

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI

“FEDERICO II”

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA



*Dipartimento di Sanità Pubblica*

**Dottorato di Ricerca in Sanità Pubblica e Medicina Preventiva**

**XXXIII Ciclo**

Tesi Sperimentale

*Dusp6: marker predittivo di risposta al trattamento  
conservativo di iperplasia endometriale atipica ed early  
endometrial cancer*

**Relatore**

Ch.mo Prof.

Pierluigi Giampaolino

**Candidato**

Dottor

Improda Francesco Paolo

ANNO ACCADEMICO  
2019/2020

# INDICE

## Sezione bibliografica

### Iperplasia endometriale atipica e carcinoma endometriale

1. Epidemiologia .....	5
2. Classificazione .....	7
2.1 Iperplasia endometriale atipica .....	7
2.2 Carcinoma endometriale .....	10
3. Eziopatogenesi .....	12
3.1 Ruolo degli ormoni .....	12
3.2 Ruolo del Mismatch repair system .....	14
3.3 PTEN, PIK3PA .....	15
3.4 TP53, CTNNB1, POLE .....	15
3.5 ARID1A .....	16
4. Fattori di rischio .....	18
5. Fattori protettivi .....	21
6. Caratteristiche cliniche .....	22
7. Patologia .....	23
7.1 Iperplasia endometriale atipica .....	23
7.2 Carcinoma endometriale .....	23
8. Istologia .....	26
8.1 Iperplasia endometriale atipica .....	26
8.2 Carcinoma Endometriale .....	27
8.2.1 Grado istologico .....	27
8.2.2 Tipi istologici .....	29
9. Pattern di diffusione .....	35
10. Stadiazione .....	38

10.1	<i>Classificazione</i>	
	<i>FIGO</i> .....	38
10.2	<i>Classificazione</i>	
	<i>AJCC</i> .....	39
11.	Screening e prevenzione .....	41
12.	Diagnosi .....	43
13.	Trattamento.....	45
13.1	<i>Iperplasia endometriale atipica</i> .....	45
13.2	<i>Carcinoma endometriale</i> .....	45
13.3	<i>Work-up per la terapia fertility-sparing</i> .....	48
13.4	<i>Marcatori predittivi di risposta al trattamento conservativo</i> .....	50
 <b><u>Sezione sperimentale</u></b>		
1.	Introduzione .....	53
2.	Materiali e metodi .....	55
2.1	<i>Protocollo dello studio</i> .....	55
2.2	<i>Outcomes dello studio</i> .....	56
2.3	<i>Metodi istologici e immunoistochimici</i> .....	57
2.4	<i>Analisi statistica</i> .....	57
2.5	<i>Eticità dello studio</i> .....	58
3.	Risultati .....	59
3.1	<i>Caratteristiche delle pazienti</i> .....	59
3.2	<i>Dusp6 come marker predittivo</i> .....	61
4.	Discussione .....	65
4.1	<i>Principali risultati e interpretazione</i> .....	65
4.2	<i>Punti di forza e limiti</i> .....	67
5.	Conclusioni .....	68
<b><u>Referenze</u></b> .....		69

## **SEZIONE BIBLIOGRAFICA**

# **IPERPLASIA ENDOMETRIALE ATIPICA E CARCINOMA ENDOMETRIALE**

## **1. EPIDEMIOLOGIA**

L'iperplasia endometriale è una condizione patologica caratterizzata da alterazioni iperplastiche nelle strutture ghiandolari e stromali endometriali che rivestono la cavità uterina [1]. L'iperplasia endometriale, in particolare con atipie, è il principale precursore dell'adenocarcinoma endometriale; il rischio stimato di progressione dell'iperplasia atipica a carcinoma endometriale è dell'8-29% [2]. L'iperplasia endometriale è comune nelle donne con indice di massa corporea (BMI) > 30 e l'età media alla diagnosi è di 52 anni, ossia nove anni in meno rispetto all'età media per carcinoma endometriale. Una diagnosi accurata delle lesioni precancerose dell'endometrio e l'esclusione dei carcinomi endometriali coesistenti sono assolutamente necessarie per la gestione ottimale delle pazienti [2].

