥13	14	66,66%
<13	7	33,33%

Tabla R10. Resultados acordes al TMB.

6.9 Resultados de las pacientes con doble clasificación molecular

Del total de 24 pacientes a las que se les realizó IHQ y 21 a las que se les realizó el NGS hubo 7 (29,2%) pacientes que presentaron p53 aberrante por IHQ y/o mutada por NGS. De estas 7 pacientes 1 tenía solo alteración por IHQ, 4 tenían TP53 mutado en el estudio molecular y finalmente 2 tenían alteración tanto por IHQ como por estudio molecular.

p53abn(IHQ)	Casos sobre el total (N=24)	Porcentaje (%)
Yes	3	12,5%
No	21	87,5%

Tabla R11. Resultados de p53 aberrante analizada por IHQ.

NGS	Casos sobre el total (N=21)	Porcentaje (%)
TP53wt	6	28,6%
TP53mut	15	71,4%

Tabla R12. Resultados de TP53mutada analizada por NGS.

La correlación entre p53 abn (IHQ) y TP53 (NGS) es de -0,47 (p valor de 0,286) es decir que, cuando p53 está alterado por IHQ, no necesariamente coincide con tener TP53 mutado por NGS, y viceversa.

IHQ/NGS	TP53 wt	TP 53 mut
p53 wt	0 (0%)	4 (57,1%)
p53 abn	1 (14,3%)	2 (28,6%)

Tabla R13. Correlación entre p53abn (IHQ) y TP53 (NGS)

De las 6 pacientes que presentaban mutación en TP53 el patrón mutacional objetivado fue el siguiente; 4 pacientes presentaron una única variante patogénica en TP53 y hubo 2 pacientes que presentaban 2 variantes patogénicas diferentes en TP53. Todas estas variantes patogénicas tenían fracciones alélicas mutacionales bajas con una media de porcentaje del 16,5% (rango entre 12%-26%). Teniendo en cuenta que se considera que una variante mutacional patogénica es claramente significativa cuando su porcentaje de fracción alélica es >30%, se puede concluir que con alta probabilidad se trata de mutaciones subclonales y por lo tanto el biomarcador importante sigue siendo el fenotipo MMRd/MSI-H.

IHQ p53 (wt/abn/null)	NGS TP53	Fracción alélica mutada (%)
Aberrante	Mutada	15%
Normal	Mutada	12%
Normal	Mutada	23%
Normal	Mutada	26%
Aberrante	Mutada	25%
Normal	Mutada	13%

Tabla R14. Fracción alélica mutada en las pacientes TP53 mutadas.

6.10 Análisis de la eficacia

La mediana de seguimiento del total de las pacientes incluidas en esta tesis fue de 7 años. Al momento del cierre de la base de datos, 14 de las 24 pacientes incluidas habían finalizado el tratamiento con anti-PD-1/PD-L1. El tratamiento fue finalizado en 8 pacientes debido a la progresión de la enfermedad y en 6 de ellas por toxicidad inmunomediada.

La duración media del tratamiento fue de 18.1 meses (rango: 0.9–62.8 meses). En el momento del análisis, 8 (33%) pacientes estaban vivas sin evidencia de enfermedad oncológica, 11 pacientes vivas con enfermedad oncológica (46%) y 5 pacientes habían fallecido (21%) debido a su CE. Estos resultados reflejan la variabilidad en el pronóstico de una población que comparte un mismo biomarcador, todas las pacientes tenían un CE asociado a dMMR/MSI-H.

En términos de SLP del tratamiento con antiPD-1/PD-L1 fue del 75% a los 12 meses y del 61% a los 5 años.

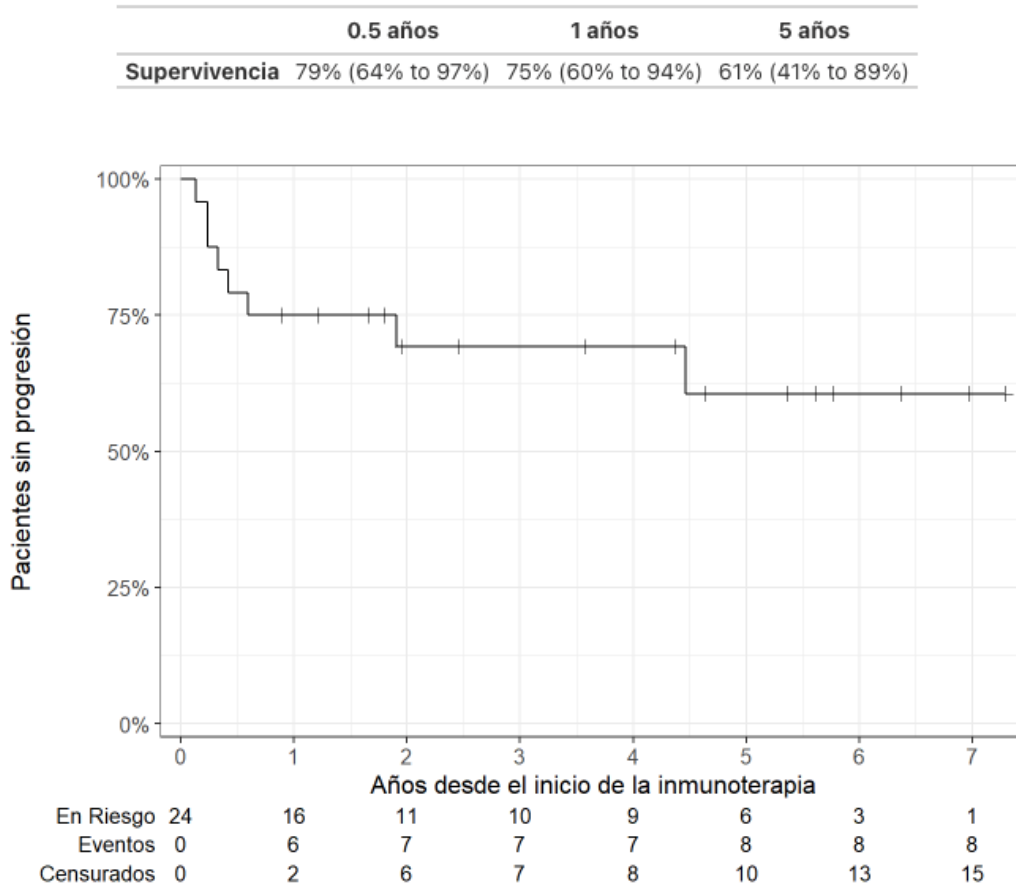


Figura R1: Kaplan-Meier de la SLP de la Inmunoterapia.

En términos de SG calculada desde el momento del diagnóstico de CE a 5 años es del 86% (rango del 73% al 100%), y la tasa de SG a 10 años es del 63% (rango del 42% al 95%). Estos datos indican que una gran proporción de pacientes logra sobrevivir a largo plazo tras el diagnóstico inicial, lo que sugiere una respuesta positiva al tratamiento administrado.

	5 años	10 años	Mediana del seguimiento (años)
Supervivencia	86% (73% to 100%)	63% (42% to 95%)	7.4 (6.1 to 9.1)

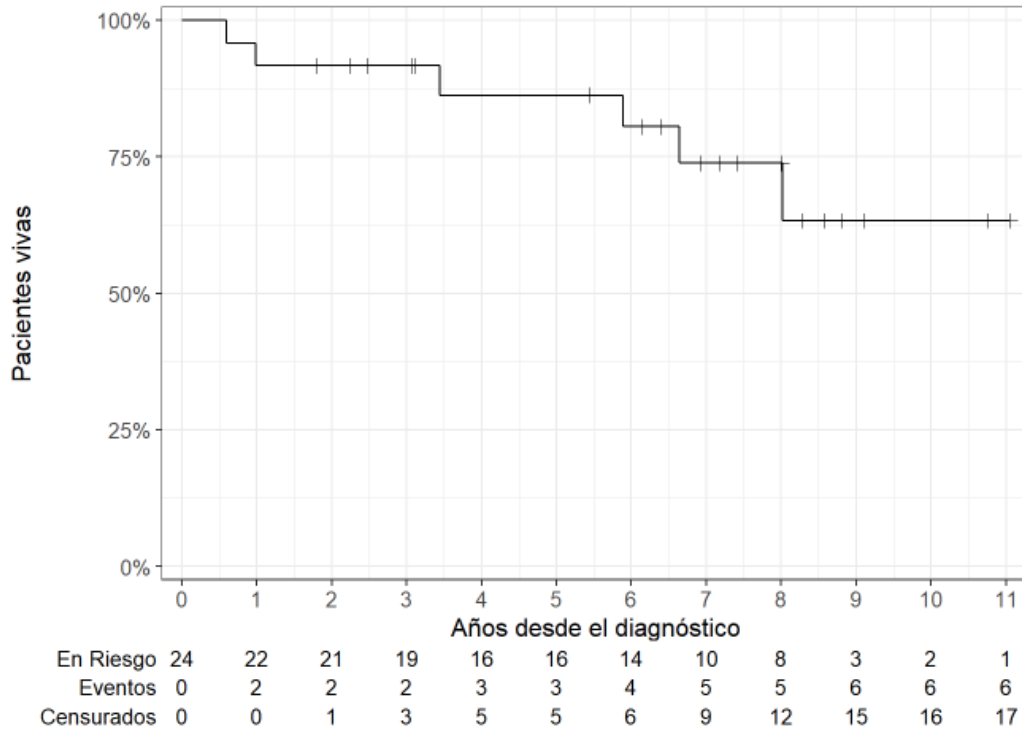


Figura R2. Kaplan-Meier de la SG desde el diagnóstico.

Además, al analizar la SG desde el momento de la recaída en las 23 pacientes intervenidas quirúrgicamente, así como desde el diagnóstico en la paciente con enfermedad avanzada irresecable, se constató que la tasa de supervivencia a los 2 años se mantiene elevada, alcanzando un 87% (con un rango entre 75% y 100%). Asimismo, la tasa de supervivencia a los 5 años fue del 68%, con un rango que oscila entre 49% y 94%.

	2 años	5 años	Mediana del seguimiento (años)
Supervivencia	87% (75% to 100%)	68% (49% to 94%)	5.9 (2.7 to 7.8)

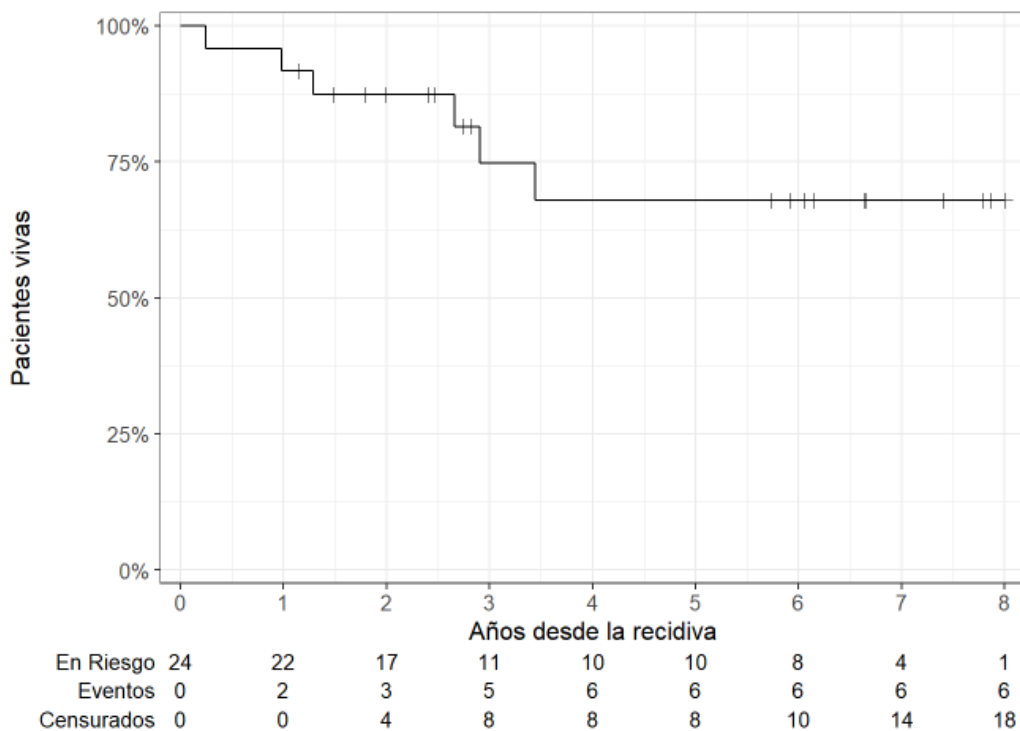


Figura R3: Kaplan-Meier de la SG desde Recidiva

En el total de la población, la mediana de duración de tratamiento con IO fue de 16,09 meses (rango de 0.92 meses a 83.64 meses). Respecto a la tasa de respuestas se observa que 17 pacientes (70,9%) presentan RP o RC, 4 EE (16,6%) y 3 PD (12,5%) al tratamiento con anti PD-1/PD-L1 con una mediana de duración de repuesta de 22,31 meses (rango de 4,2 a 62,72 meses).

Tabla R15. Respuesta radiológica al tratamiento de inmunoterapia.

