



AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS DOS GENES DE REPARO DO DNA NO CÂNCER DE ENDOMÉTRIO

THIAGO PEREIRA DINIZ

**Exemplar final do projeto de
pesquisa apresentado à Fundação
Antônio Prudente para obtenção de
título de Doutor**

Área de concentração: Oncologia

Nível: Doutorado

Orientador: Dr. Glauco Baiocchi Neto

Co-Orientadora: Dra. Louise De Brot Andrade

São Paulo, 2024

DINIZ, THIAGO .

**AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS DOS GENES DE
REPARO DO DNA NO CÂNCER DE ENDOMÉTRIO. / THIAGO DINIZ. São
Paulo, 2024.**

35f.

**Tese de Doutorado - Fundação Antônio Prudente. Curso de Pós-
Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia.**

Orientador: Glauco Baiocchi Neto .

**1. Câncer de endométrio, 2. Linfonodo sentinela , 3. Genes de reparo
do DNA**

CDU 616

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Thiago Pereira Diniz

Título: Avaliação da expressão das proteínas de reparo do DNA no câncer de endométrio .

Aprovado em: 30/08/2024

Banca examinadora

Orientador: Dr. Glauco Baiocchi Neto

Instituição: Fundação Antônio Prudente

Membro da Banca: Dr. Levon Badiglian Filho

Instituição: Fundação Antônio Prudente

Membro da Banca: Dr. Carlos Chaves Faloppa

Instituição: Fundação Antônio Prudente

Membro da Banca: Dr. Paulo Roberto Stevanato Filho

Instituição: Fundação Antônio Prudente

Membro da Banca: Dra. Suilane Coelho Ribeiro Oliveira

Instituição: Universidade Estadual do Piauí

DEDICATÓRIA

Inicialmente dedico esse trabalho à minha família, em especial minha esposa Penélope Maria, que me deu um apoio incondicional, sobretudo nos três anos de residência médica em São Paulo, onde iniciei esse projeto. Dedico também à minha filha linda, Helena Maria, que é minha força maior para lutar diariamente. Dedico aos meus pais e irmãos, que foram a base de tudo. Aos meus avós Vicente e Maria José, que são nossos exemplos de simplicidade e honestidade. A todos meus tios e primos, que de certa forma, acompanham essa luta há muitos anos. Aos meus mestres, Raimundo Viana e Hormone Oliveira, meu muito obrigado por tudo, sou muito grato a vocês por tudo. Gratidão a todos os professores, da escola à residência médica. Gratidão aos amigos e colegas de trabalho com quem convivo desde que cheguei em Teresina, muito obrigado pela força.

AGRADECIMENTOS

Sou muito grato inicialmente à Deus, por ter sempre me dado muita força e saúde para trabalhar. Ademais, parte desse trabalho foi realizado em plena pandemia, portanto gratidão pela saúde e pela vida.

Aqui citarei todas as pessoas que diretamente participaram na construção desse trabalho.

Inicialmente, agradeço ao meu orientador Dr. Glauco Baiocchi, que sempre me incentivou na produção científica, com elaboração e publicação de artigos. Ensinou-me a realizar análises estatísticas, bem como interpretá-las de forma bem objetiva. Atuou de forma importante na elaboração desse projeto, desde da sugestão de título à análise de dados.

Agradeço também a todos os preceptores do departamento de oncoginecologia do AC Camargo.

Gratidão também a Jacqueline Menezes, residente que contribuiu bastante, ajudando-me na atualização do banco de dados.

Bruna Tirapelli Gonçalves, enfermeira de pesquisa que admiro muito e sempre disposta a colaborar. Mostrou-me todos os caminhos para submissão da plataforma Brasil, elaboração de banco de dados e análise dos dados.

Dra. Louise De Brot Andrade, minha co-orientadora, sempre muito solícita e disposta a colaborar, especialmente na análise de lâminas e descrição da metodologia da anatomia patológica.

Dra. Grazielle Bovolim, juntamente com Dra Louise, colaborou de forma significativa na análise de todos os casos com câncer de endométrio, pesquisando a expressão das proteínas de reparo do DNA.

Dra Suilane Coelho e Dra Solange Sanches, oncologistas clínicas que contribuíram com sugestões durante a qualificação.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A classificação molecular do câncer de endométrio (CE) inclui quatro subgrupos, incluindo um grupo de prognóstico intermediário com instabilidade de microsatélite (*MSI-h*) ou perda da expressão da proteína de reparo do DNA (MMRd), *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* ou *PMS2*⁸. O papel prognóstico do MMRd em CE ainda permanece incerto, contudo, há evidências de que esta descoberta está mais associada ao subtipo endometrióide, invasão miometrial > 50%, tumores de alto grau e presença de invasão angiolinfática (IVL)²⁸⁻³⁰. Na era do linfonodo sentinela (LNS), ainda não temos conhecimento sobre o impacto da MMRd no risco de metástase linfonodal. **OBJETIVO:** Avaliar a relação entre MMRd e o risco de metástase linfonodal e propor o status do gene de reparo do DNA no algoritmo do LNS. **MATERIAL E MÉTODO:** Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo através da análise de um banco de dados de pacientes com CE estadio I-IIIC submetidos à histerectomia com biópsia do linfonodo sentinela (BLNS) associado ou não à linfadenectomia, entre Janeiro de 2012 a dezembro de 2020 em um centro de referência em oncologia na América Latina. Os fatores de risco para metástase linfonodal, incluindo MMRd, foram avaliados através de regressão logística univariada e multivariada. **RESULTADOS:** Ao todo, 332 pacientes com câncer de endométrio foram submetidos à BLNS +/- linfadenectomia. A MMRd ocorreu em 20,8%, grau histológico 3 em 12,3%, IVL em 21,1% e invasão miometrial $\geq$ 50% em 19,3%. Metástases em LNS ou não sentinela ocorreram em 39 pacientes (11,7%), sendo a micrometástase o achado mais comum. Na análise univariada, grau histológico 3 (OR 4,04, 95%CI 1,85 - 8,83), IVL (OR 15,2, 95% CI 7,04 - 32,8), invasão miometrial $\geq$ 50% (OR 5,95, 95% CI 2,94 - 12,5) e MMRd (OR 2,76, 95%CI 1,36 - 5,62) foram preditores de metástase linfonodal. Em análise multivariada, apenas a IVL (OR 10,02, 95% CI 4,28 - 23,46), invasão miometrial profunda (OR 2,41, 95% CI 1,04 - 5,57) e MMRd (OR 2,76, 95% CI 1,36 - 5,62) foram estatisticamente significativos. Não houve diferença significativa entre os grupos deficiente e proficientes dos genes de reparo do DNA em relação à sobrevida global (95,2% x 97,7%) e sobrevida livre de doença (96,9% x 93,4%). Em relação ao algoritmo do LNS e status dos genes de reparo do DNA, 80 pacientes (24%) tiveram detecção unilateral, sendo 53 de baixo risco (critérios patológicos), porém 10 casos são MMRd, ou seja, 43 pacientes (53%) dos que migraram unilateral são MMRp e baixo risco patológico. **CONCLUSÃO:** A presença de MMRd foi fator de risco independente par metástase linfonodal, podendo ser utilizada no algoritmo do LNS, reduzindo as linfadenectomias sistemáticas nas hemipelves não mapeadas.

Entre os tumores MMRd, houve uma maior proporção de tumores grau 3, invasão angiolinfática e metástase linfonodal.

Palavras chave: câncer de endométrio; linfonodo sentinela; genes de reparo do DNA.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The molecular classification of endometrial cancer (EC) includes four subgroups, including an intermediate prognosis group with microsatellite instability (MSI-h) or loss of DNA repair protein (MMRd) expression, MLH1, MSH2, MSH6 or PMS2⁸. The prognostic role of MMRd in EC still remains uncertain, however, there is evidence that this finding is more associated with the endometrioid subtype, myometrial invasion > 50%, high-grade tumors and the presence of angiolymphatic invasion (LVI)²⁸⁻³⁰. In the sentinel lymph node (SLN) era, we still don't know the impact of MMRd on the risk of lymph node metastasis.

OBJECTIVE: To evaluate the relationship between MMRd and the risk of lymph node metastasis and to propose the status of the DNA repair gene in the LNS algorithm.

MATERIAL AND METHODS: This is a retrospective cohort study through the analysis of a database of patients with stage I-IIIC EC who underwent hysterectomy with sentinel lymph node biopsy (SLNB) associated or not with lymphadenectomy, between January 2012 and December 2020 in a reference center for oncology in Latin America. Risk factors for lymph node metastasis, including MMRd, were assessed using univariate and multivariate logistic regression. **RESULTS:** A total of 332 patients with endometrial cancer underwent BLNS +/- lymphadenectomy. MMRd occurred in 20.8%, histological grade 3 in 12.3%, LVI in 21.1% and myometrial invasion $\geq$ 50% in 19.3%. NSL or non-sentinel metastases occurred in 39 patients (11.7%), with micrometastases being the most common finding. In the univariate analysis, histological grade 3 (OR 4.04, 95%CI 1.85 - 8.83), LVI (OR 15.2, 95%CI 7.04 - 32.8), myometrial invasion $\geq$ 50% (OR 5.95, 95%CI 2.94 - 12.5) and MMRd (OR 2.76, 95%CI 1.36 - 5.62) were predictors of lymph node metastasis. In multivariate analysis, only LVI (OR 10.02, 95% CI 4.28 - 23.46), deep myometrial invasion (OR 2.41, 95% CI 1.04 - 5.57) and MMRd (OR 2.76, 95% CI 1.36 - 5.62) were statistically significant. There was no significant difference between the DNA repair gene deficient and proficient groups in terms of overall survival (95.2% vs. 97.7%) and disease-free survival (96.9% vs. 93.4%). In relation to the LNS algorithm and DNA repair gene status, 80 patients (24%) had unilateral detection, 53 of whom were at low risk (pathological criteria), but 10 cases were MMRd, i.e. 43 patients (53%) of those who migrated unilaterally were MMRp and at low pathological risk. **CONCLUSION:** The presence of MMRd was an independent risk factor for lymph node metastasis and could be used in the LNS algorithm, reducing systematic lymphadenectomies in unmapped hemipelves.

Among MMRd tumors, there was a higher proportion of grade 3 tumors, angiolymphatic invasion and lymph node metastasis.