Il carcinoma dell'endometrio rappresenta il sesto disturbo maligno più comune al mondo, con circa 320.000 nuovi casi diagnosticati ogni anno. I paesi sviluppati hanno un'incidenza maggiore (5,9%) rispetto ai paesi in via di sviluppo (4,0%), sebbene in questi ultimi la mortalità specifica sia più elevata. Il rischio cumulativo di carcinoma endometriale fino all'età di 75 anni è stato stimato all'1,6% per le regioni ad alto reddito e allo 0,7% per i paesi a basso reddito. Ciò potrebbe essere attribuibile agli alti tassi di obesità e inattività fisica, due importanti fattori di rischio nei paesi sviluppati. Il Nord America e l'Europa hanno la più alta incidenza di carcinoma dell'endometrio, dove è il tumore più frequente del tratto genitale femminile e il quarto tumore più comune nelle donne dopo il carcinoma mammario, polmonare e del colon-retto. In Europa, in particolare, il carcinoma del corpo dell'utero è l'ottava causa di morte per cancro più comune nelle donne; nel 2012 sono decedute 23.700 persone. Sebbene la prognosi complessiva sia relativamente buona, i

tumori dell'endometrio di alto grado tendono a ripresentarsi. Il trattamento basato sulla biologia tumorale è la strategia ottimale sia in termini di efficacia del trattamento stesso, sia per limitarne la tossicità [3].

## 2. CLASSIFICAZIONE

### *2.1 Iperplasia endometriale atipica*

La diagnosi patologica delle lesioni premaligne dovrebbe utilizzare criteri e terminologia che distinguano chiaramente le entità clinico-patologiche che devono essere gestite in modo diverso. Molti tentativi di riclassificare i dati raccolti in modo retrospettivo hanno portato a un ampio lessico per i precursori del carcinoma dell'endometrio. [4,5]

Il sistema di classificazione attualmente più utilizzato si basa sullo schema proposto da Kurman et al., che utilizza caratteristiche architetturiche e atipia citologica (complessità ghiandolare e atipia nucleare) per identificare le lesioni precursori, cui ci si riferisce con il termine iperplasia endometriale atipica (AEH). [4]

L'uso parallelo del vecchio sistema di classificazione dell'Organizzazione mondiale della sanità 1994 (WHO94) ha creato un po' di confusione tra i clinici. Tale classificazione distingue:

3. iperplasia semplice
4. iperplasia complessa
5. iperplasia semplice con atipia
6. iperplasia complessa con atipia

Le categorie della divisione WHO94 sono descrittive e la loro interpretazione non suggerisce alcun algoritmo di gestione specifico [6-7].

A causa della scarsa riproducibilità delle diagnosi, i patologi ginecologici hanno proposto due sistemi alternativi e semplici di classificazione dell'iperplasia endometriale (EH), ma non sono attualmente molto utilizzati [8-10]:

- The European Working Group of Experts – EWG (Bergeron, 1999),

- The International Endometrial Collaborative Group – EIN (Mutter, 2000).

La classificazione EWG, utilizzata solo su campioni di biopsia/curettaggio endometriale, ha due categorie diagnostiche:

1. iperplasia endometriale/iperplasia benigna
2. neoplasia endometriode (EN)

Gli autori hanno combinato l'iperplasia atipica e l'adenocarcinoma ben differenziato in una categoria: neoplasia endometriode (EN) e l'iperplasia semplice e complessa senza atipia in iperplasia benigna [9].

Nel 2000, un altro gruppo di patologi (the International Endometrial Collaborative Group) ha proposto un nuovo sistema di classificazione basato su una costellazione di misure morfologiche quantitative associate alla valutazione della clonalità. Questo sistema di classificazione utilizza il termine neoplasia intraepiteliale endometriale (EIN). La neoplasia intraepiteliale endometriale è una lesione premaligna, caratterizzata da un aumento del volume di affollamento ghiandolare (maggiore del volume stromale), dalla presenza di alterazioni citologiche, dalla dimensione della lesione maggiore di 1 mm e dall'esclusione di altre lesioni o carcinomi [8,10,11]. La classificazione EIN comprende tre categorie: benigna (iperplasia endometriale benigna), premaligna (neoplasia intraepiteliale endometriale) e maligna (adenocarcinoma endometriale ben differenziato). I criteri diagnostici EIN sono stati sviluppati sulla base della correlazione istopatologica con l'esito clinico e i cambiamenti molecolari [6]. Tale classificazione è stata confermata come fattore prognostico in diversi studi [6,11,12].