Respuesta al tratamiento de inmunoterapia	
n (%)	
Respuesta Completa (RC)	7 (29,2%)
Respuesta Parcial (RP)	10 (41,7%)
Enfermedad estable (EE)	4 (16,6%)
Progresión (PE)	3 (12,5%)
Mediana Duración Tratamiento (meses)	16,09 meses (rango entre 0,92 y 83,64 meses).
Mediana de duración de Repuesta (meses)	22,31 meses (rango entre 4,2 y 62,72 meses)

6.11 Eficacia del Tratamiento con Inhibidores de PD-1/PD-L1 entre primera línea y líneas sucesivas

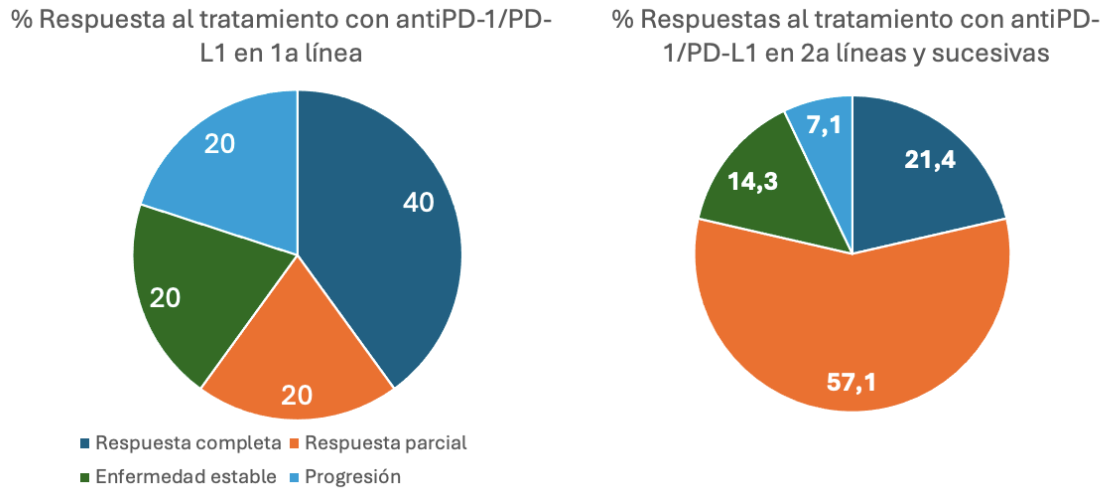
En las 10 pacientes que recibieron inhibidores de PD-1/PD-L1 como primera línea de tratamiento, se observó una tasa de RC del 40%, las RP fueron del 20%, mientras que la EE se presentó en el 20% de los casos. Sin embargo, un 20% de los pacientes experimentó PE como mejor respuesta. Asumiendo fecha fin de seguimiento 31 de diciembre de 2024, la mediana de duración de tratamiento fue de 16,2 meses (rango entre 1,48 y 62,71 meses) y de las pacientes que presentaron RP/RC la mediana de duración de respuesta fue de 22,52 meses (rango 4,2 a 63,63 meses).

Para las 14 pacientes que recibieron inhibidores de PD-1/PD-L1 en segundas y sucesivas líneas de tratamiento, la tasa de RC fue del 21.4%, las RP fueron del 57.1%, con un 14.3% de EE. La PE se objetivó en un 7.1% de la población. En este grupo la mediana de duración de tratamiento fue de 16,1 meses (rango entre 0,9 y 54,3 meses) y de las pacientes que presentaron RP/RC la mediana de duración de respuesta fue de 22,3 meses (rango 6,9 a 65 meses).

Tabla R16. Tabla resumen de la eficacia del tratamiento con inhibidores de PD-1/PD-L1 entre primera línea y líneas sucesivas.

Inmunoterapia	L1 (N=10)	L2 + (N=14)
Dostarlimab	3	12
Dostarlimab y QT	3	0
Pembrolizumab	4	1
Durvalumab	0	1
Mejor respuesta al tratamiento, n (%)		
Respuesta Completa (RC)	4 (40)	3 (21,4)
Respuesta Parcial (RP)	2 (20)	8 (57,1)
Enfermedad estable (EE)	2 (20)	2 (14,3)
Progresión (PE)	2 (20)	1 (7,1)
Mediana Duración Tratamiento (meses)	16,2 meses (rango entre 1,48 y 62,71 meses).	16,1 meses (rango entre 0,9 y 54,3 meses)
Mediana de duración de Repuesta (meses)	22,52 meses (rango 4,2 a 63,63 meses).	22,3 meses (rango 6,9 a 65 meses).

Figura R4. Tasa de respuestas radiológicas en función de la línea en la que se administra el tratamiento antiPD-1/PD-L1.



Interesantemente, la tasa de SLP a un año fue del 70% y del 79% para los pacientes que recibieron el tratamiento en primera y 2+ línea respectivamente. Sin embargo, a los cinco años, la tasa de SLP fue del 70% en la primera línea y del 56% en tratamientos posteriores.

	0.5 años	1 años	5 años
Línea de inmuno			
L1	70% (47% to 100%)	70% (47% to 100%)	70% (47% to 100%)
L2+	86% (69% to 100%)	79% (60% to 100%)	58% (35% to 97%)

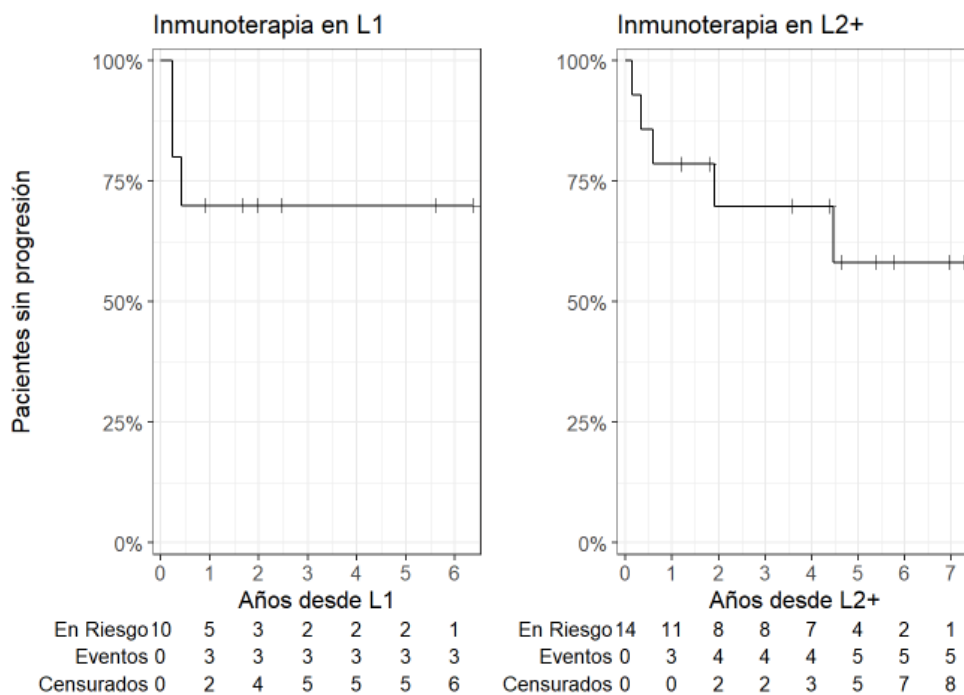


Figura R5: Kaplan-Meier de la SLP de la Inmunoterapia entre L1 y la L2+.

6.12 Eficacia del tratamiento acorde a la respuesta obtenida

Es crucial destacar que, de las 24 pacientes tratadas con IO hubo 7 pacientes (6 habían realizado tratamiento con anti-PD-1 (3 con dostarlimab, 3 con pembrolizumab) y 1 paciente con un anti-PD-L1 (durvalumab) que corresponden al 29% de la población del estudio. Estas pacientes, habían presentado una progresión de la enfermedad de forma precoz durante el tratamiento o una enfermedad estable radiológica como mejor respuesta. Respecto a la línea terapéutica en la que se administró la IO, 3 pacientes la recibieron en primera línea, 3 en segunda línea y 1 en tercera línea. La duración media del tratamiento en este subgrupo de pacientes fue de 3.4 meses (1-6 meses). Este grupo de pacientes se consideran pacientes no respondedores sugiriendo una resistencia primaria a la IO.

Por otro lado, es importante resaltar el grupo opuesto, un 71% de la población estudiada (17 pacientes), logró una respuesta parcial o completa al tratamiento con anti-PD-1 con

una duración media del tratamiento de 27,96 meses (rango entre 8,84-62,76 meses). De estas pacientes, 10 continúan actualmente en tratamiento con anti-PD, con una mediana de duración de tratamiento de 22,5 meses (rango entre 11,7 meses y 84,87 meses) lo que sugiere una respuesta duradera y efectiva a la IO pudiendo ser consideradas como respondedoras o largas respondedoras, lo que resalta el potencial de la IO en el manejo de esta población específica.

Destacable es el hecho que 6 de las 17 pacientes respondedoras tuvieron que interrumpir el tratamiento debido a efectos adversos inmunomediados. En este subgrupo de pacientes la mediana de duración de tratamiento fue de 16,07 meses (rango entre 6,87 y 67,72 meses), además es importante destacar que estas pacientes no han mostrado evidencia de progresión desde que finalizaron la IO. La mediana del tiempo libre de tratamiento es de 42,85 meses (Rango 13,8 y 79,8 meses).

Finalmente, 1 paciente presentó progresión de la enfermedad tras haber completado más de 2 años de tratamiento.

Atendiendo a lo anteriormente expuesto, hemos identificado dos grupos de pacientes, las respondedoras y las no-respondedoras por lo que se llevó a cabo un análisis de la SLP en estos dos grupos de pacientes

Resultados a un año: Las pacientes que respondieron al tratamiento presentaron una SLP del 100%, lo que indica que ninguna de ellas mostró progresión de la enfermedad durante ese periodo. En contraste, las pacientes que no respondieron al tratamiento tuvieron una SLP del 14%, lo que sugiere que solo una pequeña fracción logró evitar la progresión temprana.

Resultados a los cinco años: A lo largo de un seguimiento de cinco años, las pacientes que respondieron al tratamiento mantuvieron una SLP del 80%, lo que indica que una proporción significativa continuó sin progresión de la enfermedad. Por otro lado, de las pacientes que no respondieron al tratamiento inicial solo el 14% mantuvieron una SLP.

Estas diferencias observadas en la SLP entre ambos grupos son estadísticamente significativas ($p < 0.001$).

	PFS Mediana	0.5 años	1 años	5 años	p-valor [†]
Supervivencia					<0.001
Respondedoras	— (— to —)	100% (100% to 100%)	100% (100% to 100%)	80% (59% to 100%)	
No respondedoras	0.33 (0.24 to —)	29% (8.9% to 92%)	14% (2.3% to 88%)	14% (2.3% to 88%)	

[†] Log-rank test

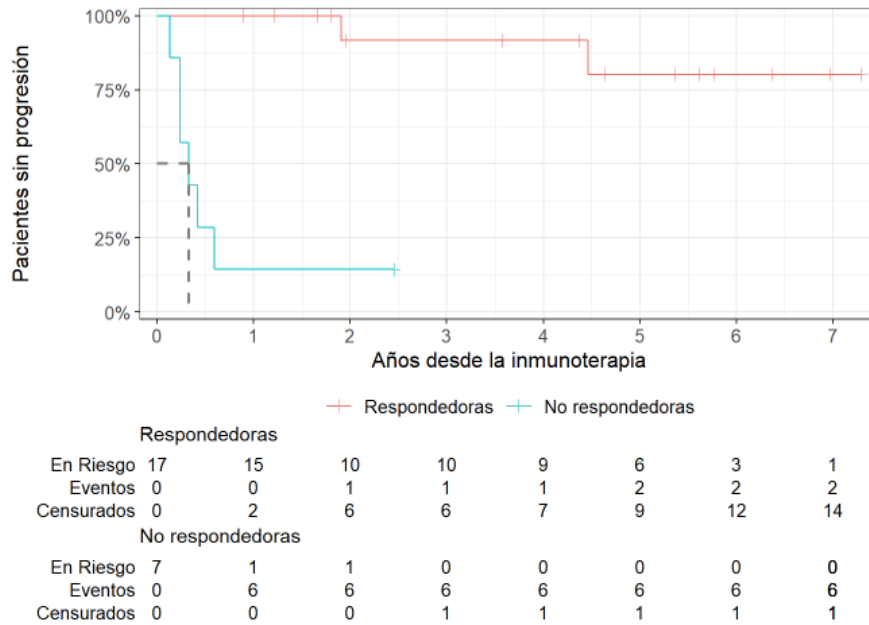


Figura R6. Kaplan-Meier de la SLP de la Inmunoterapia entre respondedoras y no respondedoras.

En el análisis de la SG al año, a los 2 años y a los 3 años en pacientes que responden al tratamiento con inhibidores de PD-1/PD-L1, se observa una SG del 100% en todos estos intervalos. En contraste, las pacientes que no responden al tratamiento presentan tasas de SG significativamente más bajas: 71% al año, 57% a los 2 años y 0% a los 3 años. Estas diferencias son estadísticamente significativas ($p < 0.001$).

	Supervivencia Mediana	1 años	2 años	3 años	p-valor [†]
Supervivencia					<0.001
Respondedoras	— (— to —)	100% (100% to 100%)	100% (100% to 100%)	100% (100% to 100%)	
No respondedoras	2.7 (0.98 to —)	71% (45% to 100%)	57% (30% to 100%)	0% (— to —)	

[†] Log-rank test

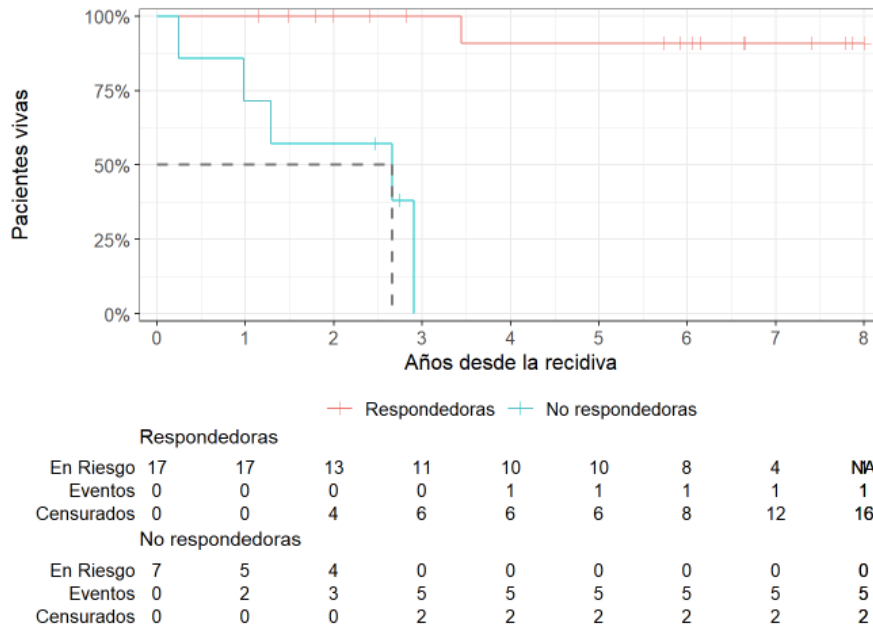


Figura R7. Kaplan-Meier de la SG al tratamiento con inmunoterapia entre respondedoras y no respondedoras.