Key words: endometrial cancer; sentinel lymph node; DNA repair genes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Algoritmo da biópsia do linfonodo sentinela.....	11
Figura 02 – Injeção do corante indocianina verde no colo uterino.....	07
Figura 03 - Dissecção pélvica e identificação do linfonodo sentinela.....	07
Figura 04 – Perda de expressão das proteínas de reparo (PMS2).....	09
Figura 05 – Perda de expressão das proteínas de reparo (MLH1).....	09
Figura 06 – Perda de expressão das proteínas de reparo (MSH2).....	10
Figura 07 – Perda de expressão das proteínas de reparo (MSH6)	10
Figura 08 – Distribuição geral de todos os pacientes, baseado no risco, status MMR e detecção do linfonodo sentinela	11
Figura 09 – Curva de sobrevida global de toda a amostra.....	16
Figura 10 – Curva de sobrevida global entre os grupos MMRd e MMRp.....	17
Figura 11 – Sobrevida livre de doença entre os grupos MMRd e MMRp.....	17
Figura 12 –Algoritmo do LNS proposto com a inclusão do status MMR.....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características clínicas e patológicas dos 332 pacientes com CE submetidos à BLNS e pesquisa dos genes de reparo	12
Tabela 2 – Distribuição das variáveis clínico e patológicas entre os pacientes MMRd e MMRp	14
Tabela 3 – Resultados das análises univariadas e multivariadas dos fatores preditivos de metástase linfonodal.....	15

LISTA DE ABREVIATURAS

BLNS	Biópsia do linfonodo sentinela
CE	Câncer de endométrio
G1	Grau histológico 1
G2	Grau histológico 2
G3	Grau histológico 3
IHQ	Imunohistoquímica
IVL	Invasão angiolifática
IVM	Invasão miometrial
LNS	Linfonodo sentinela
MMR	Genes de reparo do DNA
MMRd	Deficiência nos genes de reparo do DNA
MMRp	Proficiência nos genes de reparo do DNA
MSI	Instabilidade de microssatélites
QT	Quimioterapia
RDT	Radioterapia
SLD	Sobrevida livre de doença
SG	Sobrevida global

LISTA DE SIGLAS

ACCC	AC Camargo Cancer Center
ESMO	<i>European Society for Medical Oncology</i>
H&E	Hematoxilina e eosina
POLE	<i>Domínio da exonuclease polimerase ϵ</i>
MLH1	Homólogo mutL 1 (<i>mutL homolog 1</i>)
MSH2	Homólogo mutS 2 (<i>mutS homolog 2</i>)
MSH6	Homólogo mutS 6 (<i>mutS homolog 6</i>)
MSKCC	<i>Memorial Sloan-Kettering Cancer Center</i>
MSI	Instabilidade de microssatélites
NCCN	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>
p53	Proteína 53
PMS2	Segregação pós-meiótica 2 (<i>postmeiotic segregation increased 2</i>)
PROMISE	Classificador Proativo de Risco Molecular para Câncer de Endométrio
SPSS	Pacote estatístico para as ciências sociais (<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>)
TCGA	<i>The Cancer Genoma Atlas</i>

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Câncer de endométrio	1
1.2 Classificação histológica e molecular	1
1.3 Papel prognóstico da MMRd.....	2
1.4 Pesquisa do linfonodo sentinela.....	3
2.JUSTIFICATIVA.....	5
3.OBJETIVOS.....	6
3.1 Objetivos gerais	6
3.2 Objetivos específicos.....	6
4. MATERAIS E MÉTODOS	7
4.1 Tipo de estudo.....	7
4.2 Pacientes	7
4.3 Critérios de inclusão.....	7
4.4 Critérios de exclusão.....	7
4.5 Tratamentos.....	7
4.5.1 Pesquisa do linfonodo sentinela.....	7
4.5.2 Linfadenectomia.....	8
4.5.3 Avaliação patológica dos linfonodos.....	9
4.5.4 Pesquisa de MMRd.....	9
4.6 Análise estatística.....	12
5. RESULTADOS.....	13
6. DISCUSSÃO	22
7. CONCLUSÃO.....	27
8. REFERÊNCIAS	28
9. ANEXOS.....	32
10. EVENTOS.....	35

1. INTRODUÇÃO

1.1 Câncer de endométrio

O Câncer de endométrio (CE) é a neoplasia ginecológica mais incidente em países desenvolvidos e a 14º principal causa de mortalidade por câncer em mulheres de todo o mundo. Nos Estados Unidos a incidência anual chega a 60.000 casos com estimativa de dobrar este valor até 2030, tornando a terceira neoplasia mais incidente naquele país¹. No Brasil, é a oitava neoplasia em incidência, com estimativa de 6.600 casos novos por ano no triênio 2020-2022².

Na última década, o diagnóstico e manejo do CE tornaram-se bastante complexo, especialmente por mudanças na classificação histológica, metodologias de estratificação de risco (clínico ou patológico), impacto da linfadenectomia em desfechos oncológicos e sobre a personalização de terapias adjuvantes³. Além disso, os tumores de endométrio são bastante heterogêneos, o que dificulta a interpretação e padronização histopatológica mesmo com adição de imunohistoquímica (IHQ), com altas taxas de discordâncias (20-30%) entre patologistas para avaliação de fatores prognósticos como grau histológico, invasão angiolinfática (IVL) e tipo histológico^{4,5}.

1.2 Classificação histológica e molecular

Historicamente, Bokhman classificou o CE em tipo I e II. O tipo I são tumores de bom prognóstico, baixo grau, ricos em receptores hormonais, subtipos histológicos endometrióides e relacionados a síndrome metabólica (obesidade, diabetes e dislipidemia), com sobrevida global em 5 anos próxima de 90%. Já os tumores tipo II são mais indiferenciados, relacionado à atrofia endometrial, baixa ou ausência de receptores hormonais e subtipos não endometrióides (seroso e células claras), atingindo sobrevidas de 55-60% em 5 anos⁶. Apesar dessa dicotomização, observou-se que mesmo os tumores do tipo I apresentavam recidivas em até 20% dos casos, enquanto até 40% dos não endometrióides estavam livres de doença em 5 anos⁷.

Em 2013, Kandoth et al. (*The Cancer Genome Atlas - TCGA*) avaliaram 373 pacientes através de sequenciamento de DNA tumoral e identificaram quatro subgrupos com desfechos clínicos diferentes, dando origem a nova classificação molecular do CE. O primeiro grupo consiste em pacientes com tumores mutados no domínio da *exonuclease polimerase ε (POLE)*, um fenótipo "ultramutado" e de bom prognóstico independente do grau e histologia. No segundo e terceiros grupos, de prognósticos intermediários, estão os pacientes com instabilidade de microssatélites do DNA (*MSI*) e pacientes com alta frequência de mutação no gene *CTNNB1*, denominados grupo com "baixo número de cópias". O quarto e último

subgrupo, de pior prognóstico, consiste em tumores não endometrióides, com altas taxas de mutação no gene TP53 e são intitulados como “alto número de cópias”⁸.

Essa classificação molecular do TCGA é pouco reprodutível na prática clínica, pois utilizou-se de métodos pouco custo efetivos e complexos, através do sequenciamento genético de tecido tumoral recém congelados. Em 2017, Talhouk et al. publicaram uma coorte que avaliou tecidos tumorais em blocos de parafina através de IHQ, um método economicamente e clinicamente viável, já que é rotina e amplamente disponível nos laboratórios de patologia. Os autores propuseram um algoritmo que contempla análise mutacional do POLE (éxon 9-14), IHQ para p53 e proteínas dos genes de reparo (MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2) e, semelhante ao TCGA, subdividiram as pacientes em 4 grupos: POLE mutado (carcinoma “ultramutado”), instabilidade de microssatélites, p53 tipo selvagem (carcinoma com “baixo número de cópias”) e p53 mutados (carcinoma com “alto número de cópias” ou seroso-símile). Após análise de desfechos oncológicos, estes 4 grupos apresentaram resultados semelhantes aos do TCGA⁹.

Em 2014, houve uma recomendação da Sociedade de Ginecologia Oncológica e do Colégio Americano de Ginecologia e Obstetrícia para realizar pesquisa da proficiência das proteínas dos genes de reparo do DNA (MMR) em todo espécime cirúrgico de histerectomia por neoplasia de endométrio, classificando os pacientes em proficiente para MMR (MMRp) ou deficientes para MMR (MMRd)^{10,11}. Atualmente, o manual do NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*) e da ESMO (*European Society for Medical Oncology*) também fazem estas recomendações, pois a perda da expressão destas proteínas de reparo do DNA ocorre em até 40% nos tumores de endométrio, podendo ser utilizada tanto para triagem de síndrome de *Lynch* (5-10% dos casos com MMRd) quanto para guiar o arsenal terapêutico em pacientes com CE estágio IV^{12,13}.

1.3 Papel prognóstico dos genes de reparo do DNA

Em câncer colorretal há MMRd em aproximadamente 15% dos casos e já bem estabelecido que são tumores mais frequentes no cólon direito, com importante infiltrado linfocitário peritumoral e indiferenciados. No entanto, possuem melhor prognóstico que os pacientes com MMRp¹⁴. Além disso, são pacientes mais resistentes ao tratamento quimioterápico com fluoropirimidina e mais sensíveis a imunoterapia¹⁵.

Em CE, a literatura é bastante controversa, haja vista serem estudos retrospectivos, com heterogeneidade de grupos e diferentes métodos para pesquisa de instabilidade de microssatélite. Em 2005, foi publicada uma série do *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center*

(MSKCC) avaliando o papel dos MMR em 473 pacientes com CE. Em 20% dos casos havia MMRd e proporcionalmente eram tumores com estágio mais avançado, subtipos endometrióides e maior grau de invasão miometrial em relação aos tumores MMRp. Curiosamente, a presença de MMRd foi associada a melhor sobrevida livre de doença e sobrevida específica de doença¹⁶.

Terada et al., avaliaram o impacto do MMR em 46 mulheres com CE e presença de invasão angiolinfática e em 26 delas (39%) havia MMRd, com predomínio de MMRd em MLH1 e PMS2. A sobrevida global mediana foi 60 meses no grupo MMRp e não alcançada no grupo MMRd ($p=0.03$). Quando avaliado apenas pacientes com estágio IIIC (acometimento linfonodal), houve também melhor sobrevida global das pacientes com MMRd¹⁷.