Nel 2014 l'OMS ha pubblicato una nuova classificazione WHO semplificata dell'iperplasia endometriale, che distingue solo due categorie di iperplasia:

1. iperplasia endometriale senza atipia (iperplasia benigna),

2. iperplasia endometriale atipica / neoplasia intraepiteliale endometriale (EIN)

Questa riduzione a due categorie non era solo dovuta alla necessità di eliminare la confusa moltitudine di termini in uso, ma riflette anche le mutazioni genetiche che possono essere individuate. Le iperplasie senza atipia non mostrano cambiamenti genetici rilevanti. Sono cambiamenti benigni che solo in pochi casi (1–3%) possono progredire verso la malattia invasiva, se il disturbo endocrino (predominanza estrogenica a lungo termine o deficit relativo o assoluto del gene) persiste a lungo. Le iperplasie endometriali atipiche mostrano invece molte delle mutazioni tipiche del carcinoma endometriale endometriode invasivo [13,14].

**Figura 1:** Nuova classificazione WHO 2014 delle iperplasie endometriali [14]

New term	Synonyms	Genetic changes	Coexistent invasive endometrial carcinoma	Progression to invasive carcinoma
Hyperplasia without atypia	Benign endometrial hyperplasia; simple non-atypical endometrial hyperplasia; complex non-atypical endometrial hyperplasia; simple endometrial hyperplasia without atypia; complex endometrial hyperplasia without atypia	Low level of somatic mutations in scattered glands with morphology on HE staining showing no changes	< 1 %	RR: 1.01–1.03
Atypical hyperplasia/ endometrioid intraepithelial neoplasia	Complex atypical endometrial hyperplasia; simple atypical endometrial hyperplasia; endometrial intraepithelial neoplasia (EIN)	Many of the genetic changes typical for endometrioid endometrial cancer are present, including: micro satellite instability; PAX2 inactivation; mutation of <i>PTEN</i> , <i>KRAS</i> and <i>CTNNB1</i> (β-catenin)	25–33 % [5] 59 % [3]	RR: 14–45

L'ACOG e l'SGO raccomandano l'uso dello schema EIN per una terminologia più chiara per distinguere le lesioni premaligne [15,16]. Nel 2016 sono state pubblicate le linee guida congiunte di due comitati, il Royal College of Obstetricians and Gynecologists (RCOG) e la British Society for Gynecological Endoscopy (BSGE), riguardanti il trattamento e la classificazione dell'iperplasia, che hanno raccomandato la classificazione WHO2014 [17]. Le linee guida stabiliscono anche gli algoritmi per la gestione dell'iperplasia endometriale, descrivono in dettaglio le opzioni terapeutiche preferite e danno consigli sui tempi per la biopsia endometriale per le pazienti dopo un trattamento conservativo.

## ***2.2 Carcinoma endometriale***

I tumori dell'endometrio sono tradizionalmente classificati in una delle seguenti due categorie, definite da Bockman nel 1983:

1. Tipo 1 (carcinoma endometrioidi di grado 1 e 2), che include i tumori endometriali più comuni. Possono derivare da iperplasia complessa con atipie e sono legati all'eccesso di stimolazione da estrogeni. Poiché di solito vengono diagnosticati nelle fasi iniziali, presentano una prognosi relativamente buona.
2. Tipo 2, che include i tumori endometriali meno comuni. Questa categoria comprende i tumori endometrioidi di grado 3 e i tumori di istologia non-endometrioidi e si sviluppano dall'endometrio atrofico. I tumori di tipo 2 sono meno sensibili agli ormoni. Poiché vengono diagnosticati in fasi più avanzate, sono generalmente più aggressivi e hanno una prognosi più sfavorevole rispetto al carcinoma endometriale di tipo 1.

I dati molecolari a supporto di questa classificazione dicotomica sono diventati parte integrante della valutazione patologica, poiché i carcinomi di tipo I sono prevalentemente associati ad alterazioni genetiche (ipermetilazione) del promotore di PTEN, KRAS, CTNNB1 e PIK3CA e MLH1, mentre i carcinomi sierosi spesso presentano mutazioni del gene TP53. Tuttavia, questo modello dualistico presenta dei limiti in quanto esiste una notevole eterogeneità molecolare; ad esempio, il 25% dei carcinomi endometrioidi di alto grado esprime TP53 mutato e si comporta come carcinoma sieroso [4].

L'ampio lavoro svolto dal Cancer Genome Atlas (TCGA) Research Network nel 2013 ha notevolmente migliorato la nostra comprensione delle caratteristiche biomolecolari del carcinoma endometriale, introducendo quattro sottotipi molecolari: (i) tumori POLE (ultra-mutati), (ii) tumori da

instabilità dei microsatelliti, (iii) tumori ad alto numero di copie con mutazione prevalentemente TP53 e (iv) gruppo rimanente senza queste alterazioni [18].