En este trabajo de tesis se ha llevado a cabo un análisis molecular profundo para intentar identificar potenciales alteraciones moleculares que pudieran constituir factor predictivo de respuesta o resistencia al tratamiento con IO.

6.13 Eficacia del tratamiento en función de las alteraciones en la vía de MMR

En primer lugar y teniendo presente que estamos ante un grupo de pacientes cuyo CE comparte un biomarcador común, se ha analizado la eficacia del tratamiento en función de la pérdida de expresión de las proteínas MLH1-PMS2, MSH2-MSH6, PMS2 y MSH6 que han llevado al fenotipo dMMR., El análisis muestra como no se observan diferencias

significativas entre el grupo de pacientes consideradas como respondedoras del grupo que no responde en relación con las proteínas no expresadas. Cabe destacar que en el subgrupo MLH1-PMS2 se observa una diferencia en valor absoluto en respondedoras 13 vs no 3, pero sin alcanzar significación estadística ($p=0.317$) (ver tabla R17).

Tabla R17.Eficacia del tratamiento en función de las alteraciones en la vía del MMR.

	RESPONDEDORAS (n)	NO RESPONDEDORAS (n)	TASA DE REPUESTAS (%)	p-valor estimado (FISHER)
MLH1-PMS2	13	3	81,25% vs 18,75%	0,317
PMS2	2	0	100% vs 0%	1
MSH6- MSH2	2	1	66,6% vs 33,3%	1
MSH2	0	0	No aplicable	No se puede calcular.

La causa subyacente a la pérdida de expresión de MLH1 ha sido también materia de discusión como razón para observar diferencias en la respuesta al tratamiento de InmunoT.

Considerando como hipermetilación en el promotor de MLH1 aquella en la que los tumores presentan una metilación igual o superior al 15%, se realizó un análisis de la tasa de hipermetilación de MLH1 entre el grupo de pacientes respondedores y no respondedores. Los resultados muestran que el porcentaje de pacientes hipermetiladas es similar en ambos grupos: 59% en el grupo respondedor y del 57% en el grupo no respondedor, sin que se hayan observado diferencias significativas entre ambos ($p > 0.99$).

	0.5 años	1 años	5 años	p-valor [†]
Metilación MLH1				0.80
Hipermetilación MLH1	79% (60% to 100%)	79% (60% to 100%)	52% (26% to 100%)	
No hipermetilación MLH1	80% (59% to 100%)	70% (47% to 100%)	70% (47% to 100%)	

[†] Log-rank test

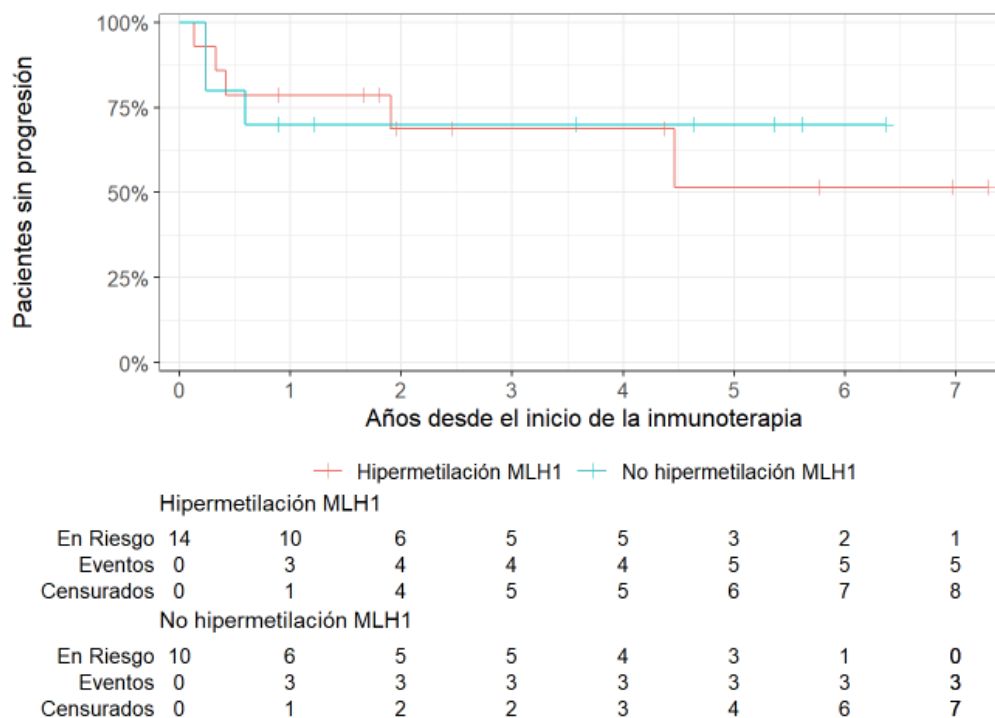


Figura R8. Kaplan-Meier de la SLP acorde a la metilación de MLH1

Además, se llevó a cabo un análisis para evaluar la correlación entre la hipermetilación y la SLP y la SG. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes con tumores hipermetilados y los no hipermetilados. Las tasas de SLP a 1 y 5 años fueron del 79% y del 52% en el grupo hipermetilado, en comparación con el 70% en el grupo no hipermetilado. En cuanto a la SG, a los 2 años, la tasa fue del 93% (80-100) para las pacientes hipermetiladas frente al 80% (50-100) en las no hipermetiladas. Sin embargo, a los 5 años, ambas cohortes mostraron una tasa de SG del 66% (rango 41-100) y 69% (44-100) respectivamente.

	2 años	5 años	p-valor [†]
Metilación MLH1			0.73
Hipermetilación MLH1	93% (80% to 100%)	66% (41% to 100%)	
No hipermetilación MLH1	80% (59% to 100%)	69% (44% to 100%)	

[†] Log-rank test

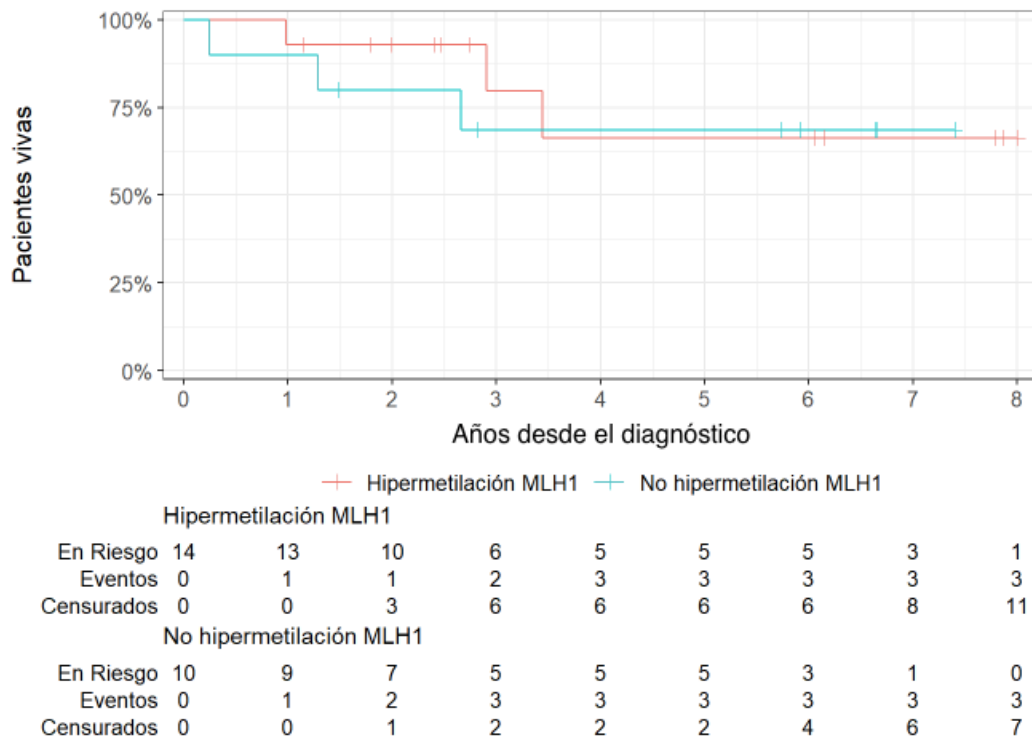


Figura R9. Kaplan-Meier de la SG acorde a la metilación de MLH1.

6.14 Eficacia del tratamiento en función del TMB

El análisis del TMB solo pudo ser realizado en 21 pacientes del total de la muestra. Se definió como un TMB elevado (TMB-H) cuando se identifican 13 o más mutaciones por megabase, en caso contrario se define como TMB bajo (TMB-L)

Si valoramos beneficio clínico como aquellas pacientes que presentan EE, RP o RC al tratamiento con inmunoT y analizamos el TMB acorde a este beneficio, se observa que, entre los pacientes con TMB-H (n=12), el 100 % (12 de 12) presentó algún grado de beneficio clínico. En cambio, en el grupo con TMB -L (n=9), 7 pacientes (77,8 %) mostraron beneficio clínico, mientras que 2 pacientes (22,2%) no obtuvieron ningún beneficio.

A pesar de estas observaciones, la correlación entre TMB y beneficio clínico tiene un p valor de 0,192.

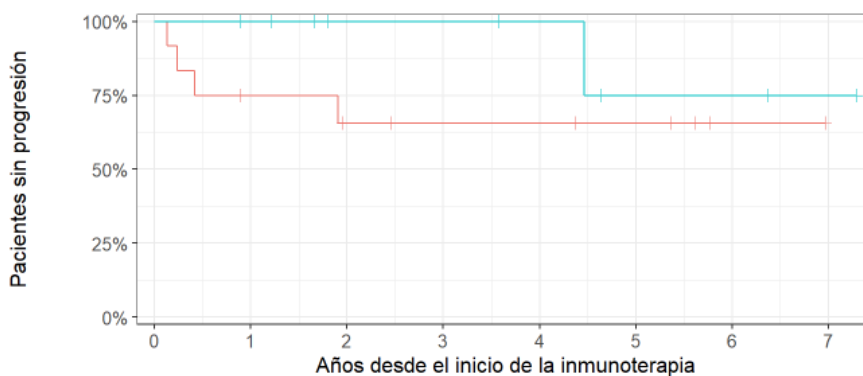
	TMB-H ≥ 13 (n=12)	TMB-L < 13 (n=9)
Beneficio clínico (EE, RP, RC) (n=19)	12	7
Pacientes sin beneficio clínico (PE) (n=2)	0	2

Tabla R18. Tabla de contingencia TMB acorde a la respuesta al tratamiento.

Así mismo, se analizó la correlación entre el valor de TMB y su impacto en la SLP y la SG. En cuanto a la SLP al año fue del 75% (rango 54-100) y del 100% en el grupo de pacientes con un TMB-H y TMB-L respectivamente. La SLP a los 5 años fue del 66% (rango 43-100) y 75% (43-100) en el grupo de pacientes con TMB-H y TMB-L respectivamente. Diferencias que no fueron estadísticamente significativas, con un p-valor de 0.26.

	0.5 años	1 años	5 años	p-valor[†]
TMB				0.26
TMB-H	75% (54% to 100%)	75% (54% to 100%)	66% (43% to 100%)	
TMB-L	100% (100% to 100%)	100% (100% to 100%)	75% (43% to 100%)	

[†] Log-rank test



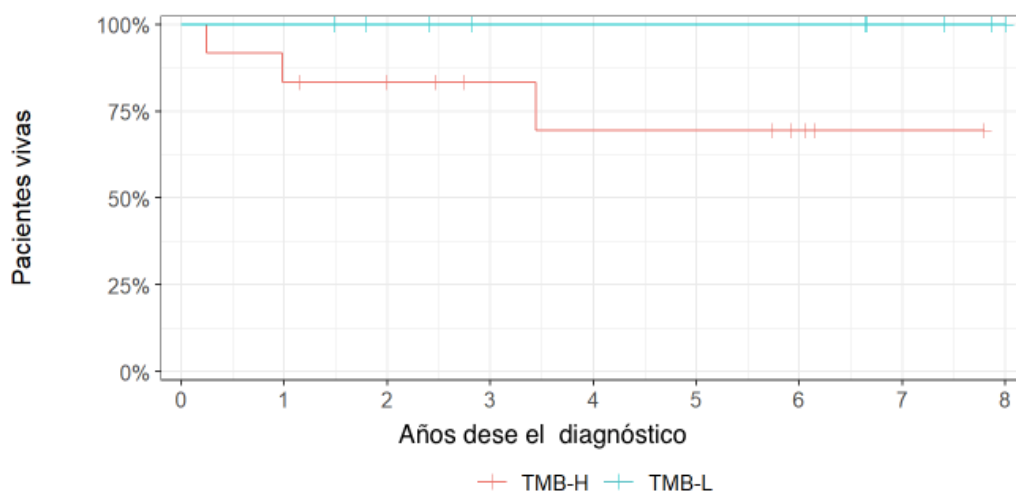
TMB-H								
En Riesgo	12	8	6	5	5	4	1	0
Eventos	0	3	4	4	4	4	4	4
Censurados	0	1	2	3	3	4	7	8
TMB-L								
En Riesgo	9	8	5	5	4	2	2	1
Eventos	0	0	0	0	0	1	1	1
Censurados	0	1	4	4	5	6	6	7

Figura R10. Kaplan-Meier de la SLP a la inmunoterapia en función del TMB.