Em 2009, Resnick et al., avaliaram 477 pacientes com CE e 32% haviam MMRd, com maior proporção de tumores endometrióides, estágio III e grau histológico 3. A presença ou ausência de instabilidade de microssatélites não se associou a piores desfechos oncológicos, embora um subgrupo de pacientes com tumores não endometrióides e MMRd tratados com quimioterapia e radioterapia tiveram melhores sobrevida global e livre de doença em relação aos que receberam o mesmo tratamento e eram MMRp¹⁸. Já Nagle et al. analisaram 728 pacientes com CE e após ajustar para idade, grau tumoral, estágio, invasão angiolinfática e tratamento adjuvante, as pacientes com MMRd tiveram pior sobrevida câncer específica ($HR=2.18$; $IC95\% 1.19 - 4.01$)¹⁹.

1.4 Pesquisa do linfonodo sentinela

Outro tópico emergente em CE é a biópsia de linfonodo sentinela (BLSN), recomendado pelo NCCN desde 2014 nos tumores de baixo risco como alternativa à linfadenectomia sistemática, procedimento mórbido e sem benefícios em desfechos oncológicos em dois estudos fase III^{20,21}. O NCCN e ESMO definem baixo risco em CE, como tumores de histologia endometrióide, estágio I, grau 1 e 2, tamanho do tumor de até 2 cm, ausência de invasão angiolinfática e invasão miometrial menor que 50%. Nos tumores de alto risco há controvérsias sobre o papel da linfadenectomia em desfechos oncológicos, motivo pelo qual o departamento de ginecologia oncológica do AC Camargo Cancer Center (ACCC) conduz um ensaio clínico randomizado (linfadenectomia versus BLNS) multicêntrico, aberto e de não inferioridade, o ALICE Trial (NCT: NCT03366051) que possui como desfecho primário a sobrevida livre de doença em 3 anos.

Historicamente, apenas os fatores clínicos e patológicos (maior grau histológico, invasão miometrial > 50% e invasão angiolinfática) foram avaliados como preditor de acometimento linfonodal, não havendo, portanto, dado sobre fatores moleculares no cenário atual de linfonodo sentinela. O próprio algoritmo do LNS (figura 1), proposto pelo MSKCC²² e validado na comunidade científica, recomenda uma linfadenectomia em todos os casos que não haja migração/detecção bilateral do LNSo que pode ocorrer em até 50% dos casos em centros de referência²³. Sabe-se ainda, que mais de 90% desses pacientes submetidos à linfadenectomia não possuem metástases em linfonodos, denotando que apenas fatores clínicos e patológicos tradicionais não são suficientes²⁴.

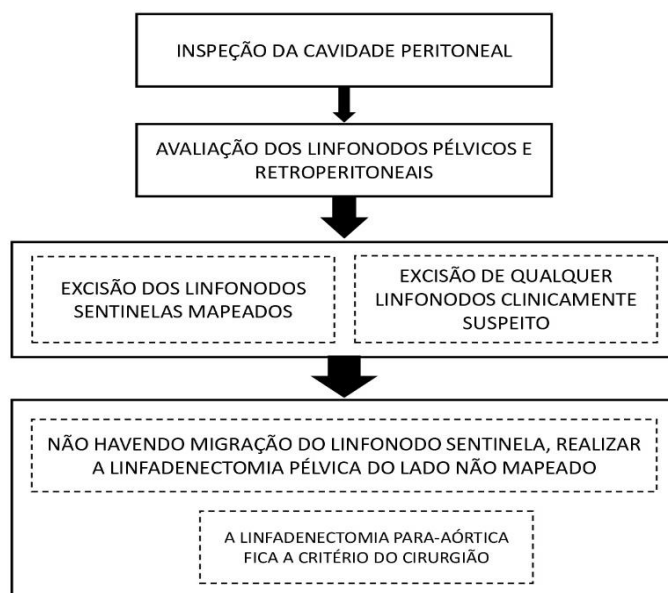


Figura 1: Algoritmo da pesquisa de linfonodo sentinela proposto pelo MSKCC e recomendado pelo NCCN.

2. JUSTIFICATIVA

Desde 2012 o departamento de ginecologia oncológica do ACCC realiza a pesquisa de linfonodo sentinela em CE, associada ou não a linfadenectomia pélvica e para-aórtica sistemática. Essa decisão é baseada apenas nos fatores de riscos clínico e patológicos clássicos, como grau e invasão miometrial, já descritos acima. Anos depois, após a publicação da nova classificação molecular do CE na revista *Nature*, o departamento de patologia da instituição iniciou e padronizou a pesquisa das proteínas de genes de reparo do DNA através de IHQ dos espécimes cirúrgicos de histerectomia, embora ainda pouco utilizado na tomada de decisões clínicas.

Na literatura, há muitas publicações sobre LNS em câncer de endométrio e papel prognóstico dos genes de reparo do DNA, no entanto, com dados escassos correlacionando os temas.

Conforme o algoritmo do LNS, todos esses casos deveriam ser submetidos à linfadenectomia, independente do risco, porém com alta probabilidade de está oferecendo um procedimento mórbido e desnecessário para as pacientes.

Após a introdução da rotina dos genes de reparo do DNA no câncer de endométrio, surgiu o questionamento sobre o papel prognósticos dos mesmos na metástase linfonodal. Além da reprodutibilidade, a pesquisa de MMR por IHQ pode ser obtida ainda no pré-operatório (por histeroscopia), com taxas de concordância próxima de 100% com peça cirúrgica final, inclusive superior a concordância de grau, IVL e invasão miometrial²⁵. Ou seja, é possível obter o risco de forma pré-operatória, evitando que este conhecimento seja obtido apenas com o espécime cirúrgico, o que é indesejável para algumas mulheres. Por esta razão, decidimos avaliar se a pesquisa das proteínas de gene de reparo do DNA poderia contribuir com a tomada de decisão em relação à linfadenectomia, no contexto do LNS.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo específicos

- Avaliar a inclusão da dos genes de reparo no algoritmo do linfonodo sentinela.
- Comparar a sobrevida livre de doença e sobrevida global entre os casos com MMRd e MMRp.

3.2 Objetivo gerais

- Analisar a taxa de detecção global e bilateral do linfonodo sentinela.
- Avaliar a sensibilidade, taxa de falso negativo e valor preditivo negativo do método.
- Correlacionar MMRd com o tamanho da metástase do linfonodo sentinela.
- Correlacionar variáveis clínicas e patológicas com MMRd e MMRp.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo de coorte onde foram avaliados os dados de prontuários eletrônicos dos pacientes e inseridos em banco de dado institucional, com análise estatística subsequente em software específico. Com isso mitigando os riscos de perda de confidencialidade.

4.2 Pacientes

O período de inclusão do estudo foi de novembro de 2012, período que iniciou-se o protocolo de pesquisa do linfonodo sentinela institucional no departamento de ginecologia oncológica do A.C.Camargo Cancer Center, São Paulo/SP até dezembro de 2020.

4.3 Critérios de inclusão

O estudo incluiu pacientes submetidas à estadiamento cirúrgico, ou seja, que realizaram histerectomia com BLNS associada ou não a linfadenectomia por CE e que tenham foram avaliados para proficiência ou deficiência das proteínas dos genes de reparo do DNA.

4.4 Critérios de exclusão

Foram excluídas as pacientes com estágio clínico ou patológico IV; histologia não endometrióide, pacientes com segundo tumores primários durante o seguimento, excetuando câncer de pele não-melanoma. Também foram excluídos os casos com dados incompletos ou discordantes no prontuário e pacientes com genes de reparo desconhecidos ou não realizados.

4.5 Tratamentos

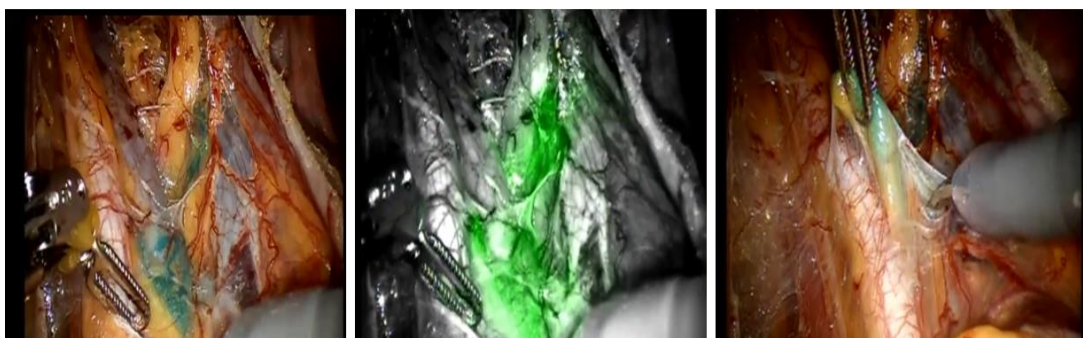
4.5.1 Pesquisa do linfonodo sentinela

Após a indução anestésica, as pacientes são submetidas a exame especular do colo uterino, onde então é injetado 1 mL superficial e 1 mL profundo às 3 e 9 h (total de 4 mL) de corante azul patente ou verde de indocianina (1,25 mg/mL), conforme demonstrado na figura 2.. Após acessar a cavidade peritoneal, o peritônio pélvico era então aberto e o primeiro linfonodo corado com verde de indocianina ou azul patente era ressecado (figura 3). A seguir, baseado no risco de acometimento linfonodal, era realizada a linfadenectomia pélvica +/- para-aórtica.



Fonte: Departamento de Ginecologia Oncológica, ACCC.

Figura 2: Injeção do marcador no colo uterino para a biópsia do linfonodo sentinela.



Fonte: Departamento de Ginecologia Oncológica, ACCC.

Figura 3: Dissecção pélvica e identificação do LNS pélvico corado com indocianina verde.

4.5.2 Linfadenectomia

A linfadenectomia pélvica foi definida como a ressecção de gânglios linfáticos na região dos vasos ilíacos externos, internos e da fossa obturadora. Os limites anatômicos são: inferiormente a veia circunflexa, superiormente a bifurcação dos vasos ilíacos comuns, lateralmente o nervo genitofemoral, medialmente a artéria umbilical e profundamente o nervo obturatório. Na linfadenectomia para-aórtica ou retroperitoneal, o acesso ocorreu através da abertura do peritônio ao longo da raiz do mesentério e a linfadenectomia foi realizada até a artéria mesentérica inferior ou até a veia renal.