Gli adenocarcinomi endometriali ereditari sono osservati principalmente in famiglie con carcinoma ereditario del colon non poliposico [HNPCC, sindrome di Lynch (LS)]. Sebbene la maggior parte dei carcinomi endometriali correlati a LS siano tumori di tipo I, la percentuale di tumori di tipo II sembra essere più elevata che nel caso di carcinoma endometriale sporadico [19].

### 3. EZIOPATOGENESI

#### *3.1 Ruolo degli ormoni*

Il progesterone è centrale nel rimodellamento che si verifica nell'endometrio e agisce sia sul comparto epiteliale che su quello stromale. Studi condotti su topi con ablazione selettiva delle isoforme del recettore del progesterone (PR) hanno rivelato che PR-A modula gli effetti antiproliferativi del progesterone nell'utero e PR-B, in assenza di PR-A, induce la crescita cellulare [20]. PR-A e PR-B sono trascritti dallo stesso gene da due promotori distinti, con PR-A privo di 164 aminoacidi nel dominio ammino terminale [21,22] ed è stato dimostrato che hanno attività trascrizionali distinte [23, 24]. PR-A e PR-B sono espressi nelle cellule epiteliali e stromali dell'endometrio e dipendono dallo stato ormonale. Nell'epitelio ghiandolare, l'espressione di PR è stimolata dagli estrogeni durante la fase proliferativa, ma è sotto-regolata dal proprio ligando nella fase secretoria. Prima dell'ovulazione, i livelli di PR-A e PR-B sono approssimativamente equivalenti nell'epitelio ghiandolare e successivamente diminuiscono rapidamente durante la fase secretoria fino a quando non sono quasi inosservabili alla fine del ciclo mestruale [25]. Al contrario, l'espressione di PR nello stroma è costante durante tutto il ciclo e alcuni studi mostrano che PR-A è l'isoforma predominante nello stroma [26,27].

Le osservazioni prodotte dal trapianto di varie combinazioni di cellule stromali e epiteliali ottenute da topi wild type e knockout per il recettore degli estrogeni in topi nudi hanno anche dimostrato l'importanza delle interazioni epiteliali-stromali nella carcinogenesi endometriale [28]. Storicamente, gli estrogeni sono visti come i promotori diretti della carcinogenesi endometriale, stimolando la rapida proliferazione delle cellule epiteliali. Tuttavia, recenti dati sperimentali suggeriscono che gli estrogeni possono produrre diversi

effetti e che alcune delle azioni sulle cellule epiteliali possono essere mediate dallo stroma endometriale. Ad esempio, l'attività dell'aromatasi è stata identificata in estratti di tessuto tumorale utilizzando tecniche biochimiche [29], ma Wantanabe et al. [30], usando l'immunoistochimica e l'ibridazione in situ, hanno localizzato la fonte dell'aromatasi nelle masse tumorali nello stroma desmoplastico che circonda le cellule neoplastiche, piuttosto che nelle cellule tumorali stesse. In questo studio, la proteina e il segnale dell'aromatasi non sono stati trovati nell'endometrio normale o iperplastico. Questi dati suggeriscono che il carcinoma invasivo può indurre l'attività dell'aromatasi nello stroma desmoplastico, che a sua volta potrebbe fornire una stimolazione paracrina a un carcinoma invasivo già stabilito. L'assenza di attività dell'aromatasi nell'endometrio normale e iperplastico suggerisce che la produzione locale di estrogeni all'interno dell'utero potrebbe non precedere e promuovere lo sviluppo del cancro, ma potrebbe avere un ruolo nella sua progressione.

Infine, i dati suggeriscono che gli estrogeni, nella carcinogenesi, non si limitano a stimolare la proliferazione. Dati sperimentali suggeriscono che l'enzima p450, CYP 1B1, che è ampiamente distribuito in molti organi umani, può trasformare gli estrogeni in 4-idrossicatecoli che possono causare danni al DNA [31]. Pertanto, elevati livelli di estrogeni nei tessuti potrebbero teoricamente promuovere la carcinogenesi attraverso due meccanismi: produrre danni al DNA e stimolare la proliferazione. Lo sviluppo dell'iperplasia endometriale e del carcinoma endometriode (tumori di tipo 1) nelle donne con cicli irregolari o anovulatori suggerisce che periodi prolungati senza desquamazione endometriale possono essere importanti nello sviluppo di lesioni endometriali fisse.