En relación con la SG, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas. La tasa de SG a los 2 años y a los 5 años fue del 83% (rango 65-100) y del 69% (45-100) en el grupo de pacientes con TMB-H, mientras que en las pacientes con TMB-L, la tasa fue del 100% en ambos intervalos. El p-valor obtenido fue de 0.12. Estos resultados sugieren que, aunque existen diferencias en las tasas de SG entre los grupos, no son lo suficientemente evidentes como para establecer una relación clara entre el valor de TMB y la SG.

	2 años	5 años	p-valor [†]
TMB			0.12
TMB-H	83% (65% to 100%)	69% (45% to 100%)	
TMB-L	100% (100% to 100%)	100% (100% to 100%)	

[†]Log-rank test



	TMB-H								
En Riesgo	12	10	8	6	5	5	3	1	0
Eventos	0	2	2	2	3	3	3	3	3
Censurados	0	0	2	4	4	4	6	8	9
	TMB-L								
En Riesgo	9	9	7	5	5	5	5	3	1
Eventos	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Censurados	0	0	2	4	4	4	4	6	9

Figura R11. Kaplan-Meier de la SG a la inmunoterapia en función del TMB.

6.15 Eficacia del tratamiento en función del CPS PD-L1

El análisis del status de PDL-1 acorde al score del CPS (Combined Positive Score) se pudo realizar solo en 21 pacientes del total de la muestra. Se estableció un valor límite de 1 para considerar el resultado como positivo. Se estableció beneficio clínico cuando las pacientes presentaban EE, RP o RC al tratamiento con IO y lo analizamos acorde al CPS

score. De los 21 pacientes evaluables, 13 de los 14 pacientes (92,9 %) con CPS ≥ 1 obtuvieron beneficio clínico, así como 6 de los 7 pacientes (85,7 %) con CPS < 1 . En cuanto a los pacientes sin beneficio clínico, hubo 1 en cada grupo.

La proporción de pacientes que obtuvieron beneficio clínico fue similar en ambos grupos (92,9 % vs. 85,7 %), y el análisis estadístico confirma que esta diferencia no es significativa.

	CPS PD-L1 ≥ 1 (n=14)	CPS PD-L1 < 1 (n=7)
Beneficio clínico (EE, RP, RC) (n=19)	13	6
Pacientes sin beneficio clínico (PE) (n=2)	1	1

Tabla R19.Beneficio clínico en función de la expresión del CPS PD-L1

Del mismo modo que con otras alteraciones se ha intentado correlacionar la SLP y la SG entre la población con tumores con CPS score igual o superior a 1 frente a la población con CPS score negativo. En cuanto a las tasas de SLP, se encontró que, al año y a los 5 años, la población con CPS positivo presentó tasas del 85% (67-100) y 58% (32-100), respectivamente, mientras que el grupo con CPS negativo mostró una tasa del 88% (67-100) en ambos tiempos de análisis. No obstante, las diferencias observadas entre los subgrupos no fueron estadísticamente significativas, con un p-valor de 0.39.

	0.5 años	1 años	5 años	p-valor [†]
PDL1				0.39
PDL1 positivo	85% (67% to 100%)	85% (67% to 100%)	58% (32% to 100%)	
PDL1 negativo	88% (67% to 100%)	88% (67% to 100%)	88% (67% to 100%)	

[†] Log-rank test

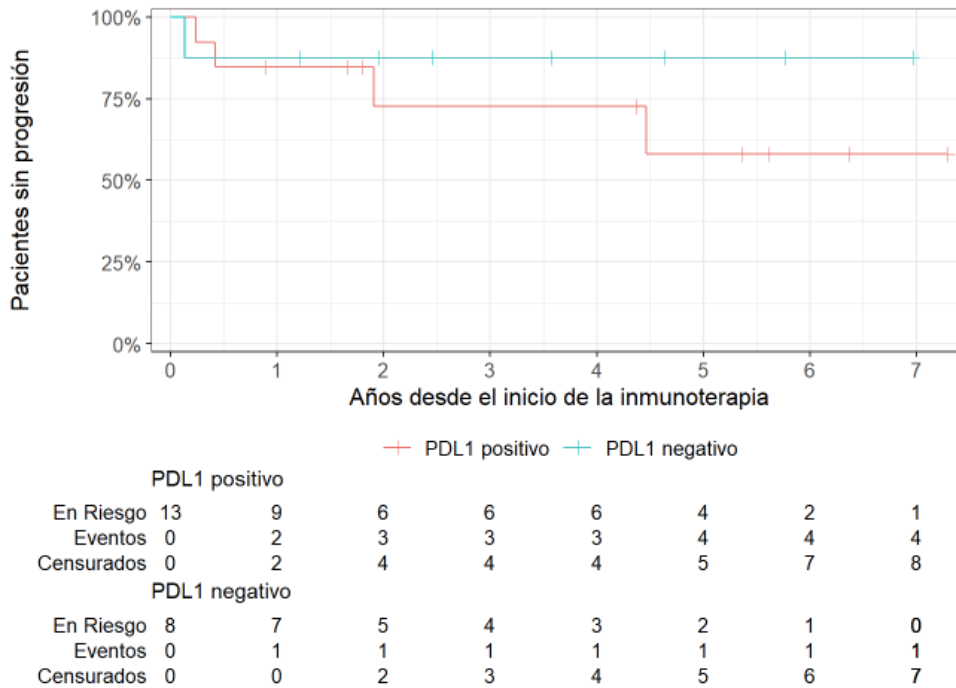


Figura R12. Kaplan-Meier de la SLP a la inmunoterapia en función de la expresión de CPS PD-L1.

En relación con la SG, tampoco se identificaron diferencias significativas. La tasa de SG a los 2 años y a los 5 años en la población con CPS positivo fue del 85% (rango 67-100) y 73% (50-100) respectivamente, en comparación con el 100% en ambos momentos para el grupo con CPS negativo. Tampoco se obtuvieron diferencias significativas con un p valor de 0,17.

	2 años	5 años	p-valor [†]
PDL1			0.17
PDL1 positivo	85% (67% to 100%)	73% (50% to 100%)	
PDL1 negativo	100% (100% to 100%)	100% (100% to 100%)	

[†] Log-rank test

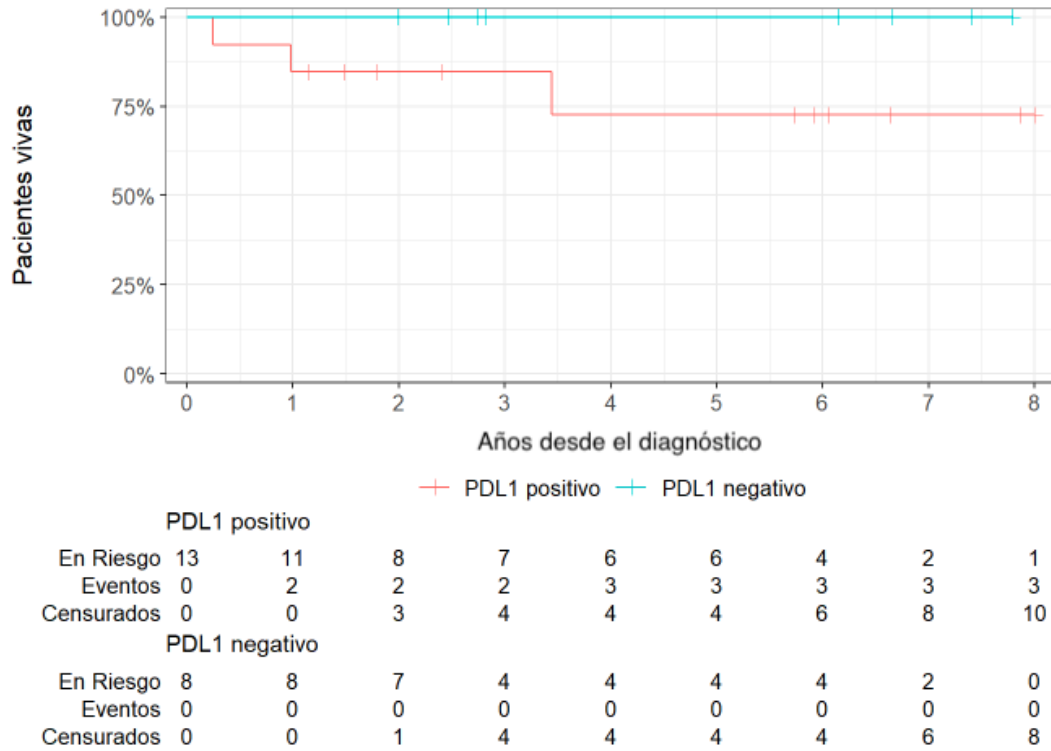


Figura R13. Kaplan-Meier de la SLP a la inmunoterapia en función de la expresión de CPS PD-L1.

6.16 Correlación entre PDL1 y TMB

En un total de 21 casos evaluados, se observó que la mayoría de los tumores, 14 (66,7%), fueron positivos para la expresión de PD-L1. Dentro de este grupo, 9 pacientes (64,3%) también presentaba TMB-H, mientras que los 5 restantes (35,7 %) tenían TMB-L. Por otro lado, de los 7 tumores con CPS negativo (que representaban el 33,3 % del total), 5 (71,4 %) resultó ser TMB-H y 2 (28,6 %) TMB-L. El coeficiente de correlación (Coeficiente phi) calculado para las 21 muestras es 0,21.

	TMB \geq 13	TMB <13	Total, PDL1
CPS PD-L1 \geq 1	9	5	14
CPS PD-L1 <1	5	2	7
Total, TMB	14	7	21

Tabla R20. Expresión de TMB y CPS PD-L1.

Al igual que con otra variable, se analizó la posible relación entre el beneficio clínico y la presencia de TMB y el status de CPS. Se incluyeron 19 pacientes con datos clínicamente evaluables, excluyéndose aquellos con resultados desconocidos (3 pacientes).

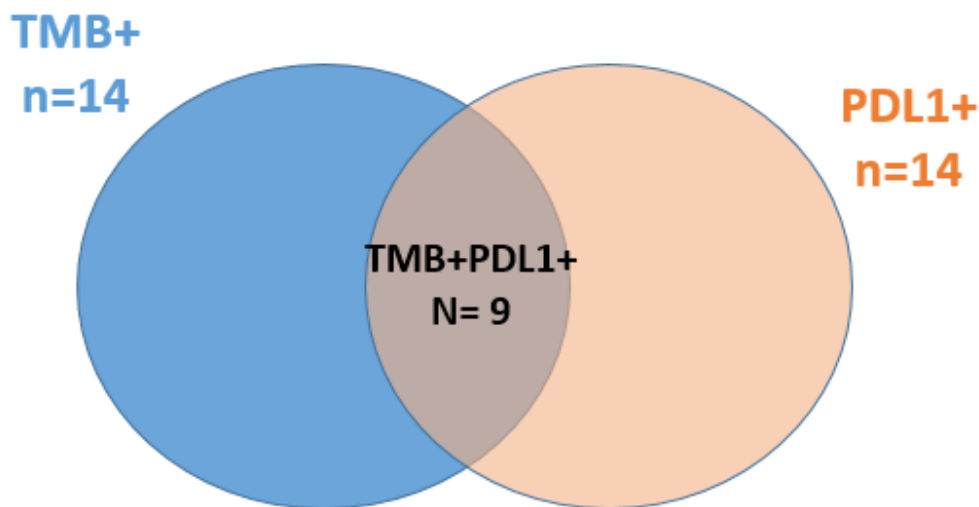


Figura R14. Correlación entre PD-L1 y TMB.

En el subgrupo de pacientes con TMB-H y CPS PD-L1 \geq 1, 8 de los 9 pacientes (88,9 %) obtuvieron beneficio clínico, mientras que 1 (11,1 %) no respondió al tratamiento. De forma similar, entre los pacientes con TMB-H y CPS <1, 4 de 5 (80 %) presentaron beneficio clínico y 1 no respondió. En cuanto a los pacientes con TMB-L, tanto los que

tenían $CPS \geq 1$ (5 pacientes) como los con $CPS < 1$ (2 pacientes), mostraron un beneficio clínico del 100 %.

Tabla R21. Beneficio clínico del tratamiento con inmunoterapia en función de la expresión de PD-L1 y TMB.

	TMB ≥ 13 + CPS PD-L1 ≥ 1 n=9	TMB ≥ 13 + CPS PD-L1 < 1 n=5	TMB < 13 + CPS PD-L1 ≥ 1 n=5	TMB < 13 + CPS PD-L1 < 1 n=2
Beneficio clínico (EE, RP, RC) (n=19 + 2 pacientes resultado desconocido)	8	4	5	2
Pacientes sin beneficio clínico (PE) (n=2 +1 pacientes desconocido)	1	1	0	0

6.17 Análisis subgrupo definido como doble clasificador

En este estudio se confirman que hay 7 pacientes con el clasificador dual, todas las pacientes presentan beneficio clínico al tratamiento dado que todas responden. Es relevante también el hecho de que, de las 7 pacientes, 2 continúan en tratamiento, mientras que 4 han suspendido la IO debido a toxicidad inaceptable, aunque sin evidencia de progresión, lo que las clasifica como largas respondedoras. Solo una paciente ha interrumpido el tratamiento por progresión, pero se encuentra viva y con la enfermedad controlada.