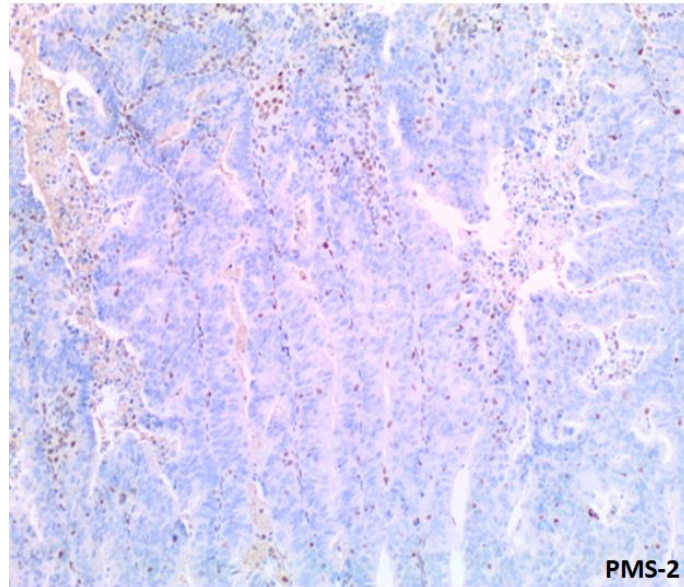
4.5.3 Avaliação patológica dos linfonodos

Os LNS foram examinados através de cortes de 2 milímetros em três níveis e corados com Hematoxilina e Eosina (H&E). Se o resultado fosse negativo para metástase, um método de coloração com pan-citoqueratina através de IHQ era realizado nos cortes. Este método de ultraestadiamento linfonodal, que é padrão na instituição, melhora a acurácia da detecção de metástase, como já descrito na literatura²⁶. Os LNS foram classificados conforme o tamanho da metástase em: macrometástases - tumor $\geq 2,0$ mm; micrometástases - agregados de células tumorais entre 0,2 e 2,0 mm; ITCs - células tumorais individuais ou agregados $\leq 0,2$ mm ou linfonodo negativo para metástase. Quando encontrados ≥ 2 LNS positivos, será considerada a maior metástase para classificá-lo. Todos os linfonodos com ITC, micro ou macrometástases foram considerados positivos.

4.5.4 Pesquisa de MMRd

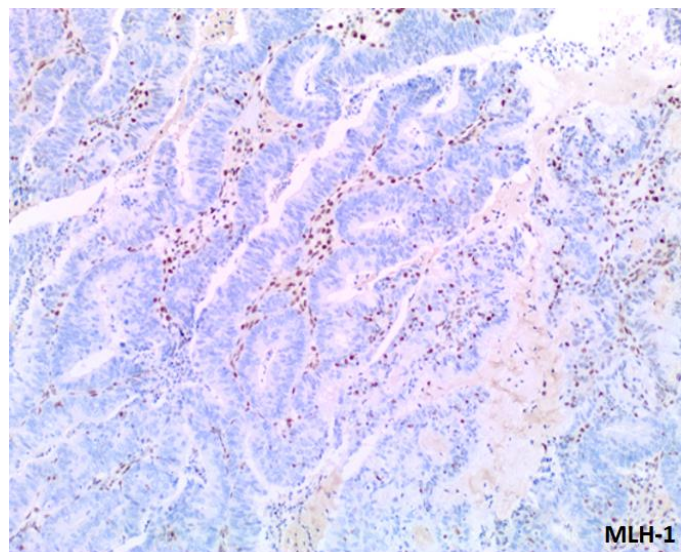
Todos os casos já foram previamente avaliados na rotina do Departamento de Anatomia Patológica. Foram executadas as reações de IHQ com os anticorpos pesquisados pelas técnicas habituais de complexo estreptavidina-biotina-peroxidase (StreptABC, DAKO®). As lâminas foram previamente revestidas por solução de silano (APTS-Sigma® A3648), diluído a 4% em acetona. Os cortes obtidos serão de 3µm de espessura após microtomia mecânica. Os cortes foram desparafinizados e preparados por passagens sucessivas por xilol e etanol, sendo submetidos à recuperação antigênica pelo calor com panela de pressão a 98°C por 15 minutos, utilizando-se tampão citrato (pH 6,0).

Uma vez preparados os cortes, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena com solução de peróxido de hidrogênio a 3% em metanol, seguida de incubação com o anticorpo primário específico. As reações sempre foram acompanhadas de controle positivo, em tecido sabidamente positivo para o anticorpo testado e dois controles negativos. O primeiro deles foi realizado pelo não uso do anticorpo primário e o segundo através da retirada do anticorpo secundário durante os passos da reação. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio ótico comum e foi considerado como perda de expressão das proteínas de reparo do DNA quando pelo menos uma dessas proteínas (MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2) não foi expressa. Sabe-se hoje que a avaliação da proficiência das proteínas de reparo do DNA é um bom método utilizado como desfecho substituto para prever a presença de instabilidade de microssatélite^{27,28}. Nas figuras 4,5,6 e 7 são demonstradas a expressão das proteínas de reparo bem como os controles negativos.



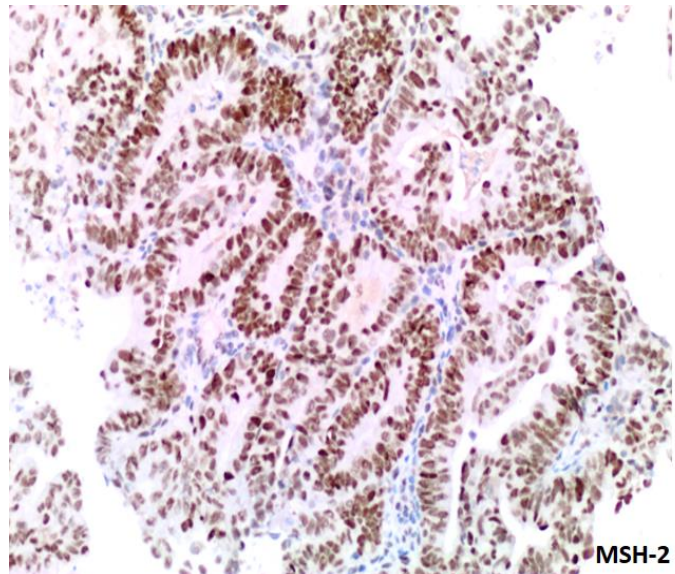
Fonte: Departamento de anatomia patológica do ACCC (2024).

Figura 4: Ausência de marcação nas proteínas dos genes de reparo (PMS2) com seu controle interno positivo nos linfócitos.



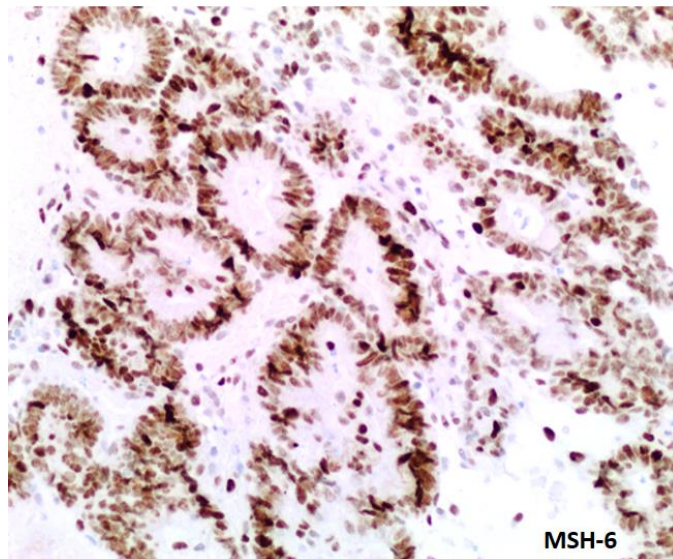
Fonte: Departamento de anatomia patológica do ACCC (2024).

Figura 5: Ausência de marcação nas proteínas dos genes de reparo (MLH1) com seu controle interno positivo nos linfócitos.



Fonte: Departamento de anatomia patológica do ACCC (2024).

Figura 6: Presença de marcação nas proteínas dos genes de reparo (MSH2) com seu controle interno positivo nos linfócitos.



Fonte: Departamento de anatomia patológica do ACCC (2024).

Figura 7: Presença de marcação nas proteínas dos genes de reparo (MSH6) com seu controle interno positivo nos linfócitos.

4.6 Análise Estatística

As variáveis quantitativas foram apresentadas com suas medidas de tendência central e de dispersão adequadas de acordo com sua distribuição (média e desvio-padrão em caso de distribuição normal; mediana e intervalo interquartil se a distribuição for distante da normalidade) e as categóricas em proporções. Para comparações entre os grupos, foi utilizado teste T de Student para variáveis contínuas de distribuição normal, o teste de Mann-Whitney para aquelas sem distribuição normal, e os testes qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher para as variáveis categóricas.

As variáveis clínicas e patológicas estudadas foram: idade, índice de massa corpórea, grau tumoral (grau 1 e 2 vs. grau 3), invasão miometrial (<50% vs. ≥50%) estadiamento (I e II vs. III), tamanho da metástase do linfonodo sentinela, terapias adjuvantes (quimioterapia e radioterapia) como variáveis dicotômicas e serão correlacionadas com MMRd e MMRp, através de análise regressão logística (univariada e multivariada). Pacientes com invasão miometrial menor que 50% e graus 1 ou 2, foram estabelecidos como de baixo risco de metástase linfonodal.

O modelo de regressão logística de Cox foi utilizado para estimar a sobrevida livre de doença (SLD) e sobrevida global (SG) entre os grupos MMRd e MMRp e ajustados para covariáveis (Idade, invasão angiolinfática, invasão miometrial, grau tumoral, estadiamento, tamanho da metástase linfonodal e tratamento adjuvante). A SLD foi definida como o intervalo de tempo (meses) entre a cirurgia e a recorrência ou data da última informação, enquanto que a SG foi definida como o intervalo de tempo (meses) entre a cirurgia e óbito por qualquer causa ou data da última informação. O tempo para evento foi realizado através de curvas de Kaplan-Meier e a comparação entre os MMRd e MMRp foram comparadas utilizando o teste de log rank. O nível de significância estatística para todos os testes foi de $p < 0,05$ e as análises foram realizadas com o software SPSS for Mac versão 20.0.