### ***3.2 Ruolo del Mismatch repair system***

Circa un quarto dei carcinomi endometriali endometrioidi mostra una perdita di funzione di una o più delle proteine del mismatch repair MLH1, MSH2, MSH6 o PMS2, con conseguente accumulo di errori nei tratti omopolimerici (tratti ripetitivi dello stesso nucleotide), risultante in una firma molecolare chiamata instabilità dei microsatelliti [32-34]. La perdita della funzione del mismatch repair è stata dimostrata essere un'alterazione molecolare relativamente precoce in un sottogruppo di carcinomi endometriali [35,36]. I primi studi hanno dimostrato che l'ipermetilazione del promotore dell'MLH1 può verificarsi in assenza di instabilità dei microsatelliti e che il carcinoma endometriale mostra instabilità microsatellitare quando associato a iperplasia endometriale atipica/neoplasia intraepiteliale endometriale con instabilità dei microsatelliti [35,36]. Al contrario, il carcinoma endometriale con instabilità microsatellitare è stato associato con iperplasia endometriale atipica/neoplasia intraepiteliale endometriale con microsatelliti stabili in circa la metà dei casi [35-38]. Studi più ampi e recenti suggeriscono un'elevata concordanza dell'espressione della proteina del mismatch repair tra i campioni di iperplasia atipica/neoplasia intraepiteliale endometriale e quelli di carcinoma endometriale [39,40]. È importante sottolineare che l'instabilità dei microsatelliti si sviluppa in tumori con deficit del mismatch repair quando vi è tempo sufficiente per l'accumulo di lunghezze variabili dei microsatelliti, su più cicli di replicazione cellulare. L'accumulo di microsatelliti instabili, nei casi con deficit del mismatch repair, è una condizione sine qua non per la progressione da iperplasia atipica/neoplasia intraepiteliale endometriale al franco carcinoma.

Dal punto di vista clinico, il carcinoma endometriale con deficit del mismatch repair che insorge nelle pazienti con sindrome di Lynch [41,42] deve essere distinto dai carcinomi sporadici con deficit del mismatch repair, che risultano più comunemente dal silenziamento dell'MLH1 attraverso l'ipermetilazione

del promotore [40] o alternativamente attraverso mutazioni somatiche nei geni delle proteine del mismatch repair.

### **3.3 *PTEN, PIK3CA***

Altri importanti eventi molecolari precoci nella carcinogenesi endometriale sono suggeriti da mutazioni di PTEN, condivise in campioni di iperplasia atipica/neoplasia intraepiteliale endometriale e campioni di carcinoma [43]. Al contrario, le mutazioni di PIK3CA sono un evento relativamente tardivo nella carcinogenesi endometriale.

### **3.4 *TP53, CTNNB1, POLE***

Sono stati proposti diversi biomarcatori molecolari per la previsione prognostica nel carcinoma endometriale, come le mutazioni di TP53 (proteina tumorale 53) [44], CTNNB1 (codifica per  $\beta$ -catenina) [44-46] e POLE (codifica per la subunità epsilon della DNA polimerasi che ha un ruolo nella replicazione del DNA) [47], ma non sono stati ancora stabiliti metodi semplici e ottimali. Il gene oncosoppressore TP53 codifica per un fattore di trascrizione nucleare coinvolto nell'arresto del ciclo cellulare, nell'apoptosi e nell'inibizione dell'angiogenesi [48,49]. È il gene oncosoppressore più comunemente mutato in molte neoplasie [48] e l'immunoistochimica è una tecnica efficace per identificare le mutazioni [50,51]. La proteina TP53 è un marker immunoistochimico utile per la diagnosi di carcinomi sia endometriali che ovarici [52,53], con anomalie TP53 rilevate nel ~ 12% dei tumori G1 del carcinoma endometriale endometriode, nel 25% dei tumori G2 e nel 42% dei tumori G3. [54] Diversi studi hanno indicato che la sovraespressione immunoistochimica di TP53 è legata al carcinoma endometriale endometriode biologicamente aggressivo e di alto grado [53-59].

Le mutazioni CTNNB1 [44-46] e/o TP53 [44, 58] identificano anche le pazienti con carcinoma endometriale endometriode di basso grado ad alto rischio di recidiva. L'anomalia immunohistochimica di  $\beta$ -catenina (codificata da CTNNB1) ha un'alta specificità nel distinguere il CTNNB1 mutato dal wild type, ma la sensibilità è inferiore [60]. Le espressioni di  $\beta$ -catenina non possono essere utilizzate per determinare la prognosi nelle pazienti con carcinoma endometriale [58, 61]. È interessante notare che la mutazione CTNNB1 è più comune nelle pazienti più giovani con carcinoma endometriale endometriode e raramente si verifica contemporaneamente alla mutazione TP53 [44,46]. Questi dati suggeriscono che il rilevamento della mutazione CTNNB1 può essere un metodo ausiliario di diagnosi nelle giovani pazienti con carcinoma endometriale endometriode con TP53 normale. Rispetto a  $\beta$ -catenina, l'immunohistochimica per TP53 ha un'elevata specificità e sensibilità che distingue TP53 mutata dalla forma wild type [50].