6.18 Análisis acorde a mutaciones patogénicas

Tampoco se encontraron diferencias entre ambos grupos cuando se analiza la incidencia en mutaciones patogénicas en genes relevantes previamente mencionados en este trabajo de tesis. Tabla:

Tabla R22: Características moleculares en función de las pacientes consideradas respondedoras y no respondedoras.

	RESPONDEDORAS (N)	NO RESPONDEDORAS (N)	TASA RESPUESTAS (%)	p-valor estimado (FISHER)
PTEN	10	3	76.9% vs 23.1%	0.64
PTPT	4	0	100% vs 0%	0.26
PI3KCA	6	4	60% vs 40%	0.64
NF1	2	1	66.7% vs 33.3%	1
ARID1	9	4	69.2% vs 30.8%	1
CTNNB1	2	0	100%	0.5
TERT	1	0	100%	1
RNF43	2	2	50%	0.58
TET	5	1	83.3% vs 16.7%	0.62
STK11	2	0	100%	0.5
KRAS	5	1	83.3% vs 16.7%	0.62
SMARC4	1	0	100%	1
FGFR	3	2	60% vs 40%	1

6.19 Correlación entre toxicidad y beneficio al tratamiento anti-PD-1/PD-L1

A la redacción de estos resultados, de las 24 pacientes incluidas 14 habían discontinuado el tratamiento con IO en el momento del análisis. La causa principal de la interrupción fue la progresión de la enfermedad en 8 pacientes (57%) seguida por la toxicidad inaceptable en 6 pacientes (43%) todas habían sido tratadas con dostarlimab. Entre los efectos adversos más graves que causaron la discontinuación del tratamiento, la toxicidad hepática fue la más común, afectando a 5 pacientes (83%). Le siguió toxicidad digestiva, que motivó la interrupción en una paciente (17%).

En la actualidad las 6 pacientes siguen vivas, sin tratamiento y sin evidencia de progresión de la enfermedad con una mediana del tiempo libre de tratamiento es de 42,85 meses (Rango 13,8 y 79,8 meses).

Este subgrupo de pacientes puede considerarse como respondedoras a largo plazo al tratamiento con IO.

Analizamos la SLP en las 8 pacientes que presentan respuesta inicial al tratamiento con progresión ulterior y en aquellas que responden y deben suspender el tratamiento por toxicidad inmunomediada. La SLP al año fue del 100% en ambos grupos, sin embargo a los 5 años, la SLP es del 100% en las pacientes que presentaron toxicidad frente al 0% en el grupo que no presentó efectos adversos severos.

No hemos conseguido identificar ninguna alteración molecular que pueda ser indicativa de predisposición al desarrollo de toxicidad inmunomediada.

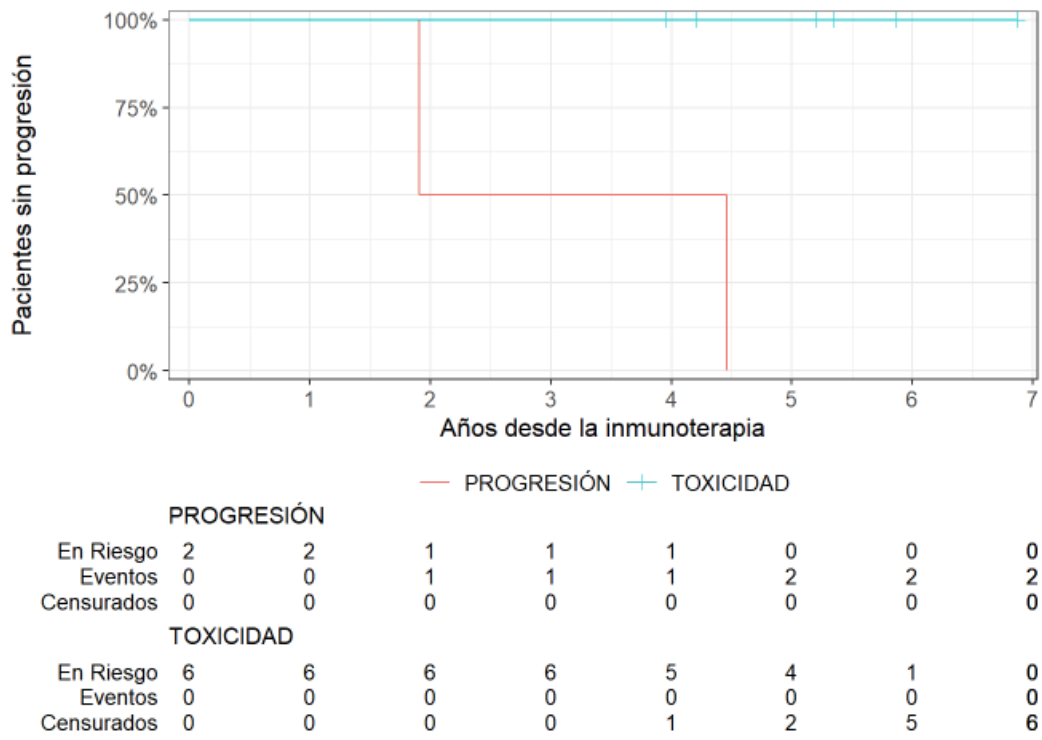


Figura R15. Kaplan-Meier de SLP entre las pacientes que suspenden el tratamiento por toxicidad o por progresión de la enfermedad.

7 DISCUSIÓN

Este trabajo de tesis se centra en 24 pacientes con CE asociado al fenotipo MMRd/ MSI-H diagnosticadas entre 2014 y 2020 en el Hospital Vall d'Hebron que fueron tratadas en un momento de su evolución con IO.

Si bien el trabajo se centra en un tamaño muestral reducido son varias las razones que lo justifican, tales como que el fenotipo MMRd/ MSI-H representa aproximadamente el 30% de los cánceres de endometrio, que la mayoría de las pacientes se diagnostican en estadios tempranos, con un porcentaje de curación superior al 80% tras la cirugía sin necesidad de tratamiento sistémico y por último, el uso de IO en el tratamiento del CE ha sido incorporado recientemente como aproximación terapéutica.

Por el contrario, este trabajo de tesis presenta una fortaleza notable, el haber sido desarrollado sobre un análisis de datos obtenidos de pacientes en condiciones de “Vida Real”, lo que proporciona una perspectiva práctica sobre las características de las pacientes con CE MMRd/ MSI-H tratadas con IO.

En la cohorte estudiada el 92% de las pacientes presentaban un CE con histología endometroide y en un 46% los tumores eran de alto grado. Este hallazgo concuerda con la literatura existente, que ha documentado la prevalencia de tumores endometrioides en subgrupo molecular MMRd/MSI-H.

Al inicio del proyecto de tesis, el CE era estadificado acorde a la clasificación FIGO 2009. Sin embargo, una nueva clasificación FIGO incluyendo factores histológicos y moleculares no presentes en la versión de 2009 fue publicada en el 2023. Por tanto, es importante destacar que, este trabajo de tesis se basa en la clasificación de 2009 y los hallazgos y el estadio asignado al diagnóstico deben interpretarse dentro de ese contexto. El 96% de las pacientes incluidas en nuestro análisis recibió tratamiento inicial mediante cirugía y que, la mayoría de ellas fueron diagnosticadas en estadios precoces de la enfermedad.

En nuestra serie, a pesar de que 37.5% fueron diagnosticadas en estadios iniciales, un 96% de las pacientes presenta recaída de la enfermedad, incluyendo un 15% durante el tratamiento adyuvante. Este dato está muy alineado con el factor pronóstico que supone el fenotipo molecular dMMR/MSI-H, el cual se asocia a un pronóstico intermedio de la enfermedad tal y como quedó demostrado en la clasificación del TCGA y de ProMISE.

Dicho esto, en nuestra serie la tasa de SLP al año es del 75% y a los 5 años del 59% y la tasa de SG a 5 años es del 86% y de SG a 10 años es del 61%.

Estos resultados que se pueden considerar bastante alentadores son el resultado en gran medida del cambio de estrategia del tratamiento sistémico que recibieron estas pacientes y que no fue otro que la IO basada en anti-PD1/PDL-1

Si bien no todas las pacientes fueron tratadas con el mismo esquema de IO ni en el mismo momento del transcurso de la enfermedad variabilidad importante de reconocer, la hipótesis del proyecto de tesis se cumple dado que una gran proporción de las pacientes logra sobrevivir a largo plazo tras el diagnóstico inicial, lo que sugiere que este tipo de tratamiento impacta de forma considerable en la supervivencia de las pacientes con tumores de endometrio asociado a MMRd/MSI-H.

Además, a pesar del limitado número de pacientes tratadas en primera línea en comparación con segunda línea o posterior, los datos indican que la SLP a largo plazo es más favorable cuando las pacientes reciben el tratamiento en primera línea. Estos datos resaltan la importancia de determinar el momento de elección en la introducción del tratamiento con los inhibidores de PD-1/PD- en el manejo de nuestras pacientes con CE para optimizar al máximo los resultados clínicos y la calidad de vida de los pacientes.

Los datos de eficacia mostrados en el total de la población incluida en nuestro trabajo de tesis son concordantes con los resultados los ensayos clínicos pivotaes que respaldaron la aprobación de estos fármacos en este subgrupo de pacientes.

Una fortaleza de nuestro trabajo de tesis es que las pacientes incluidas tienen una mediana de seguimiento de 7 años, la cual es muy superior a las medianas de seguimiento de los estudios pivotaes que oscilan entre los 2-5 años. Por ejemplo, el estudio GARNET (dostarlimab tras la progresión a platino) tiene una mediana de seguimiento de 28 meses, reporta una tasa de SG superior al 50% a los 3 años, mientras que el estudio RUBY (dostarlimab en combinación con Paclitaxel/Carboplatino en 1ª línea), con un seguimiento de 36.6 meses, muestra una tasa de SG del 70.1% a los 24 meses.

En nuestra serie con un seguimiento de 7,4 años desde el inicio del tratamiento con IO, se ha objetivado una SLP de a 5 años del 59% y una SG desde el diagnóstico del 61% a los 10 años. Este último dato es realmente interesante ya que, 23 de las 24 pacientes incluidas en esta tesis (96% de la población analizada) han presentado una recaída de la enfermedad. Este dato es muy importante ya que indica que más de la mitad de los

pacientes continúan vivos una década después del diagnóstico. Hasta la introducción del perfil molecular como factor pronóstico y el tratamiento con terapia anti-PD-1/PD-L1, la supervivencia a los 5 años de las pacientes con una recaída de su tumor de endometrio era inferior al 20%.

En cuanto al tratamiento de IO administrado, es importante confirmar que la mayoría de las pacientes recibieron tratamiento con un anticuerpo monoclonal anti-PD-1, (dostarlimab o pembrolizumab) mientras que solo una paciente fue tratada con un anti PD-L1(durvalumab). Si bien este trabajo no está diseñado para comparar los diferentes agentes empleados en el tratamiento, es llamativo y debe destacarse que una de las dos pacientes que experimentaron progresión después de dos ciclos de inicio de la IO, y que por lo tanto se puede considerar resistente a este tipo de tratamiento, fue la paciente tratada con durvalumab (anti-PD-L1).

Aunque puede considerarse atrevido realizar conclusión alguna a este respecto dado que es una única paciente, este hallazgo está en consonancia con los datos de la literatura reciente, que sugiere que los anticuerpos anti-PD-L1 pueden enfrentar mayores mecanismos de resistencia, siendo la sobreexpresión de PD-L2 uno de los factores conocidos. PD-L2 está expresado tanto en células tumorales como en diversas subpoblaciones de células inmunitarias, y varios estudios experimentales han demostrado que las células tumorales que tienen sobreexpresión de PD-L2 presentan resistencia al tratamiento con anticuerpos anti-PD-L1 en monoterapia. Sin embargo, esta resistencia puede superarse mediante la aplicación de un anticuerpo anti-PD-1 o mediante la combinación con anti-PD-L2.

Cuando analizamos las respuestas obtenidas a la IO en nuestra serie, cabría esperar una gran homogeneidad, dado que todas las pacientes tenían un CE con el mismo biomarcador, dMMR/MSI-H. Sin embargo, las respuestas son heterogéneas; un 29% de los pacientes (7 de 24) no respondieron al tratamiento con IO frente al 63% (17 de 24) que presentaron una RP/RC al tratamiento. Estos resultados ya fueron observados en los estudios pivotaes con pembrolizumab y dostarlimab, donde hasta un 50% de las pacientes no respondieron al tratamiento. Esto sugiere que si bien todas las pacientes tienen el mismo tipo molecular de tumor MMRd/MSI-H, es imprescindible identificar otras características moleculares que nos ayuden a seleccionar a las pacientes respondedoras de las no respondedoras y con ello a optimizar las estrategias terapéuticas.

Esto es altamente relevante dado que las pacientes que presentan una respuesta al tratamiento, ya sea en forma de RP o RC, muestran una supervivencia significativamente mayor. Estas diferencias son estadísticamente significativas, lo que refuerza la importancia de identificar a los pacientes que responden positivamente a la IO.

Un hallazgo notable es que un grupo de 15 pacientes logró mantener una ausencia de progresión de la enfermedad durante más de 2 años tras el inicio del tratamiento con IO. Este subgrupo puede considerarse como "respondedoras a largo plazo", lo que sugiere que estas pacientes experimentan no solo una respuesta inicial al tratamiento, sino también una efectividad duradera, lo cual es prometedor para el manejo a largo plazo de la enfermedad.