5. RESULTADOS

Durante o período do estudo, 332 pacientes com CE foram submetidos a cirurgia com BLNS +/- linfadenectomia. Foi encontrada perda de expressão MMR em 20,8% dos doentes, grau histológico 3 em 12,3%, IVL em 21,1% e invasão miometrial maior ou igual a 50% em 19,3% dos casos. Metástases em linfonodos sentinelas ou não sentinela estavam presentes em 39 pacientes (11,7%), sendo a micrometástase o achado mais comum (21 casos – 6,9%). Todas as variáveis clínicas e patológicas são descritas na tabela 1.

Tabela 1 – Características clínicas e patológicas dos 332 pacientes com CE submetidos à BLNS e pesquisa dos genes de reparo do DNA.

Variável	n (%)
Idade (anos)	
Média (DP)	59.4 ($\pm$ 10.8)
IMC, kg/m ²	
Mediana (IIQ)	28.6 (25.0 -32.4)
Estatus MMR	
MMRp	263 (79.2%)
MMRd	69 (20.8%)
Grau histológico	
G1	194 (58.4%)
G2	97 (29.2%)
G3	41 (12.3%)
Presença de IVL	
Não	262 (78.9%)
Sim	70 (21.1%)
Invasão miometrial	
<50%	268 (80.7%)
$\geq$ 50%	64 (19.3%)
Metástase linfonodal	
Não	293 (88.3%)
Sim	39 (11.7%)
Tipo de cirurgia	

Aberta	48 (14.5%)
Laparoscópica	190 (57.2%)
Robótica	94 (28.3%)
Traçador utilizado	
Azul patente	181(54.5%)
Verde de indocianina	146 (44.0%)
Ambos	5 (1.50%)
Tipo de linfadenectomia	
Somente LNS	214 (64.5%)
Pélvica	59 (17.8%)
Pélvica e para-aórtica	59 (17.8%)
Deteção do LNS (lateralidade)	
Não detectou	27 (8.1%)
Unilateral	53 (16.0%)
Bilateral	252 (75.9%)
Metástase em LNS	
Não	266 (87.5%)
ITC	7 (2.3%)
Micrometástase	21 (6.9%)
Macrometástase	10 (3.3%)
LNS dissecados	
Mediana	2 (1-9)
Tratamento adjuvante	
Não	126 (37,9%)
Braquiterapia vaginal	80 (24,1%)
RDT externa	83 (25,0%)
RDT + QT	43 (13.0%)
Recidivas	
Não	302 (91,0%)
Sim	30 (9,0%)
Local da recidiva	
Locorregional	10 (33,3%)

Sistêmica	16 (53,3%)
Ambos	4 (1,2%)

Legenda: **IMC:** índice de massa corpórea; **MMRp:** proficiência dos genes de reparo do DNA; **MMRd:** deficiência dos genes de reparo do DNA; **IVL:** invasão angiolinfática; **LNS:** linfonodo sentinela; **ITC:** células tumorais isoladas; **QT:** quimioterapia; **RDT:** radioterapia.

A BLNS foi realizada isoladamente em 214 (64,5%) pacientes e associada a linfadenectomia pélvica +/- para-aórtica em 118 casos (35,5%). A mediana de LNS dissecados foi de 2 (variou entre 2-9), com taxa global de detecção de 91,9% (16,0% unilateral e 75,9% bilateral). A sensibilidade da BLNS, valor preditivo negativo, taxa e taxa de falsos negativos foi de 92,0%, 97,4% e 8,0% respectivamente por paciente.

A tabela 2 mostra a distribuição das características clínicas e patológicas de acordo com o status MMR, mostrando que houve uma diferença em relação às variáveis grau histológico ($p= 0,018$), IVL ($p= 0,032$), metástase linfonodal ($p= 0,004$), e volume da metástase do linfonodo sentinela ($p= 0,03$).

Tabela 2 – Distribuição das variáveis clínicas e patológicas entre os pacientes com proficiência e deficiência dos genes de reparo do DNA.

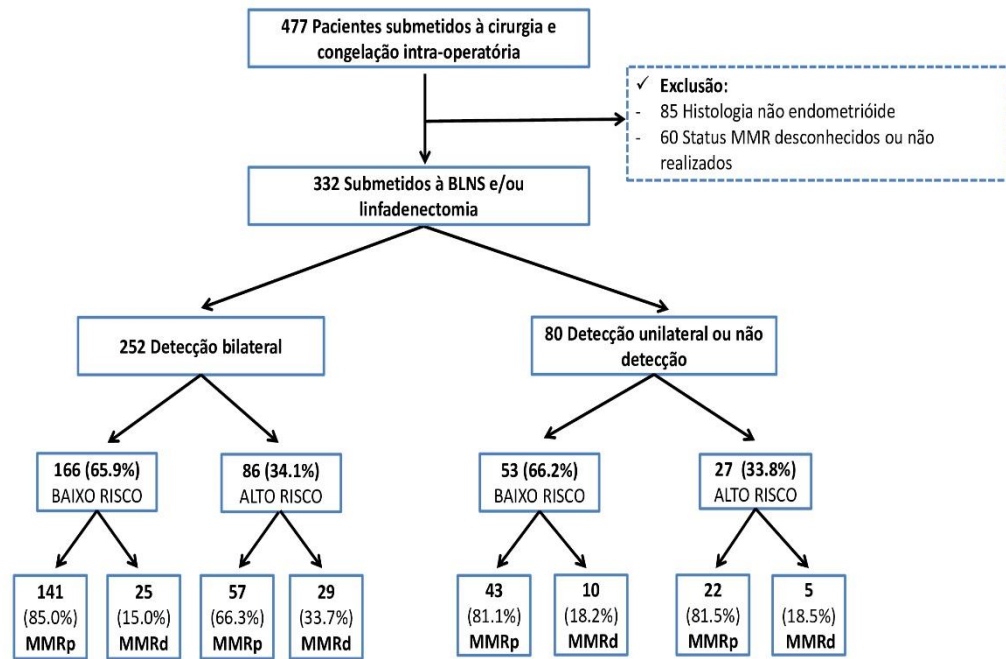
Variável	MMRd (n=69)	MMRp (n=263)	<i>p valor</i>
Idade (anos)			
< 60	39 (56.5%)	126 (47.9%)	0.203
≥ 60	30 (43,5%)	137 (52.1%)	
IMC (kg/m²)			
<30	47(68.1%)	156 (59.3%)	0.39
≥ 30	22 (31.9%)	105 (40.7%)	
Grau histológico			
G1	31 (44.9%)	163 (62.0%)	0.018
G2	24 (34.8%)	73 (27.7%)	
G3	14 (20.3%)	27 (10.3%)	
Presença de IVL			
Não	48 (69.5%)	214 (81.4%)	0.032
Sim	21 (30.5%)	49 (18.6%)	
Invasão miometrial			

<50%	52 (75.3%)	216 (82.1%)	0.205
≥ 50%	17 (24.7%)	47 (17.9%)	
Metástase linfonodal			
Não	54 (78.2%)	239 (90.5%)	0.004
Sim	15 (21.8%)	24 (17.9%)	
Metástase em LNS			
ITC	4 (18.2%)	3 (6.8%)	0.03
Micrometástase	5 (22.7%)	16 (36.4%)	
Macrometástase	4 (18.2%)	6 (13.6%)	

Legenda: **IMC:** índice de massa corpórea; **MMRp:** proficiência dos genes de reparo do DNA; **MMRd:** deficiência dos genes de reparo do DNA; **IVL:** invasão angiolinfática; **LNS:** linfonodo sentinela; **ITC:** células tumorais isoladas.

Na análise univariada, o grau histológico 3 (OR 4,04, 95%CI 1,85 - 8,83), presença de IVL (OR 15,2, 95% CI 7,04 - 32,8), invasão miometrial superior a 50% (OR 5,95, 95% CI 2,94 - 12,5) e MMRd (OR 2,76, 95%CI 1,36 - 5,62) foram preditores de metástase linfonodal. Após análise multivariada, os únicos fatores que permaneceram estatisticamente significativos foram a presença de IVL (OR 10,02, 95% CI 4,28 - 23,46), invasão miometrial (OR 2,41, 95% CI 1,04 - 5,57) e MMRd (OR 2,76, 95% CI 1,36 - 5,62), conforme demonstrado na tabela 3.

Em relação ao algoritmo do LNS e status dos genes de reparo do DNA, observou-se que 80 pacientes (24%) tiveram detecção unilateral, dos quais 53 (66,2%) eram baixo risco baseado apenas nos critérios patológicos. Nesse grupo, 10 casos (18,2%) são MMRd, ou seja, 43 pacientes (53%) dos que migraram unilateral são MMRp e baixo risco patológico, conforme descrito na figura 8.



Fonte: Autoria própria (2024)

Figura 8: Fluxograma da distribuição de todos os pacientes da coorte conforme detecção e lateralidade do linfonodo sentinela, fatores de riscos patológico e status das proteínas de reparo do DNA.

Tabela 3 - Resultados das análises univariadas e multivariadas dos fatores preditivos de metástase linfonodal.

Variável	Análise univariada			Análise multivariada		
	OR	95% IC	<i>p</i> valor	OR	95% IC	<i>p</i> valor
Idade (anos)	0.98	0.95 – 1.01	0.33	-	-	-
IMC , kg/m ²	0.99	0.93 – 1.04	0.67	-	-	-
Grau histológico						
G1/G2	1.0	Referência				
G3	4.04	1.85 – 8.83	< 0.001	1.24	0.48 – 3.17	0.65
Presença de IVL						
Não	1.0	Referência				
Sim	15.2	7.04 – 32.8	< 0.001	10.02	4.28 – 23.46	<0.001
Invasão miometrial						
<50%	1.0	Referência				
≥ 50%	5.95	2.94 – 12.5	< 0.001	2.41	1.04 – 5.57	0.03
Status MMR						
MMRp	1.0	Referência				
MMRd	2.76	1.36 – 5.62	0.005	2.38	1.04 – 5.43	0.03

Legenda: **IMC:** índice de massa corpórea; **MMRp:** proficiência dos genes de reparo do DNA; **MMRd:** deficiência dos genes de reparo do DNA; **IVL:** invasão angiolinfática; **OR:** Odds ratio; **IC:** intervalo de confiança.

Com uma mediana de seguimento de 57 meses, a sobrevida global de toda a amostra em 5 anos foi 97,2% (IC95% 94,9% - 99,1%) e mediana de sobrevida não alcançada (figura 9).