### **3.5 ARID1A**

Due studi indipendenti, pubblicati contemporaneamente nel 2010, hanno identificato ARID1A (*AT-rich interactive domain 1A*) come possibile gene oncosoppressore con mutazioni frequenti, e perdita dell'espressione della proteina ARID1A nei tumori ovarici a cellule chiare ed endometrioidi (30-57%) [62,63]. ARID1A si trova sul cromosoma 1p36.11 e codifica una proteina che è un componente chiave del complesso di rimodellamento della cromatina SWI/SNF (switch/sucrose non-fermenting) negli eucarioti. Il complesso SWI/SNF è coinvolto nella regolazione di processi essenziali, come la differenziazione, la proliferazione, la riparazione del DNA e la soppressione tumorale. Il complesso mobilita i nucleosomi con un processo ATP-dipendente alterando l'accessibilità dei promotori, aumentando o reprimendo la trascrizione. Si ritiene che ARID1A conferisca, con questo processo,

specificità alla regolazione dell'espressione genica [64-66]. Le mutazioni in varie subunità del complesso SWI/SNF possono influenzare la regolazione epigenetica dei geni e sono state identificate in diversi tumori negli ultimi anni [64,65].

La perdita di ARID1A, definita da una perdita totale di espressione nelle cellule tumorali, è stata osservata, in nessuna delle iperplasie senza atipia, nel 16% delle iperplasie complesse con atipia, nel 19% dei tumori primari del sottotipo endometrioido e nel 28% delle lesioni metastatiche. Dall'iperplasia con atipia al solo tumore primario (istologia endometrioido), la differenza non era statisticamente significativa (P-value 0.616).

La perdita di ARID1A può essere un evento precoce nella carcinogenesi dei carcinomi uterini endometrioidi, supportata da una proporzione simile di perdita proteica nell'iperplasia con atipia rispetto ai tumori primari endometrioidi. La perdita dell'espressione di ARID1A è correlata all'istologia endometrioido e a cellule chiare, ma è rara nel sottotipo sieroso. È associata al grado di differenziazione 1 e 2, ma non con la sopravvivenza, sebbene una correlazione significativa con l'infiltrazione miometriale profonda supporta, con una certa importanza, lo sviluppo di invasività precoce [67].

#### 4. FATTORI DI RISCHIO

I fattori di rischio specifici per i tumori di tipo I e l'EH sono associati a un ambiente con alto contenuto di estrogeni. La maggior parte delle pazienti presenta in genere un profilo clinico caratteristico che comprende un alto indice di massa corporea (BMI), ovvero soggetti in sovrappeso (BMI: 25-29,9 kg/m<sup>2</sup>) o obesi (BMI  $\geq$  30 kg/m<sup>2</sup>), spesso con altri componenti della sindrome metabolica. L'evidenza che un maggiore grasso corporeo (valutato con BMI, misure della circonferenza addominale e aumento di peso negli adulti) sia un fattore di rischio per il cancro dell'endometrio è convincente. Il carico glicemico è probabilmente un altro fattore di rischio del carcinoma endometriale, mentre le prove che suggeriscono che uno stile di vita sedentario e l'altezza raggiunta dall'adulto siano cause del carcinoma endometriale, sono limitate [68].

Per quanto riguarda l'obesità, è la causa più comune di sovrapproduzione endogena di estrogeni. L'eccessivo tessuto adiposo aumenta l'aromatizzazione periferica di androstenedione a estrone. Nelle donne in premenopausa, livelli elevati di estrone innescano un feedback anomalo nell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio. I risultati clinici sono oligo o anovulazione. In assenza di ovulazione, l'endometrio è esposto a stimolazione estrogenica praticamente continua senza successivo effetto progestazionale e senza sanguinamento mestruale da sospensione.