Uno de los objetivos de este trabajo de tesis fue precisamente investigar factores subyacentes que pueden influir en la respuesta a la IO en este grupo de CE dMMR/MSI-H. En este sentido analizamos la posible asociación entre la respuesta al tratamiento con la pérdida de proteínas específicas del sistema de reparación MMR. Este aspecto ha sido escasamente explorado en la literatura médica actual, lo que resalta la relevancia de nuestra investigación en este campo. A pesar de contar con un tamaño de muestra limitado, se ha evidenciado que no existen diferencias significativas en la expresión de las cuatro proteínas del sistema MMR entre las pacientes clasificadas como respondedoras y aquellas consideradas no respondedoras al tratamiento inmunoterapéutico.

Un hallazgo destacado de nuestra investigación fue la identificación de hipermetilación en el promotor de las islas CpG del gen MLH1 en el 58% de las pacientes analizadas. Además, se determinó que la mediana de hipermetilación en este grupo fue del 45%, con un rango que varió entre el 4% y el 67%. Esta variabilidad en los niveles de metilación sugiere diferencias significativas entre las pacientes, lo que podría indicar la existencia de distintos mecanismos epigenéticos subyacentes o una heterogeneidad tumoral en los casos estudiados.

El análisis de la hipermetilación del promotor de MLH1 en esta cohorte de pacientes no revela una asociación significativa con la respuesta al tratamiento ni con la supervivencia. Los resultados obtenidos en este estudio son consistentes con la literatura publicada, que indica una falta de correlación significativa entre la hipermetilación en el gen MLH1 y la respuesta al tratamiento con IO y están en consonancia con los datos obtenidos hasta el momento en los estudios NRG018 (pembrolizumab) y RUBY (dostarlimab).

Por consiguiente, los hallazgos de este trabajo de tesis refuerzan que la hipermetilación de MLH1 no es un factor pronóstico determinante de la respuesta a la IO en esta población de pacientes.

Otra de las alteraciones moleculares analizadas para intentar establecer biomarcadores de respuesta fue la TMB. En la población analizada se confirma que un 66,6% de las pacientes presentaban un TMB-H lo cual respalda que el fenotipo MMRd/MSI-H está asociada a un perfil mutacional elevado o hipermutado. Sin embargo, no se pudo establecer una correlación significativa entre un TMB-H o TMB-L y la respuesta al tratamiento.

PD-L1 es uno de los biomarcadores más extensamente implementados en el tratamiento de los tumores sólidos para seleccionar a la población que más beneficio obtendría del tratamiento con IO. En nuestra serie hasta un 66,6% de las pacientes tenían tumores con CPS PD-L1 >1 pero desafortunadamente los resultados obtenidos no nos permiten la implementación de CPS como biomarcador de respuesta.

Analizados los biomarcadores más relevantes asociados a la respuesta a la IO, hemos tratado de correlacionarlos. El coeficiente de correlación (Coeficiente phi) entre PDL1 y TMB calculado para las 21 muestras es 0,21, esta correlación, aunque positiva es débil entre ambas variables. Este hallazgo indica la existencia de un subgrupo de tumores con expresión concomitante de CPS PDL-1 positivo y TMB elevado, pero no se puede confirmar que sea un factor predictivo de respuesta o beneficio al tratamiento, ya que en este trabajo se constató una notable heterogeneidad, con casos que expresan únicamente uno de los biomarcadores.

Estos datos nos llevan a continuar la investigación para tratar de identificar biomarcadores más allá de dMMR/MSI-H que nos permitan una mejor selección de las pacientes.

Sin bien nuestro trabajo de Tesis se centra en los CE dMMR/MSI-H, es conocido y como hemos reflejado en la introducción de este trabajo que, entre el 3% y el 6% de los tumores presentan más de una característica de clasificación molecular, lo que se denomina "tumores con clasificación molecular múltiple". Estos incluyen aquellos con una combinación de mutación en POLE y p53 anormal (POLEmut-p53abn), deficiencia combinada de MMRd/MSI-H y p53 anormal (MMRd-p53abn), alteración combinada de

MMRd/MSI-H y POLE (MMRd-POLEmut), y aquellos con las tres características defectuosas (MMRd/MSI-H-POLEmut-p53abn).

En este estudio, se identificaron 7 pacientes que presentaban simultáneamente el fenotipo de MMRd/MSI-H y p53 aberrante o mutado. Es interesante destacar que, los hallazgos del presente estudio evidencian que todas las clasificadas mediante el clasificador dual presentaron beneficio clínico, al ser todas ellas respondedoras al tratamiento. Estos resultados confirman el carácter subclonal de las mutaciones en TP53 en este grupo de pacientes y corrobora que el grupo molecular viene determinado por la presencia del fenotipo MMRd .

Ahondado en marcadores adicionales de respuesta, ninguno de los genes analizados con el panel genómico utilizado en este trabajo de tesis como son las alteraciones en la vía de PI3KCA, la pérdida de función del gen PTEN o mutaciones en ARID1 ha mostrado una asociación con la respuesta al tratamiento con IO.

Uno de los hallazgos más interesantes y destacables de este trabajo, es observar cómo un total de 6 pacientes respondedoras al tratamiento desarrollaron toxicidad inmunomediada que obligó a discontinuar el tratamiento, sin embargo, en el momento actual estas pacientes permanecen sin progresión de la enfermedad.

Estudios previos en pacientes con melanoma tratados con inhibidores de PD-1 sugirieron una correlación positiva entre los eventos adversos cutáneos y la eficacia. En pacientes con cáncer de pulmón no microcítico, un estudio reciente mostró que aquellos con eventos adversos inmuno-relacionados (irAE) tenían una mejor respuesta al tratamiento en comparación con los que no los tenían. En CE hasta el momento no hay ningún dato reportado sobre esta correlación.

Estos datos confirman una de las hipótesis del trabajo de tesis que las pacientes que presentan toxicidad inmunomediada tienen un mayor beneficio del tratamiento con anti-PD-1/anti-PD-L1, tanto en tasa de respuestas como en duración de la respuesta en comparación con las pacientes que no desarrollan toxicidad.

En conclusión, este trabajo de tesis incluyendo a 24 pacientes con CE MMRd/MSI-H, tratadas con inhibidores de PD-1/PD-L1 con un periodo de seguimiento de 7,4 años (rango entre 6,1 a 9,1 años) evidencia cómo la identificación molecular y el tratamiento dirigido han mejorado la el pronóstico de estas pacientes a largo plazo.

8 CONCLUSIONES

- 1- Las pacientes con cáncer de endometrio asociados a fenotipo MMRd/MSI-H que realizan tratamiento con anti-PD1/PD-L1 tienen una supervivencia libre de enfermedad y una supervivencia global superior a la esperada según las series históricas.
- 2- En las pacientes con CE dMMR/MSI-H , no se ha identificado relación entre la respuesta al tratamiento con IO y la pérdida específica de una de las proteínas del sistema MMR (MLH1, PMS2, MSH6 y MSH2), ni con la hipermetilación del promotor de MLH1 ni con la carga mutacional tumoral (TMB) ni los niveles de expresión de PD-L1.
- 3- En las pacientes con CE caracterizados por el doble clasificador MMRd/MSI-H-p53abn, presentan una respuesta al tratamiento con inhibidores de PD-1/PD-L1 y un pronóstico similar al grupo MMRd/MSI-H, confirmando el carácter subclonal de las alteraciones en p53
- 4- Las pacientes con CE tratadas con IO y que desarrollan toxicidad inmunomediada parecen tener un pronóstico más favorable a largo plazo frente a aquellas que no desarrollan toxicidad inmunomediada, sugiriendo el desarrollo de toxicidad como un factor predictivo de respuesta al tratamiento de IO en CE asociado a MMRd/MSI-H.

9 LAS LÍNEAS DE FUTURO

Este trabajo de tesis nos lleva a plantear diferentes líneas futuras de investigación, destacando entre ellas la necesidad de identificar aquellas pacientes con CE dMMR/MSI-H que no responden al tratamiento con IO. Es esencial entender porque en una población que comparte un biomarcador común la evolución de las pacientes puede ser heterogénea. Es esencial identificar aquellas pacientes que no se van a beneficiar del tratamiento con IO para determinar estrategias terapéuticas diferentes.

Adicionalmente, se debería evaluar de forma sistemática la toxicidad inmunomediada como posible marcador indirecto de beneficio clínico a largo plazo, para ello sería necesario diseñar estudios prospectivos con IO que incorporen el análisis de toxicidad inmunomediada como variable de interés.

La introducción de la IO en el manejo terapéutico del CE ha revolucionado el pronóstico de esta enfermedad sin embargo todavía tenemos retos importantes por lo que la investigación debe continuar.

10 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin.* 2019 Jan;69(1):7-34.
2. Sud S, Holmes J, Eblan M, Chen R, Jones E. Clinical characteristics associated with racial disparities in endometrial cancer outcomes: A surveillance, epidemiology and end results analysis. *Gynecol Oncol.* 2018 Feb;148(2):349-356.
3. Creasman W. Recent advances in endometrial cancer. *Seminars in Surgical Oncology.* 1990.
4. Tran AQ, Gehrig P. Recent Advances in Endometrial Cancer. *F1000Res.* 2017 Jan 27;6:81.
5. Miller DS, Filiaci VL, Mannel RS, Cohn DE, Matsumoto T, Tewari KS, DiSilvestro P, Pearl ML, Argenta PA, Powell MA, Zweizig SL, Warshal DP, Hanjani P, Carney ME, Huang H, Cella D, Zaino R, Fleming GF. Carboplatin and paclitaxel for advanced endometrial cancer: final overall survival and adverse event analysis of a phase III trial (NRG Oncology/GOG0209). *J Clin Oncol.* 2020 September 29 (Epub ahead of print).
6. Cancer Genome Atlas Research Network. Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, Akbani R, Liu Y, Shen H, Robertson AG, Pashtan I, Shen R, Benz CC, Yau C, Laird PW, Ding L, Zhang W, Mills GB, Kucherlapati R, Mardis ER, Levine DA. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma.. *Nature.* 2013;497(7447):67–73.
7. WHO. GLOBOCAN 2022: Estimated cancer incidence mapwi2. <http://globocan.iarc.fr>. [Online]. [cited 2020].
8. Evans T, Sany O, Pearmain P, Ganesan R, Blann A, Sundar S. . Differential trends in the rising incidence of endometrial cancer by type: data from a UK population-based registry from 1994 to 2006. *Br J Cancer.* 2011; 104(9): 1505–10..
9. Lee NK, Cheung MK, Shin JY, Husain A, Teng NN, Berek JS, Kapp DS, Osann K, Chan JK. . Prognostic factors for uterine cancer in reproductive-aged women.. *Obstet Gynecol.* 2007.109: 655–662.
10. Bhaskaran K, Douglas I, Forbes H, dos-Santos-Silva I, Leon DA, Smeeth L. . Body-mass index and risk of 22 specific cancers: a population-based cohort study of 5·24 million UK adults. *Lancet.* 2014; 384:755-65.
11. Corocleanu M. Hypothesis for endometrial carcinoma carcinogenesis. Preventive prospects.. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 1993;20(4):254–8.
12. Lu KH, Broaddus RR. Endometrial Cancer. *N Engl J Med.* 2020.Nov 19;383(21):2053-2064.
13. F Friberg E, Orsini N, Mantzoros CS, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of endometrial cancer: a meta-analysis.. *Diabetologia.* 2007 Jul;50(7):1365-74..
14. S Shikata K, Ninomiya T, Kiyohara Y. Diabetes mellitus and cancer risk: review of the epidemiological evidence.. *Cancer Sci.* 2013 Jan;104(1):9–14.
15. Swerdlow AJ, Jones ME. Tamoxifen treatment for breast cancer and risk of endometrial cancer: a case-control study. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Mar 2;97(5):375-84.
16. Zaino RJ, Kurman RJ, Diana KL, Morrow CP. Pathologic models to predict outcome for women with endometrial adenocarcinoma: the importance of the

- distinction between surgical stage and clinical stage--a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer*. 1996 Mar 15;77(6):1115-21.
17. L Lurain JR, Rice BL, Rademaker AW, Poggensee LE, Schink JC, Miller DS. Prognostic factors associated with recurrence in clinical stage I adenocarcinoma of the endometrium. *Obstet. Gynecol.* 1991.78, 63–69 .
 18. Howlader N. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2010, National Cancer Institute. Bethesda, MD.
 19. Long B, Liu FW, Bristow RE. Disparities in uterine cancer epidemiology, treatment, and survival among African Americans in the United States. *Gynecol. Oncol.* 2013. 130(3), 652–659 .
 20. Setiawan VW, Pike MC, Kolonel LN, Nomura AM, Goodman MT, Henderson BE. Racial/ethnic differences in endometrial cancer risk: the multiethnic cohort study. *Am. J. Epidemiol.* 2007. 165, 262–270 .
 21. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. [Online].; 2021 [cited 2020 November. Available from: www.seer.cancer.gov.
 22. Creasman WT, DeGeest K, DiSaia PJ, Zaino RJ. Significance of true surgical pathologic staging: a Gynecologic Oncology Group study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1999.181, 31–34 .
 23. Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the endometrium. : *Int J Gynaecol Obstet.* 2009 May;105(2):109.)
 24. Berek JS, Matias-Guiu X, Creutzberg C, Fotopoulou C, Gaffney D, Kehoe S, Lindemann K, Mutch D, Concin N; Endometrial Cancer Staging Subcommittee, FIGO Women's Cancer Committee. FIGO staging of endometrial cancer: 2023. *Int J Gynecol Obstet.* 2023;162:383–394.
 25. Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, Creasman WT, Heller P, Homesley HD, Graham JE. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: a Gynecology Oncology Group Study. *Gynecol Oncol.* 1991.40, 55–65 .
 26. C Creasman WT, Odicino F, Maisonneuve P, Quinn MA, Beller U, Benedet JL, Heintz AP, Ngan HY, Pecorelli S. Carcinoma of the corpus uteri. FIGO Annual Report. *J. Gynaecol. Obstet.* 2006; Vol 6. 95(Suppl. 1), S105–S143.
 27. Guntupalli SR, Zigelboim I, Kizer NT, Zhang Q, Powell MA, Thaker PH, Goodfellow PJ, Mutch DG. Lymphovascular space invasion is an independent risk factor for nodal disease and poor outcomes in endometrioid endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.* 2012.124(1), 31–35 .
 28. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol. Oncol.* 1983 15, 10–17 .
 29. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, González-Martín A, Ledermann J, Marth C, Nout R, Querleu D, Mirza MR, Sessa C; ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology.* 2016.27: 16–41.
 30. Oda K, Stokoe D, Taketani Y, McCormick F. High frequency of coexistent mutations of PIK3CA and PTEN genes in endometrial carcinoma. *Cancer Res.* 2005; 65; 10669–10673.
 31. Pollock PM, Gartside MG, Dejeza LC, Powell MA, Mallon MA, Davies H, Mohammadi M, Futreal PA, Stratton MR, Trent JM, Goodfellow PJ. Frequent activating FGFR2 mutations in endometrial carcinomas parallel germline mutations