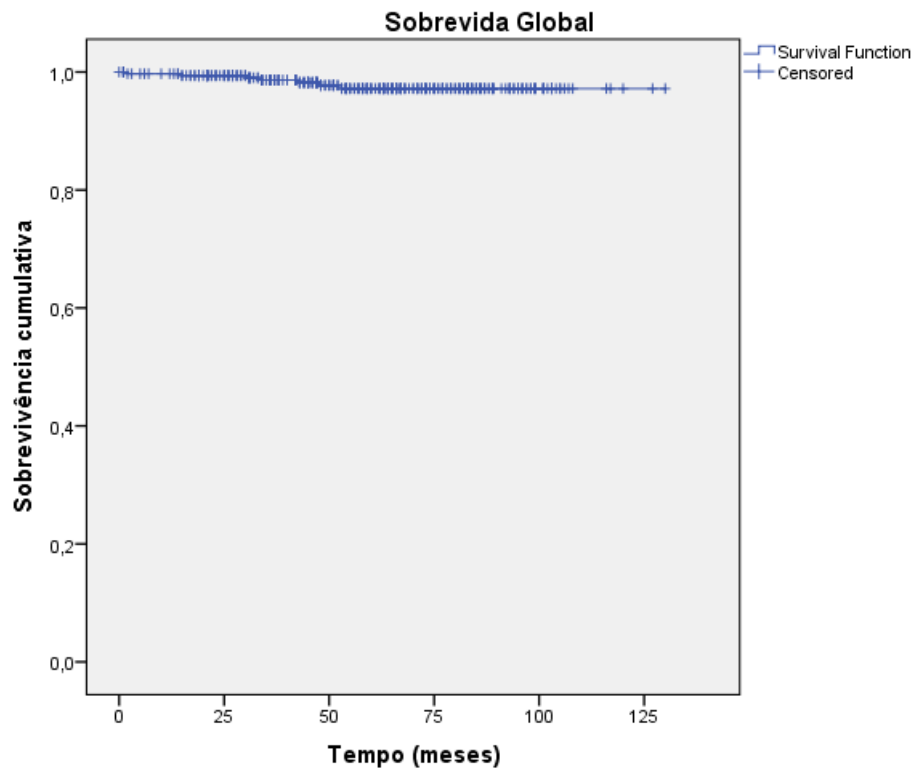


Figura 9: Curva de sobrevida global de toda a amostra.

Quando comparadas as SG em 5 anos dos grupos MMRd e MMRp, não houve diferença estatística (95,2% x 97,7%, respectivamente, $p = 0,22$), conforme demonstrado na figura 10.

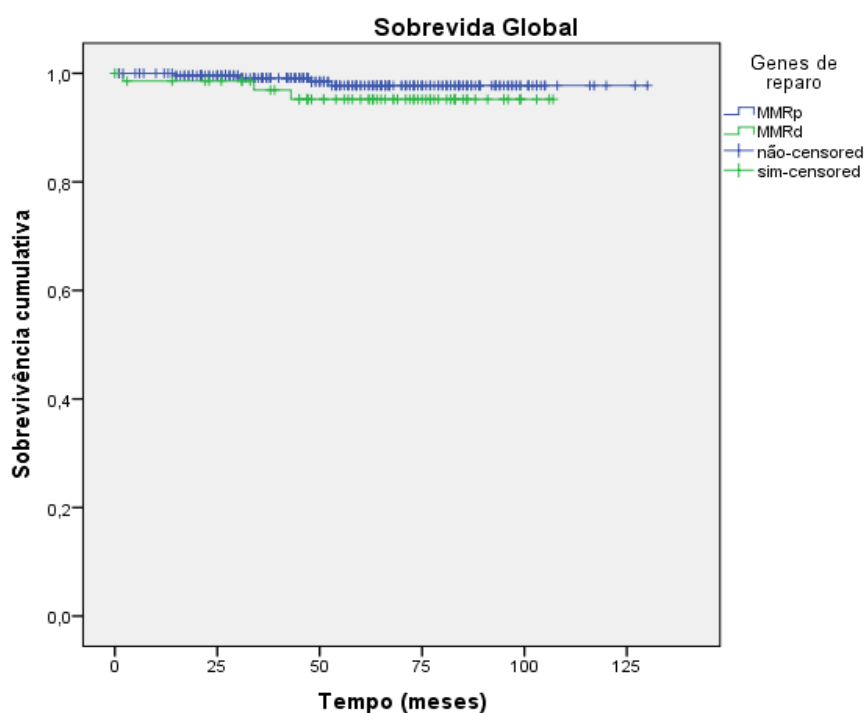


Figura 10: Curva de sobrevida global comparando os grupos MMRd e MMRp.

Em relação ao intervalo livre de doença em 5 anos, também não houve diferença estatística entre os grupos, sendo 96,9% nos pacientes com proficiência nos genes de reparo e 93,4% no grupo com deficiência, $p = 0,37$ (figura 11).

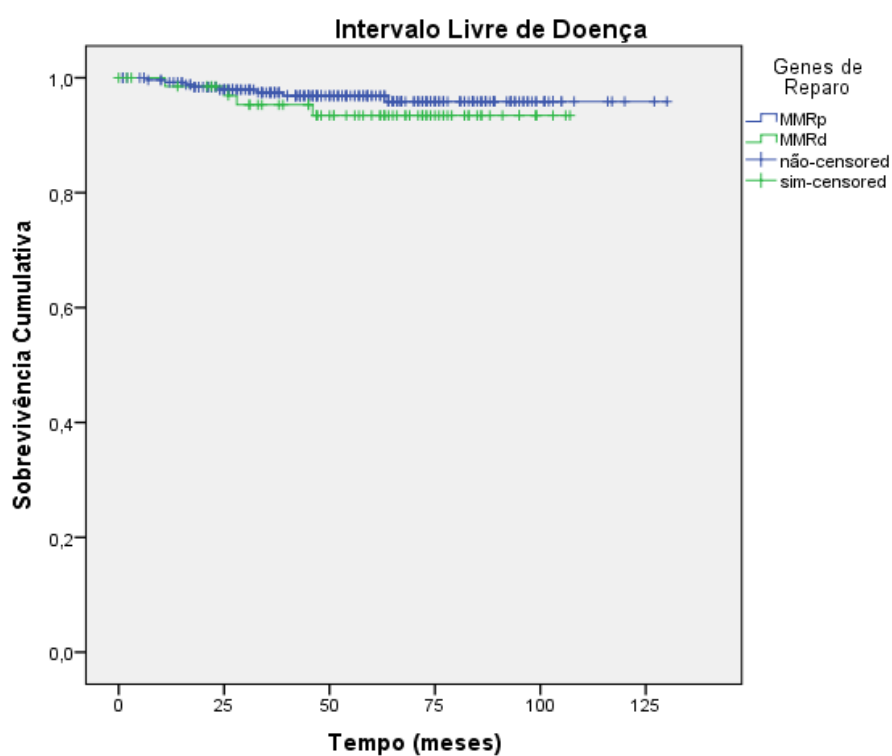


Figura 11: Curva de sobrevida livre de doença comparando os grupos MMRd e MMRp.

Com relação ao perfil das recidivas, um total de 30 pacientes tiveram recorrências, sendo 16% sistêmica, 10% locorregional e 4% em ambos, conforme descritos na tabela 1. O principal sítio de recorrência sistêmica foi pulmão, seguido de osso. Já as recidivas locorregionais foram todas em cúpula vaginal (9 casos) e um caso em linfonodo regional. Estas últimas foram tratadas com cirurgia associada ou não à radioterapia. Já as recidivas sistêmicas foram tratadas com tratamento sistêmico associada ou não à cirurgia (recidivas sistêmicas únicas).

6. DISCUSSÃO

O câncer de endométrio foi historicamente classificado por Bokhman em dois subtipos, I e II, baseados apenas em critérios histopatológicos. Os subtipos I possuem melhor prognóstico, ao passo que o II tem uma evolução mais desfavorável, especialmente por serem tumores mais indiferenciados e subtipos não endometrióides. Fato curioso, é que mesmo neste último grupo há pacientes com sobrevida melhores que os primeiros, aventando a hipótese DE que outros fatores, até então desconhecidos, pudessem influenciar no prognóstico desses tumores^{6,7}.

Com a publicação do TCGA em 2013, o CE teve seu DNA sequenciado dando origem a 4 subtipos moleculares, sendo um de bom prognóstico (*POLE ultramutado*), dois de prognóstico intermediários (instabilidade microssatélite do DNA e mutação no gene *CTNNB1*) e um último grupo com prognóstico mais reservado, o do gene *p53* *mutados*. O grupo de instabilidade de microssatélite, além de prevalente (em torno de 40% dos casos) é facilmente reproduzível através de estudo imunohistoquímico, com avaliação da expressão das proteínas de reparo do DNA (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2*). Com isso, a ESMO e o NCCN passaram a recomendar a pesquisa dessas proteínas em todos os espécimes cirúrgicos de histerectomia por CE^{10,11}.

É incerto o papel prognóstico das proteínas de reparo do DNA. Em nosso estudo, os tumores grau 3, com invasão linfática e com metástase linfonodal foram proporcionalmente mais comuns nos pacientes com deficiência das proteínas de reparo, quando comparado ao grupo de casos com proficiência, com diferença estatística. Uma série histórica do Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, avaliou o papel dos MMR em aproximadamente 500 pacientes com CE. Em 20% dos casos eram MMRd e proporcionalmente eram tumores com estágio mais avançado, subtipos endometrióides e maior grau de invasão miometrial em relação aos tumores MMRp¹⁶.

A maior e mais recente série publicada sobre o tema avaliou 1024 pacientes com CE e após análise multivariada, a presença de instabilidade de microssatélites foi associada de forma significativa a tumores de mais alto grau e com invasão angiolinfática, porém sem diferenças de sobrevida quando comparados com tumores MMRp²⁸. Em uma revisão sistemática e metanálise, Padilla et al. avaliaram 33 estudos e concluíram que não há evidência sobre o real impacto do status de MMR e sobrevida em neoplasia endometrial³⁰. Tais dados estão em conformidade com nosso estudo, pois não foram encontradas diferenças significativas de sobrevida global e livre de doença entre o grupo MMRd e MMRp (figuras 10 e 11).