Secondo una recente meta-analisi che ha coinvolto 6 studi e 3132 casi di cancro, il rischio relativo (RR) per lo sviluppo del carcinoma endometriale nelle donne con sindrome metabolica è 1,89 [intervallo di confidenza al 95% (CI) 1,34-2,67,  $P \leq 0,001$ ]. Considerando i singoli componenti della sindrome metabolica, l'obesità è associata al maggior aumento del RR di 2,21 ( $P \leq 0,001$ ) [69]. La forza dell'associazione tra obesità e rischio di cancro aumenta all'aumentare del BMI: RR per il sovrappeso è 1,32 (IC 95% 1,16–1,50) e per

l'obesità 2,54 (IC 95% 2,11–3,06) [70]. Altri componenti della sindrome metabolica collegati al carcinoma dell'endometrio comprendono l'ipertensione, con un RR di 1,81 (P = 0,024) [66] o un odds ratio (OR) di 1,77 (1,34-2,34) [71]. L'ipertrigliceridemia ha un'associazione più debole ma ancora significativa (RR 1,17, P <0,001) [12].

Il diabete mellito è stato a lungo considerato un fattore di rischio indipendente per il carcinoma endometriale, con un raddoppio approssimativo del rischio (OR 2,1; IC 95% 1,40-3,41) [71]. Tuttavia, il fatto che le persone con diabete mellito di tipo II (DMT2) tendano ad essere obese è un fattore confondente, e un recente studio epidemiologico condotto dagli Stati Uniti ha messo in dubbio il ruolo indipendente del DMT2 come fattore di rischio per il cancro endometriale [72].

Anche la nulliparità e l'infertilità sono classici fattori di rischio per il carcinoma dell'endometrio. Tra le cause dell'infertilità, la sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) sembra essere la più importante, con un aumento del rischio quasi triplicato (OR 2,79–2,89) [73].

Altri fattori di rischio per il carcinoma endometriale comprendono la terapia estrogenica isolata (in assenza di un adeguato bilanciamento progestinico), i tumori che producono estrogeni e il menarca precoce/menopausa tardiva. La terapia estrogenica senza un adeguato bilanciamento aumenta il rischio di carcinoma dell'endometrio da 10 a 30 volte se il trattamento continua per 5 anni o più [74]. Tumori che producono estrogeni, o tumori della granulosa ovarica, e tumori della teca comportano un aumentato rischio di carcinoma endometriale, infatti fino al 20% delle donne con questi tumori presentano un carcinoma endometriale simultaneo [75]. Sia il menarca precoce che la menopausa tardiva sono associati ad un rischio 2 volte maggiore per il carcinoma dell'endometrio. Il RR è 2,4 per le donne <12 anni contro ≥15 anni [76] ed è 1,8 per le donne ≥55 contro <50 anni [77].

L'anamnesi familiare è un altro fattore di rischio: il carcinoma endometriale è la manifestazione extracolica più comune nella sindrome di Lynch (carcinoma coloretale ereditario non poliposico [HNPCC]) [78]. Questa sindrome autosomica dominante deriva principalmente da mutazioni dei geni del mismatch repair. I geni del mismatch repair associati alla sindrome di Lynch sono MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2 [79]. La mutazione genetica impedisce la riparazione degli errori di appaiamento di basi, che sono comunemente prodotti durante la replicazione del DNA. L'inattività di questo sistema di riparazione del DNA porta a mutazioni che possono favorire la carcinogenesi. I portatori di mutazione hanno il rischio di sviluppare un carcinoma dell'endometrio che varia dal 40 al 60 %. Tra le donne, il rischio di carcinoma dell'endometrio supera quello del carcinoma del colon-retto e si sviluppa spesso in giovane età [80,81]. Dei casi di carcinoma dell'endometrio, dal 2 al 5 per cento sono attribuibili alla sindrome di Lynch [82]. In generale, la maggior parte dei casi familiari si sviluppa nelle donne in premenopausa [83]. Le donne portatrici di mutazione dei geni BRCA1 e BRCA2 hanno un aumentato rischio di carcinoma mammario e ovarico. Possono anche avere un rischio leggermente elevato di carcinoma dell'endometrio, ma solo perché i tumori al seno sono spesso trattati con tamoxifene [84,85].

Il tamoxifene provoca un rischio due o tre volte maggiore di sviluppare un carcinoma dell'endometrio a causa del suo modesto effetto estrogenico "non bilanciato" sull'endometrio. L'aumento del rischio di carcinoma dell'endometrio interessa quasi esclusivamente le donne in postmenopausa e i tassi di incidenza del cancro aumentano in modo lineare con la durata e la dose cumulativa della terapia con tamoxifene [86,87]. Di conseguenza, le donne che assumono tamoxifene vanno monitorate per quanto riguarda il rischio endometriale e dovrebbero segnalare eventuali spotting e sanguinamenti vaginali. La sorveglianza endometriale di routine non aumenta i tassi di diagnosi precoce, tranne nei casi in cui una paziente trattata con tamoxifene

non presenti tali sintomi o sia identificata come ad alto rischio di carcinoma dell'endometrio, [88].