- associated with craniosynostosis and skeletal dysplasia syndromes. *Oncogene*. 2007; 26; 7158–7162.
32. Matias-Guiu X, Prat J. Molecular pathology of endometrial carcinoma. *Histopathology*. 2013 Jan;62(1):111-23.
 33. Tritz D, Pieretti M, Turner S, Powell D. Loss of heterozygosity in usual and special variant carcinomas of the endometrium. *Hum. Pathol.*1997; 28; 607–612.
 34. Morrison C, Zanagnolo V, Ramirez N, Cohn DE, Kelbick N, Copeland L, Maxwell GL, Fowler JM. HER-2 is an independent prognostic factor in endometrial cancer: association with outcome in a large cohort of surgically staged patients. *J. Clin. Oncol.*. 2006; 24; 2376–2385.
 35. Hayes MP, Ellenson LH. Molecular alterations in uterine serous carcinoma. *Gynecol. Oncol.*2010; 116; 286–289.
 36. Fujiwara M, Longacre TA. Low-grade mucinous adenocarcinoma of the uterine corpus: a rare and deceptively bland form of endometrial carcinoma. *J Surg Pathol*. 2011.pp. 537-544.
 37. del Carmen MG, Birrer M, Schorge JO. Uterine papillary serous cancer: a review of the literature. *Gynecol Oncol.*2012; 127(3): 651–61.
 38. Boruta DM 2nd, Gehrig PA, Groben PA, Bae-Jump V, Boggess JF, Fowler WC Jr, Van Le L. Uterine serous and grade 3 endometrioid carcinomas: is there a survival difference?. *Cancer.*2004; 101(10): 2214–21.
 39. Carcangiu ML, Chambers JT. Early pathologic stage clear cell carcinoma and uterine papillary serous carcinoma of the endometrium: comparison of clinicopathologic features and survival. *Int J Gynecol Pathol.*1995; 14(1): 30–8.
 40. Altrabulsi B, Malpica A, Deavers MT, Bodurka DC, Broaddus R, Silva EG. Undifferentiated carcinoma of the endometrium. *Am J Surg Pathol*. 2005;29:1316–1321.
 41. Ramalingam P, Masand RP, Euscher ED, Malpica A. Undifferentiated carcinoma of the endometrium: an expanded immunohistochemical analysis including PAX-8 and basal-like carcinoma surrogate markers.. *Int J Gynecol Pathol*. 2015, in press.
 42. Kanthan R and Senger JL. Uterine Carcinosarcomas (Malignant Mixed Müllerian Tumor): A review with special emphasis on the controversies in management.. *Obstet Gynecol Int*. 2011; 2011:470795.
 43. Watanabe M, Shimizu K, Kato H, Imai H, Nakano H, Sugawa M, Shiraishi T. Carcinosarcoma of the uterus: immunohistochemical and genetic analysis of clonality of one case. *Gynecol Oncol*. 2001. pp. 563-567.
 44. Pocrnich CE, Ramalingam P, Euscher ED, Malpica A. Neuroendocrine Carcinoma of the Endometrium: A Clinicopathologic Study of 25 Cases. *Am J Surg Pathol.*. 2016 May; 40(5): 577–586..
 45. Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer.. *N Engl J Med*. 2003;348(10):919-32.
 46. Kwon JS, Scott JL, Gilks CB, Daniels MS, Sun CC, Lu KH. T. Testing women with endometrial cancer to detect Lynch syndrome. *J Clin Oncol*. 2011; 29(16): 2247–52.
 47. Lu KH, Schorge JO, Rodabaugh KJ, Daniels MS, Sun CC, Soliman PT, White KG, Luthra R, Gershenson DM, Broaddus RR. Prospective determination of prevalence of Lynch syndrome in young women with endometrial cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25:5158-64.

48. Pilarski R. Cowden Syndrome: A Critical Review of the Clinical Literature. *J Genet Counsel.* 2009 18:13–27.
49. Shu CA, Pike MC, Jotwani AR, Friebel TM, Soslow RA, Levine DA, Nathanson KL, Konner JA, Arnold AG, Bogomolny F, Dao F, Olvera N, Bancroft EK, Goldfrank DJ, Stadler ZK, Robson ME, Brown CL, Leitao MM Jr, Abu-Rustum NR, Aghajanian CA, Blum JL, Neuhausen SL, Garber JE, Daly MB, Isaacs C, Eeles RA, Ganz PA, Barakat RR, Offit K, Domchek SM, Rebbeck TR, Kauff ND. Uterine Cancer After Risk-Reducing Salpingo-oophorectomy Without Hysterectomy in Women With BRCA Mutations. *JAMA Oncol.* 2016;2(11):1434–1440.
50. Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello FM, Hampel HL, Burt RW; American College of Gastroenterology. ACG clinical guideline: Genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. *Am J Gastroenterol.* 2015;110(2):223-262; quiz 263.
51. Pasanen A, Loukovaara M, Bützow R. Clinicopathological significance of deficient DNA mismatch repair and MLH1 promoter methylation in endometrioid endometrial carcinoma. *Mod Pathol.* 2020 Jul;33(7):1443-1452.
53. Mark R. Brincat, Tiffany Buhagiar, Sharon Falzon, Sabrina Ariff, Simona Bugeja, James Debono, Yves Muscat Baron, Ian Said Huntingford, Neville Calleja. Mismatch repair protein expression defects in endometrioid endometrial adenocarcinoma. *European Journal of Gynaecological Oncology.* 2021. 42(2);265-277.
54. Martín-López JV, Fishel R. The mechanism of mismatch repair and the functional analysis of mismatch repair defects in Lynch syndrome. *Fam Cancer.* 2013 Jun;12(2):159-68.
55. Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg MJL, Singh N, Nottegar A, Bosse T, Miller R, Riaz N, Douillard JY, Andre F, Scarpa A. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. *Ann Oncol.* 2019 Aug 1;30(8):1232-1243.
56. Cancer Genome Atlas Research Network; Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, Akbani R, Liu Y, Shen H, Robertson AG, Pashtan I, Shen R, Benz CC, Yau C, Laird PW, Ding L, Zhang W, Mills GB, Kucherlapati R, Mardis ER, Levine DA. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature.* 2013 May 2;497(7447):67-73.
57. H Howitt BE, Shukla SA, Sholl LM, Ritterhouse LL, Watkins JC, Rodig S, Stover E, Strickland KC, D'Andrea AD, Wu CJ, Matulonis UA, Konstantinopoulos PA. Association of Polymerase e-Mutated and Microsatellite-Instable Endometrial Cancers With Neoantigen Load, Number of Tumor-Infiltrating Lymphocytes, and Expression of PD-1 and PD-L1. *JAMA Oncol.* 2015 Dec;1(9):1319-23.
58. Momeni-Boroujeni A, Nguyen B, Vanderbilt CM, Ladanyi M, Abu-Rustum NR, Aghajanian C, Ellenson LH, Weigelt B, Soslow RA. Genomic landscape of endometrial carcinomas of no specific molecular profile. *Mod Pathol.* 2022 Sep;35(9):1269-1278.
59. V Vousden KH, Lu X. Live or let die: the cell's response to p53. *Nat Rev Cancer.* 2002 Aug;2(8):594-604.
60. Lee EJ, Kim TJ, Kim DS, Choi CH, Lee JW, Lee JH, Bae DS, Kim BG. p53 alteration independently predicts poor outcomes in patients with endometrial

cancer: a clinicopathologic study of 131 cases and literature review. *Gynecol Oncol*. 2010 Mar;116(3):533-8.

61. Talhouk, A., McConechy, M., Leung, S. *et al*. A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers. *Br J Cancer* **113**, 299–310 (2015).
62. Talhouk A, McConechy MK, Leung S, Yang W, Lum A, Senz J, Boyd N, Pike J, Anglesio M, Kwon JS, Karnezis AN, Huntsman DG, Gilks CB, McAlpine JN. Confirmation of ProMisE: A simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer. *Cancer*. 2017 Mar 1;123(5):802-813.
63. Stelloo E, Nout RA, Osse EM, Jürgenliemk-Schulz IJ, Jobsen JJ, Lutgens LC, van der Steen-Banasik EM, Nijman HW, Putter H, Bosse T, Creutzberg CL, Smit VT. Improved Risk Assessment by Integrating Molecular and Clinicopathological Factors in Early-stage Endometrial Cancer-Combined Analysis of the PORTEC Cohorts. *Clin Cancer Res*. 2016 Aug 15;22(16):4215-24.
64. L León-Castillo A, de Boer SM, Powell ME, Mileschkin LR, Mackay HJ, Leary A, Nijman HW, Singh N, Pollock PM, Bessette P, Fyles A, Haie-Meder C, Smit VTHBM, Edmondson RJ, Putter H, Kitchener HC, Crosbie EJ, de Bruyn M, Nout RA, Horeweg N, Creutzberg CL, Bosse T; TransPORTEC consortium. 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):3388-3397.
65. Talhouk, A., McConechy, M., Leung, S. *et al*. A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers. *Br J Cancer* **113**, 299–310 (2015).
66. León-Castillo A, Gilvazquez E, Nout R, Smit VT, McAlpine JN, McConechy M, Kommos S, Brucker SY, Carlson JW, Epstein E, Rau TT, Soslow RA, Ganesan R, Matias-Guiu X, Oliva E, Harrison BT, Church DN, Gilks CB, Bosse T. Clinicopathological and molecular characterisation of 'multiple-classifier' endometrial carcinomas. *J Pathol*. 2020 Mar;250(3):312-322.
67. Humber CE, Tierney JF, Symonds RP, Collingwood M, Kirwan J, Williams C, Green JA. Chemotherapy for advanced, recurrent or metastatic endometrial cancer: a systematic review of Cochrane collaboration. *Ann Oncol*. 2007 Mar;18(3):409-20.
68. Powell MA, Filiaci VL, Hensley ML, Huang HQ, Moore KN, Tewari KS, Copeland LJ, Secord AA, Mutch DG, Santin A, Warshal DP, Spirtos NM, DiSilvestro PA, Ioffe OB, Miller DS. Randomized Phase III Trial of Paclitaxel and Carboplatin Versus Paclitaxel and Ifosfamide in Patients With Carcinosarcoma of the Uterus or Ovary: An NRG Oncology Trial. *J Clin Oncol*. 2022 Mar 20;40(9):968-977.
69. Musa FB, Moore KN, Podder V, Slomovitz BM. State of the art endocrine treatments for patients diagnosed with endometrial cancer in 2025. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2025 Apr 1;37(2):111-119.
70. GF. F. Second-Line Therapy for Endometrial Cancer: The Need for Better Options.. *J Clin Oncol*. 2015 Nov 1;33(31):3535-40.
71. Muggia FM, Blessing JA, Sorosky J, Reid GC. Phase II trial of the pegylated liposomal doxorubicin in previously treated metastatic endometrial cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol*. 2002 May 1;20(9):2360-4.
72. Lincoln S, Blessing JA, Lee RB, Rocereto TF. Activity of paclitaxel as second-line chemotherapy in endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 2003 Mar;88(3):277-81.