Na análise univariada, o grau histológico, presença de IVL, invasão miometrial superior a 50% e MMRd foram preditores para metástase linfonodal. Após análise multivariada, os únicos fatores que permaneceram estatisticamente significativos foram a presença de IVL, invasão miometrial e MMRd, o que sugere haver uma relação positiva entre a perda de expressão das proteínas dos genes de reparo com metástase linfática.

Historicamente, apenas os fatores patológicos como grau, invasão linfática e invasão miometrial eram mencionados na definição de risco, portanto também preditores de metástase linfonodal. São baixo risco os tumores endometrióides, com ausência de IVL, infiltração miometrial menor que 50% e bem diferenciados. Já os carcinomas não endometrióides (seroso, células claras ou indiferenciados) ou endometrióides com fatores adversos acima presentes são do grupo de risco intermediário ou alto³¹.

Atualmente, já há menção na literatura sobre a incorporação da classificação molecular na definição de risco do CE, associada aos fatores patológicos tradicionais. Os tumores estágio I e II com *POLE* ultramutados ou *MMRd* sem nenhum outro fator adverso são considerados baixo risco. Tumores com *p53* mutados ou *MMRd* associados a pelo menos um dos fatores de risco clássicos, são tumores com risco intermediário ou alto, independentemente do estágio³¹.

Essa definição de risco é fundamental na tomada de decisão em relação a modalidade de avaliação dos linfonodos regionais. Nos CE de baixo risco, estudos de fase III apontam que a linfadenectomia pode ser omitida com segurança, sem prejuízo em desfechos oncológicos e redução na morbidade. Já nos casos de alto risco, ainda não há dados de estudos randomizados que sustentem a realização apenas da BLNS, um procedimento menos mórbido que a linfadenectomia sistemática^{11,12}.

Dentre as vantagens da técnica do linfonodo sentinela, estão a redução de complicações relacionadas à linfadenectomia (linfocele, linfedema e dor crônica) e realização do ultraestadiamento patológico de um ou dois linfonodos, permitindo identificar micrometástases e células tumorais isoladas naqueles linfonodos com ausência de metástase na análise patológica convencional, melhorando o estadiamento em até 30%^{32,33}.

Dentre as críticas do método, está a sua taxa de detecção, que em séries históricas chegou a 80% em uma das hemipelves e 50% bilateral³⁴. Com o aprimoramento da técnica e a utilização da associação de marcadores (ex: verde de indocianina e azul patente), a taxa de detecção bilateral ultrapassa 90%, conforme publicação recente de uma revisão sistemática³⁵. Ressalta-se, porém, que o verde de indocianina, considerado marcador padrão, não está disponível em todos os centros e ainda assim, falha na migração bilateral em até 25%³⁵. No

presente estudo, o principal marcador utilizado foi o azul patente isolado, que permitiu uma taxa de detecção bilateral próxima de 80% e de 92% em pelo menos uma hemipelve.

Outro importante marco na avaliação linfonodal do CE foi a utilização de um algoritmo proposto pelo grupo do MSKCC (figura 01), que reduziu em até 40% as taxas de linfadenectomias sistemáticas. O mesmo consiste na realização de linfadenectomia pélvica apenas na hemipelve que não houve detecção do linfonodo sentinela e a abordagem para-aórtica a critério do cirurgião²². Mesmo com a adoção de um algoritmo específico, ainda há altas taxas de linfadenectomias e ausência de critérios que possa individualizar cada caso. Outro desafio é quais fatores poderiam ser analisados, com boa acurácia, no pré ou intra-operatório, para decidir a realização ou não da linfadenectomia antes da avaliação patológica final do espécime cirúrgico da histerectomia.

Alguns centros utilizam a congelação intra-operatória para avaliar grau histológico e invasão miometrial, com precisão maior que 90%³⁶⁻³⁸. Kumar et al., avaliaram, em uma série de 784 pacientes, a taxa de concordância entre a congelação intra operatória e o resultado final da parafina e encontraram taxas de 99% para invasão miometrial e 97% para grau histológico³⁹. No presente estudo, encontramos taxas de concordância semelhante à da literatura, 96,9% para invasão miometrial. Em relação ao status das proteínas de reparo do DNA, é possível obter material histológico para a realização da IHQ através da biópsia por histeroscopia, ou seja, ainda no pré-operatório e com altas taxas de concordância com a peça cirúrgica final, superiores inclusive, a grau histológico e invasão miometrial²⁵.

Em relação a “incorporação” desses fatores do algoritmo do LNS, já há estudos avaliando a congelação intra-operatória no mesmo, ou seja, tomando a decisão no ato cirúrgico. Tanner et al., em uma série de 113 pacientes com CE endometrióide e bem diferenciados, sugeriam realizar a linfadenectomia na hemipelve que não migrasse o LNS, desde que fossem apenas casos de alto risco. Ao todo, 21 pacientes (20%) migraram apenas uma hemipelve, destes, apenas 8 (38%) eram casos de alto risco, portanto, foram submetidos a linfadenectomia. Ou seja, baseado na congelação intra-operatória, 62% dos pacientes foram poupados do esvaziamento linfonodal sistemático e suas possíveis complicações, uma vez que eram baixo risco, embora sem utilizar nenhum critério molecular⁴⁰.

Na figura 8, descrita anteriormente, demonstrou-se a distribuição de todos casos do presente estudo em relação à lateralidade da migração do LNS e ao risco, tanto patológico quanto molecular, com uso das proteínas de reparo do DNA. Observou-se que 80 pacientes (24%) tiveram detecção unilateral, dos quais 53 (66,2%) eram baixo risco baseado apenas nos critérios patológicos. Ao associar o status do gene de reparo, 10 casos (18,2%) são MMRd, o

que aumentaria o risco de metástase linfonodal. Baseado no algoritmo, independente do risco, 80 casos com detecção unilateral do LNS, deveriam submeter-se a linfadenectomia. Com a adição dos fatores de risco clássicos e do status MMR no algoritmo, esse número cairia para 43 pacientes (53%), reduzindo a morbidade e aumentando a segurança da omissão da linfadenectomia.

Ainda em relação a classificação molecular, Jamieson et al., analisaram 171 pacientes e observaram que a metástase linfonodal possui relação com os subtipos moleculares. Havia metástase linfática em 44,8% dos pacientes com *p53* *mutados*, 14,9% com MMRd e 14,2% *POLE* *mutado*. De toda a coorte, aproximadamente 21% dos pacientes tinham MMRd⁴¹. Em nosso estudo, obtivemos 20,8% de MMRd e não foi possível a avaliação do status do gene *POLE* e *p53* em todos os casos, o que inviabilizou a correlação com metástase linfonodal.

Nosso estudo possui algumas limitações, dentre elas o fato de ser uma análise retrospectiva, portanto, possui todos os vieses relacionados a esse tipo de pesquisa. Outro ponto, já mencionado, foi a impossibilidade da pesquisa de mutação do gene *p53* e *POLE* em toda a amostra, o que impossibilitou a completa classificação molecular da coorte. Ressalta-se que esse é o primeiro estudo que aborda o valor do status dos genes de reparo do DNA em pacientes submetidos à BLNS. Outro ponto positivo é o tamanho da amostra, com 332 paciente analisados após rigorosos critérios de exclusão, o que tornou o grupo mais homogêneo. Por fim, a viabilidade e reprodutibilidade do estudo, haja vista a análise das proteínas de reparo do DNA serem facilmente realizadas pela técnica de imunohistoquímica e ainda de forma pré-operatória, semelhante ao grau histológico e invasão miometrial.



Fonte: Autoria própria (2024)

Figura 12: Proposta de inclusão do status MMR e demais fatores de risco no algoritmo do linfonodo sentinela.

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, nosso estudo sugere que o status dos genes de reparo do DNA é fator de risco independente para metástase linfonodal no carcinoma endometrióide de endométrio e também pode ser adicionado no algoritmo do linfonodo sentinela (figura 11), selecionando melhor os pacientes para a linfadenectomia sistemática na hemipelve não mapeada.

Entre os pacientes com deficiência nos genes de reparo, houve proporcionalmente maior número de tumores grau 3, com invasão angiolinfática e metástase linfonodal, embora sem diferenças significativas entre sobrevidas global e livre de doença entre os grupos MMRp e MMRd.

8. REFERÊNCIAS

1. F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R.L. Siegel, L.A. Torre, A. Jemal Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries *CA Canc J Clin*, 68 (6) (2018), pp. 394-424.
2. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Tipos de câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer>. Acesso em: 24 jun. 2020.
3. Morice P, Leary A, Creutzberg C, Abu-Rustum N, Darai E. Endometrial cancer. *Lancet*. 2016; 387(10023):1094-1108. doi:10.1016/S0140-6736(15)00130-0
4. Guan H, Semaan A, Bandyopadhyay S, Arabi H, Feng J, Fathallah L, Pansare V, Qazi A, Abdul-Karim F, Morris RT, Munkarah AR, Ali-Fehmi R (2011) Prognosis and reproducibility of new and existing binary grading systems for endometrial carcinoma compared to FIGO grading in hysterectomy specimens. *Int J Gynecol Cancer* 21 (4): 654–660
5. Gilks CB, Oliva E, Soslow RA (2013) Poor interobserver reproducibility in the diagnosis of high-grade endometrial carcinoma. *Am J Surg Pathol* 37 (6): 874–881.
6. JV Bokhman Two pathogenetic types of endometrial carcinoma *Gynecol Oncol*, 15 (1983), pp. 10-17.
7. GF Zannoni, VG Vellone, V Arena, et al. Does high-grade endometrioid carcinoma (grade 3 FIGO) belong to type I or type II endometrial cancer? A clinical-pathological and immunohistochemical study *Virchows Arch*, 457 (2010), pp. 27-3.
8. Cancer Genome Atlas Research N. 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.