73. Tait DL, Blessing JA, Hoffman JS, Moore KN, Spirtos NM, Lachance JA, Rotmensch J, Miller DS. A phase II study of gemcitabine (gemzar, LY188011) in the treatment of recurrent or persistent endometrial carcinoma: a gynecologic oncology group study. *Gynecol Oncol.* 2011 Apr;121(1):118-21.
74. Miller DS, Blessing JA, Lentz SS, Waggoner SE. A phase II trial of topotecan in patients with advanced, persistent, or recurrent endometrial carcinoma: a gynecologic oncology group study. *Gynecol Oncol.* 2002 Dec;87(3):247-51.
75. Miller DS, Blessing JA, Drake RD, Higgins R, McMeekin DS, Punecky LV, Krasner CN. A phase II evaluation of pemetrexed (Alimta, LY231514, IND #40061) in the treatment of recurrent or persistent endometrial carcinoma: a phase II study of the Gynecologic Oncology. *Gynecol Oncol.* 2009 Dec;115(3):443-6.
76. Fracasso PM, Blessing JA, Molpus KL, Adler LM, Sorosky JI, Rose PG. Phase II study of oxaliplatin as second-line chemotherapy in endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol.* 2006 Nov;103(2):523-6.
77. Dizon DS, Blessing JA, McMeekin DS, Sharma SK, Disilvestro P, Alvarez RD. Phase II trial of ixabepilone as second-line treatment in advanced endometrial cancer: gynecologic oncology group trial 129-P. *J Clin Oncol.* 2009 Jul 1;27(19):3104-8.
78. Aghajanian C, Sill MW, Darcy KM, Greer B, McMeekin DS, Rose PG, Rotmensch J, Barnes MN, Hanjani P, Leslie KK. Phase II trial of bevacizumab in recurrent or persistent endometrial cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol.* 2011 Jun 1;29(16):2259-65.
79. Coleman RL, Sill MW, Lankes HA, Fader AN, Finkler NJ, Hoffman JS, Rose PG, Sutton GP, Drescher CW, McMeekin DS, Hu W, Deavers M, Godwin AK, Alpaugh RK, Sood AK. A phase II evaluation of aflibercept in the treatment of recurrent or persistent endometrial cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol.* 2012 Dec;127(3):538-43.
80. Castonguay V, Lheureux S, Welch S, Mackay HJ, Hirte H, Fleming G, Morgan R, Wang L, Blattler C, Ivy PS, Oza AM. A phase II trial of sunitinib in women with metastatic or recurrent endometrial carcinoma: a study of the Princess Margaret, Chicago and California Consortia. *Gynecol Oncol.* 2014 Aug;134(2):274-80.
81. Nimeiri HS, Oza AM, Morgan RJ, Huo D, Elit L, Knost JA, Wade JL 3rd, Agamah E, Vokes EE, Fleming GF. A phase II study of sorafenib in advanced uterine carcinoma/carcinosarcoma: a trial of the Chicago, PMH, and California Phase II Consortia. *Gynecol Oncol.* 2010 Apr;117(1):37-40.
82. Marabelle A, Le DT, Ascierto PA, Di Giacomo AM, De Jesus-Acosta A, Delord JP, Geva R, Gottfried M, Penel N, Hansen AR, Piha-Paul SA, Doi T, Gao B, Chung HC, Lopez-Martin J, Bang YJ, Frommer RS, Shah M, Ghorri R, Joe AK, Pruitt SK, Diaz LA Jr. Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study. *J Clin Oncol.* 2020 Jan 1;38(1):1-10.
83. Oaknin A, Tinker AV, Gilbert L, Samouëlian V, Mathews C, Brown J, Barretina-Ginesta MP, Moreno V, Gravina A, Abdeddaim C, Banerjee S, Guo W, Danaee H, Im E, Sabatier R. Clinical activity and safety of the anti-PD-1 monoclonal antibody dostarlimab for patients with recurrent or advanced dMMR endometrial cancer. *Future Oncol.* 2021 Oct 1;17(29):3781-3785.
84. Konstantinopoulos PA, Luo W, Liu JF, Gulhan DC, Krasner C, Ishizuka JJ, Gockley AA, Buss M, Growdon WB, Crowe H, Campos S, Lindeman NI, Hill S,

- Stover E, Schumer S, Wright AA, Curtis J, Quinn R, Whalen C, Gray KP, Penson RT, Cannistra SA, Fleming GF, Matulonis UA. Phase II Study of Avelumab in Patients With Mismatch Repair Deficient and Mismatch Repair Proficient Recurrent/Persistent Endometrial Cancer. *J Clin Oncol*. 2019 Oct 20;37(30):2786-2794.
85. Antill Y, Kok PS, Robledo K, Yip S, Cummins M, Smith D, Spurdle A, Barnes E, Lee YC, Friedlander M, Baron-Hay S, Shannon C, Coward J, Beale P, Goss G, Meniawy T, Lombard J, Andrews J, Stockler MR, Mileskin L; Australia New Zealand Gynaecological Oncology Group (ANZGOG). Clinical activity of durvalumab for patients with advanced mismatch repair-deficient and repair-proficient endometrial cancer. A nonrandomized phase 2 clinical trial. *J Immunother Cancer*. 2021 Jun;9(6):e002255.
 86. Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, Esteban E, Felip E, De Angelis F, Domine M, Clingan P, Hochmair MJ, Powell SF, Cheng SY, Bischoff HG, Peled N, Grossi F, Jennens RR, Reck M, Hui R, Garon EB, Boyer M, Rubio-Viqueira B, Novello S, Kurata T, Gray JE, Vida J, Wei Z, Yang J, Raftopoulos H, Pietanza MC, Garassino MC; KEYNOTE-189 Investigators. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018 May 31;378(22):2078-2092.
 87. Mirza MR, Chase DM, Slomovitz BM, dePont Christensen R, Novák Z, Black D, Gilbert L, Sharma S, Valabrega G, Landrum LM, Hanker LC, Stuckey A, Boere I, Gold MA, Auranen A, Pothuri B, Cibula D, McCourt C, Raspagliesi F, Shahin MS, Gill SE, Monk BJ, Buscema J, Herzog TJ, Copeland LJ, Tian M, He Z, Stevens S, Zografos E, Coleman RL, Powell MA; RUBY Investigators. Dostarlimab for Primary Advanced or Recurrent Endometrial Cancer. *N Engl J Med*. 2023 Jun 8;388(23):2145-2158.
 88. Eskander RN, Sill MW, Beffa L, Moore RG, Hope JM, Musa FB, Mannel R, Shahin MS, Cantuaria GH, Girda E, Mathews C, Kavecansky J, Leath CA 3rd, Gien LT, Hincheliff EM, Lele SB, Landrum LM, Backes F, O'Cearbhaill RE, Al Baghdadi T, Hill EK, Thaker PH, John VS, Welch S, Fader AN, Powell MA, Aghajanian C. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Advanced Endometrial Cancer. *N Engl J Med*. 2023 Jun 8;388(23):2159-2170.
 89. Peters EEM, León-Castillo A, Smit VTHBM, Boennelycke M, Hogdall E, Hogdall C, Creutzberg C, Jürgenliemk-Schulz IM, Jobsen JJ, Mens JWM, Lutgens LCHW, van der Steen-Banasik EM, Ortoft G, Bosse T, Nout R. Defining Substantial Lymphovascular Space Invasion in Endometrial Cancer. *Int J Gynecol Pathol*. 2022 May 1;41(3):220-226
 90. Westin SN, Moore K, Chon HS, Lee JY, Thomes Pepin J, Sundborg M, Shai A, de la Garza J, Nishio S, Gold MA, Wang K, McIntyre K, Tillmanns TD, Blank SV, Liu JH, McCollum M, Contreras Mejia F, Nishikawa T, Pennington K, Novak Z, De Melo AC, Sehouli J, Klasa-Mazurkiewicz D, Papadimitriou C, Gil-Martin M, Brasiuniene B, Donnelly C, Del Rosario PM, Liu X, Van Nieuwenhuysen E; DUO-E Investigators. Durvalumab Plus Carboplatin/Paclitaxel Followed by Maintenance Durvalumab With or Without Olaparib as First-Line Treatment for Advanced Endometrial Cancer: The Phase III DUO-E Trial. *J Clin Oncol*. 2024 Jan 20;42(3):283-299.
 91. Makker V, Colombo N, Casado Herráez A, Santin AD, Colomba E, Miller DS, Fujiwara K, Pignata S, Baron-Hay S, Ray-Coquard I, Shapira-Frommer R, Ushijima

- K, Sakata J, Yonemori K, Kim YM, Guerra EM, Sanli UA, McCormack MM, Smith AD, Keefe S, Bird S, Dutta L, Orlowski RJ, Lorusso D; Study 309–KEYNOTE-775 Investigators. Lenvatinib plus Pembrolizumab for Advanced Endometrial Cancer. *N Engl J Med*. 2022 Feb 3;386(5):437-448.
92. Eskander R. Overall survival, progression-free survival by PD-L1 status, and blinded independent central review results with pembrolizumab plus carboplatin/paclitaxel (CP) versus placebo plus CP in patients with endometrial cancer: results from the NRG GY018 trial. Presented at: Society of Gynecologic Oncology 2024 Annual Meeting for Women's Cancer; March 15-18, 2024; San Diego, CA.
 93. Oaknin A, Pothuri B, Gilbert L, Sabatier R, Brown J, Ghamande S, Mathews C, O'Malley DM, Kristeleit R, Boni V, Gravina A, Banerjee S, Miller R, Pikiel J, Mirza MR, Dewal N, Antony G, Dong Y, Zografos E, Veneris J, Tinker AV. Safety, Efficacy, and Biomarker Analyses of Dostarlimab in Patients with Endometrial Cancer: Interim Results of the Phase I GARNET Study. *Clin Cancer Res*. 2023 Nov 14;29(22):4564-4574.
 94. Seymour L, Bogaerts J, Perrone A, Ford R, Schwartz LH, Mandrekar S, Lin NU, Litière S, Dancey J, Chen A, Hodi FS, Therasse P, Hoekstra OS, Shankar LK, Wolchok JD, Ballinger M, Caramella C, de Vries EGE; RECIST working group. iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics. *Lancet Oncol*. 2017 Mar;18(3):e143-e152.
 95. L Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg MJL, Singh N, Nottegar A, Bosse T, Miller R, Riaz N, Douillard JY, Andre F, Scarpa A. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. *Ann Oncol*. 2019 Aug 1;30(8):1232-1243.
 96. K Kulangara K, Zhang N, Corigliano E, Guerrero L, Waldroup S, Jaiswal D, Ms MJ, Shah S, Hanks D, Wang J, Lunceford J, Savage MJ, Juco J, Emancipator K. Clinical Utility of the Combined Positive Score for Programmed Death Ligand-1 Expression and the Approval of Pembrolizumab for Treatment of Gastric Cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2019 Mar;143(3):330-337. .
 97. Quail MA, Kozarewa I, Smith F, Scally A, Stephens PJ, Durbin R, Swerdlow H, Turner DJ. A large genome center's improvements to the Illumina sequencing system. *Nat Methods*. 2008 Dec;5(12):1005-10.
 98. Gatalica Z, Xiu J, Swensen J, Vranic S. Comprehensive analysis of cancers of unknown primary for the biomarkers of response to immune checkpoint blockade therapy. *Eur J Cancer*. 2018 May;94:179-186. .
 99. Alexandrov LB, Kim J, Haradhvala NJ, Huang MN, Tian Ng AW, Wu Y, Boot A, Covington KR, Gordenin DA, Bergstrom EN, Islam SMA, Lopez-Bigas N, Klimczak LJ, McPherson JR, Morganella S, Sabarinathan R, Wheeler DA, Mustonen V; PCAWG Mutational Signatures Working Group; Getz G, Rozen SG, Stratton MR; PCAWG Consortium. The repertoire of mutational signatures in human cancer. *Nature*. 2020 Feb;578(7793):94-101.
 100. Tate JG, Bamford S, Jubb HC, Sondka Z, Beare DM, Bindal N, Boutselakis H, Cole CG, Creatore C, Dawson E, Fish P, Harsha B, Hathaway C, Jupe SC, Kok CY, Noble K, Ponting L, Ramshaw CC, Rye CE, Speedy HE, Stefancsik R, Thompson SL, Wang S, Ward S, Campbell PJ, Forbes SA. COSMIC: the Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer. *Nucleic Acids Res*. 2019 Jan 8;47(D1):D941-D947.

101. Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, Dresdner G, Gross B, Sumer SO, Sun Y, Jacobsen A, Sinha R, Larsson E, Cerami E, Sander C, Schultz N. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal*. 2013 Apr 2;6(269):p11.
102. Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown GR, Chao C, Chitipiralla S, Gu B, Hart J, Hoffman D, Jang W, Karapetyan K, Katz K, Liu C, Maddipatla Z, Malheiro A, McDaniel K, Ovetsky M, Riley G, Zhou G, Holmes JB, Kattman BL, Maglott DR. ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Res*. 2018 Jan 4;46(D1):D1062-D1067.
103. Chakravarty D, Gao J, Phillips SM, Kundra R, Zhang H, Wang J, Rudolph JE, Yaeger R, Soumerai T, Nissan MH, Chang MT, Chandarlapaty S, Traina TA, Paik PK, Ho AL, Hantash FM, Grupe A, Baxi SS, Callahan MK, Snyder A, Chi P, Danila D, Gounder M, Harding JJ, Hellmann MD, Iyer G, Janjigian Y, Kaley T, Levine DA, Lowery M, Omuro A, Postow MA, Rathkopf D, Shoushtari AN, Shukla N, Voss M, Paraiso E, Zehir A, Berger MF, Taylor BS, Saltz LB, Riely GJ, Ladanyi M, Hyman DM, Baselga J, Sabbatini P, Solit DB, Schultz N. OncoKB: A Precision Oncology Knowledge Base. *JCO Precis Oncol*. 2017 Jul;2017.
104. Kopanos C, Tsiolkas V, Kouris A, Chapple CE, Albarca Aguilera M, Meyer R, Massouras A. VarSome: the human genomic variant search engine. *Bioinformatics*. 2019 Jun 1;35(11):1978-1980.
105. Byraska-Bishop M, Evani US, Zhao X, Basile AO, Abel HJ, Regier AA, Corvelo A, Clarke WE, Musunuri R, Nagulapalli K, Fairley S, Runnels A, Winterkorn L, Lowy E; Human Genome Structural Variation Consortium; Paul Flicek, Germer S, Brand H, Hall IM, Talkowski ME, Narzisi G, Zody MC. High-coverage whole-genome sequencing of the expanded 1000 Genomes Project cohort including 602 trios. *Cell*. 2022 Sep 1;185(18):3426-3440.e19.
106. Gudmundsson S, Singer-Berk M, Watts NA, Phu W, Goodrich JK, Solomonson M; Genome Aggregation Database Consortium; Rehm HL, MacArthur DG, O'Donnell-Luria A. Variant interpretation using population databases: Lessons from gnomAD. *Hum Mutat*. 2022 Aug;43(8):1012-1030.
107. Bronner CE, Baker SM, Morrison PT, Warren G, Smith LG, Lescoe MK, Kane M, Earabino C, Lipford J, Lindblom A, et al. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. *Nature*. 1994 Mar 17;368(6468):258-61.
108. Lancaster JM, Powell CB, Chen LM, Richardson DL; SGO Clinical Practice Committee. Society of Gynecologic Oncology statement on risk assessment for inherited gynecologic cancer predispositions. *Gynecol Oncol*. 2015 Jan;136(1):3-7.