9. Talhouk A, McConechy MK, Leung S, et al. Confirmation of ProMisE: A simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer. *Cancer*. 2017; 123(5):802-813. doi:10.1002/cncr.30496.
10. Committee on Practice Bulletins-Gynecology, Society of Gynecologic Oncology. ACOG Practice Bulletin No. 147: Lynch syndrome. [17/11/18]; *Obstet Gynecol*. 2014 124(5):1042–1054. doi: 10.1097/01.AOG.0000456325.50739.72.
11. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up [published correction appears in *Ann Oncol*. 2017 Jul 1; 28(suppl_4):iv167-iv168]. *Ann Oncol*. 2016; 27(1):16-41. doi:10.1093/annonc/mdv484.
12. Koh WJ, Abu-Rustum NR, Bean S, et al. Uterine Neoplasms, Version 1.2018, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2018; 16(2):170-199. doi:10.6004/jnccn.2018.0006.
13. H. Yamashita, K. Nakayama, M. Ishikawa, K. Nakamura, T. Ishibashi, K. Sanuki, et al. Microsatellite instability is a biomarker for immune checkpoint inhibitors in endometrial cancer *Oncotarget*, 9 (2018), pp. 5652-5664.
14. De' Angelis GL, Bottarelli L, Azzoni C, et al. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Acta Biomed*. 2018; 89(9-S):97-101. Published 2018 Dec 17. doi:10.23750/abm.v89i9-S.7960.
15. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med*. 2003; 349(3):247-257. Doi: 10.1056/NEJMoa022289.
16. Black D, Soslow RA, Levine DA, et al. Clinicopathologic significance of defective DNA mismatch repair in endometrial carcinoma. *J Clin Oncol*. 2006; 24(11):1745-1753. doi:10.1200/JCO.2005.04.1574.

17. Terada KY, Black M, Terada LH, Davis J, Shimizu DM. Survival of endometrial cancer patients with lymphatic invasion and deficient mismatch repair expression. *Gynecol Oncol*. 2013; 129(1): 188- 192.
18. Resnick KE, Frankel WL, Morrison CD, et al. Mismatch repair status and outcomes after adjuvant therapy in patients with surgically staged endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2010;117(2):234-238. Doi: 10.1016/j.ygyno.2009.12.028.
19. Nagle CM, O'Mara TA, Tan Y, et al. Endometrial cancer risk and survival by tumor MMR status. *J Gynecol Oncol* 2018; 29:e39.
20. Panici PB, Basile S, Maneschi F. Systematic pelvic lymphadenectomy vs no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: randomized clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100:1707–1716.
21. Kitchener H, Swart AM, Qian Q, Amos C, Parmar MK. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet*. 2009; 373:125–36.
22. Barlin JN, Khoury-Collado F, Kim CH, et al. The importance of applying a sentinel lymph node mapping algorithm in endometrial cancer staging: beyond removal of blue nodes. *Gynecol Oncol*. 2012;125(3):531-535. doi: 10.1016/j.ygyno.2012.02.021.
23. Bodurtha Smith AJ, Fader AN, Tanner EJ. Sentinel lymph node assessment in endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2017; 216(5):459-476.e10. doi:10.1016/j.ajog.2016.11.1033.
24. Chi DS, Barakat RR, Palayekar MJ, et al. The incidence of pelvic lymph node metastasis by FIGO staging for patients with adequately surgically staged endometrial adenocarcinoma of endometrioid histology. *Int J Gynecol Cancer*. 2008; 18(2):269-273. doi: 10.1111/j.1525-1438.2007.00996.x.
25. Chapel DB, Yamada SD, Cowan M, Lastra RR. Immunohistochemistry for mismatch repair protein deficiency in endometrioid endometrial carcinoma yields equivalent results when

- performed on endometrial biopsy/curettage or hysterectomy specimens. *Gynecol Oncol.* 2018; 149(3):570-574. doi:10.1016/j.ygyno.2018.04.005.
26. Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. *Int J Gynecol Obstet.* 2009; 105: 103– 104.
 27. Kim C.H., Soslow R.A., Park K.J., Barber E.L., Khoury-Collado F. Pathologic ultrastaging improves micrometastasis detection in sentinel lymph nodes during endometrial cancer staging. *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2013; 23:964–970. doi: 10.1097/IGC.0b013e3182954da8.
 28. McConechy MK, Talhouk A, Li-Chang HH, Leung S, Huntsman DG, Gilks CB, McAlpine JN. Detection of DNA mismatch repair (MMR) deficiencies by immunohistochemistry can effectively diagnose the microsatellite instability (MSI) phenotype in endometrial carcinomas. *Gynecol Oncol.* 2015 May;137(2):306-10. doi: 10.1016/j.ygyno.2015.01.541. Epub 2015 Jan 28. PMID: 25636458.
 29. McMeekin DS, Trichtler DL, Cohn DE, et al. Clinicopathologic Significance of Mismatch Repair Defects in Endometrial Cancer: An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol.* 2016;34(25):3062-3068. doi: 10.1200/JCO.2016.67.8722.
 30. Diaz-Padilla I, Romero N, Amir E, Matias-Guiu X, Vilar E, Muggia F, Garcia-Donas J. Mismatch repair status and clinical outcome in endometrial cancer: A systematic review and meta-analysis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2013; 88(1): 154-167.
 31. Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I, Cibula D, Mirza MR, Marnitz S, Ledermann J, Bosse T, Chargari C, Fagotti A, Fotopoulou C, Gonzalez Martin A, Lax S, Lorusso D, Marth C, Morice P, Nout RA, O'Donnell D, Querleu D, Raspollini MR, Sehouli J, Sturdza A, Taylor A, Westermann A, Wimberger P, Colombo N, Planchamp F, Creutzberg CL. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer.* 2021 Jan;31(1):12-39. doi: 10.1136/ijgc-2020-002230. Epub 2020 Dec 18. PMID: 33397713.
 32. Diniz TP, Drizlionoks E, Faloppa CC, Menezes JN, Mantoan H, Gonçalves BT, Brandao PHDM, Kumagai LY, Badiglian-Filho L, da Costa AABA, Baiocchi G. Impact of Sentinel Node Mapping in Decreasing the Risk of Lymphocele in Endometrial Cancer. *Ann Surg*

- Oncol. 2021 Jun;28(6):3293-3299. doi: 10.1245/s10434-020-09282-z. Epub 2020 Oct 27. PMID: 33108597.
33. Bogani G., Mariani A., Paolini B., Ditto A., Raspagliesi F. Low-volume disease in endometrial cancer: The role of micrometastasis and isolated tumor cells. *Gynecol. Oncol.* 2019;153:670–675. doi: 10.1016/j.ygyno.2019.02.027.
 34. Bodurtha Smith AJ, Fader AN, Tanner EJ. Sentinel lymph node assessment in endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2017; 216: 459–76.e10.
 35. Nagar H, Wietek N, Goodall RJ, Hughes W, Schmidt-Hansen M, Morrison J. Sentinel node biopsy for diagnosis of lymph node involvement in endometrial cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021 Jun 9;6(6):CD013021. doi: 10.1002/14651858.CD013021.pub2. PMID: 34106467; PMCID: PMC8189170.
 36. J.S. Noumoff, A. Menzin, J. Mikuta, E.J. Lusk, M. Morgan, V.A. LiVolsi, The ability to evaluate prognostic variables on frozen section in hysterectomies performed for endometrial carcinoma, *Gynecol. Oncol.* 42 (1991) 202–208, [https://doi.org/10.1016/0090-8258\(91\)90346-7](https://doi.org/10.1016/0090-8258(91)90346-7).
 37. J. Fanning, Y. Tsukada, M.S. Piver, Intraoperative frozen section diagnosis of depth of myometrial invasion in endometrial adenocarcinoma, *Gynecol. Oncol.* 37 (1990) 47–50, [https://doi.org/10.1016/0090-8258\(90\)90306-6](https://doi.org/10.1016/0090-8258(90)90306-6).
 38. M. Frumovitz, B.M. Slomovitz, D.K. Singh, R.R. Broaddus, J. Abrams, C.C. Sun, M. Bevers, D.C. Bodurka, Frozen section analyses as predictors of lymphatic spread in patients with early-stage uterine cancer¹, *J. Am. Coll. Surg.* 199 (2004) 388–393, <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2004.05.258>.
 39. E. Tanner, A. Puechl, K. Levinson, L.J. Havrilesky, A. Sinno, A.A. Secord, A.N. Fader, P.S. Lee, Use of a novel sentinel lymph node mapping algorithm reduces the need for pelvic lymphadenectomy in low-grade endometrial cancer, *Gynecol. Oncol.* 147 (2017) 535–540, <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2017.10.020>

40. S. Kumar, F. Medeiros, S.C. Dowdy, G.L. Keeney, J.N. Bakkum-gamez, K.C. Podratz, W.A. Cliby, A. Mariani, Gynecologic oncology a prospective assessment of the reliability of frozen section to direct intraoperative decision making in endometrial cancer, *Gynecol. Oncol.* 127 (2012) 525–531, <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2012.08.024>
41. A. Jamieson, E.F. Thompson, J. Huvila, S. Leung, A. Lum, C. Morin, K. Ennour-Idrissi, A. Sebastianelli, M.-C. Renaud, J. Gregoire, D.G. Huntsman, C.B. Gilks, M. Plante, K. Grondin, J.N. McAlpine, Endometrial carcinoma molecular subtype correlates with the presence of lymph node metastases, *Gynecol. Oncol.* 165 (2022) 376–384, <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2022.01.025>.

9. ANEXOS

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do A.C. Camargo Cancer Center/ Fundação Antônio Prudente, sob o nº 2984/20.



A.C. Camargo Cancer Center
Centro Integrado de Diagnóstico, Tratamento, Ensino e Pesquisa

**COMITÊ DE ÉTICA
EM PESQUISA - CEP**

APROVAÇÃO

A Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Antonio Prudente – A.C. Camargo Cancer Center, em **21/12/2020**, após analisar as respostas aos questionamentos realizados em reunião de **20/10/2020**, **aprovou “ad referendum”**, a realização do projeto nº. **2984/20** intitulado: "AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS DOS GENES DE REPARO DO DNA NO CÂNCER DE ENDOMÉTRIO."

Pesquisador Responsável: Glauco Baiocchi Neto
Aluno: Thiago Pereira Diniz (Doutorado)

Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas ao CEP dentro de 06 meses em relatório (modelo CEP).

São Paulo, 21 de dezembro de 2020.

10. EVENTOS

Esse trabalho foi enviado a revista **“Gynecologic Oncology”** e foi aceito para publicação na forma de artigo.

Diniz TP, Menezes JN, Goncalves BT, Faloppa CC, Mantoan H, Kumagai LY, Badiglian-Filho L, Bovolim G, Guimaraes APG, De Brot L, Baiocchi G. Can mismatch repair status be added to sentinel lymph node mapping algorithm in endometrioid endometrial cancer? *Gynecol Oncol.* 2023 Feb;169:131-136. doi: 10.1016/j.ygyno.2022.12.010. Epub 2022 Dec 27. PMID: 36580755.