## **5. FATTORI PROTETTIVI**

Al contrario, l'uso di contraccettivi orali combinati (COC) per almeno 1 anno conferisce fino al 30-50% di riduzione del rischio di cancro endometriale e la riduzione del rischio si estende da 10 a 20 anni [89,90]. Questo molto probabilmente deriva da un effetto preventivo chemioterapico sull'endometrio fornito dalla componente progestinica [91]. Naturalmente, anche il dispositivo intrauterino al progesterone (IUD) conferisce una protezione a lungo termine dal cancro endometriale. Inoltre, sono stati trovati effetti protettivi simili con tipi di IUD al rame [92].

I fumatori hanno un rischio inferiore di sviluppare il cancro dell'endometrio. Il meccanismo biologico è multifattoriale, ma in parte è legato a livelli di estrogeni circolanti più bassi dovuti alla riduzione del peso corporeo, alla più precoce menopausa e al metabolismo ormonale alterato [93].

## **6. CARATTERISTICHE CLINICHE**

L'esordio clinico del carcinoma endometriale è rappresentato, nella grande maggioranza dei casi, da un sanguinamento vaginale anomalo, sia esso una perdita ematica vaginale in menopausa, sia un sanguinamento inatteso rispetto al flusso mestruale normale in età fertile. Assai raramente, infatti, la neoplasia decorre in maniera asintomatica e la diagnosi viene posta in modo accidentale. In considerazione dell'aumentata incidenza del carcinoma endometriale e della minore età di insorgenza, è necessario sottoporre a controllo clinico strumentale tutte le pazienti in età fertile che presentino una metrorragia intermestruale. Dolore e leucorrea sono in genere dovuti a fenomeni necrotico colliquativi, tipici delle fasi più avanzate di malattia. Un interessamento linfonodale importante può determinare edema agli arti inferiori, al pube e alla vagina. Dolori addominali, pelvici, lombosacrali e glutei, sindromi sub occlusive, dolori ossei e dispnea sono i segni tardivi di diffusione metastatica della malattia. [3]

## 7. PATOLOGIA

### *7.1 Iperplasia endometriale atipica*

I geni noti per essere alterati in AEH/EIN sono interessati in modo simile nell'adenocarcinoma endometriale endometriode, tra questi abbiamo:

- Inattivazione (mutazione o delezione) del gene oncosoppressore PTEN (44 - 63%) [94]
- Inattivazione del gene PAX2 (71%) [95]
- Mutazioni KRAS (16%) [96]
- Instabilità dei microsatelliti (20-25%) [97]

### *7.2 Carcinoma endometriale*

Lo spettro di aggressività dei diversi tipi istopatologici di carcinoma dell'endometrio è ampio. L'istologia è insufficiente per prevedere il decorso clinico del carcinoma endometriale endometriode, poiché esiste una sostanziale eterogeneità nelle caratteristiche biologiche e molecolari [98]. Nel 2013, The Cancer Genome Atlas (TCGA) Research Network ha classificato il carcinoma endometriale in quattro nuovi gruppi prognostici molecolari, con il potenziale di migliorare la gestione post-chirurgica del tumore aggressivo: (i) tumori ultra-mutati, (ii) iper-mutati, (iii) tumori ad alto numero di copie e (iv) gruppo rimanente a basso numero di copie. Il gruppo ultramutato include carcinomi endometrioidi di grado variabile, con tasso mutazionale molto alto e mutazioni nel dominio esonucleasico della Polimerasi- $\epsilon$  (POLE). Il gruppo ipermutato è costituito da carcinomi endometrioidi di grado variabile con alto tasso mutazionale e instabilità dei microsatelliti (MSI). Il gruppo con numero di copie elevato è composto principalmente da carcinoma endometriale sieroso con basso tasso mutazionale, ma con un alto tasso di alterazioni del numero di copie somatiche e mutazioni TP53. Il gruppo a basso numero di copie include

carcinomi endometrioidi di basso grado con basso tasso di mutazioni e basso tasso di alterazioni del numero di copie somatiche. [18]

Tuttavia, questa nuova classificazione necessitava di miglioramenti in termini di costi e difficoltà tecniche legate al sequenziamento, al fine di garantirne l'uso nella pratica clinica di routine. A tale scopo, sono stati proposti surrogati immunoistochimici dei marcatori prognostici molecolari, poiché l'immunoistochimica è più veloce, meno costosa e più ampiamente disponibile rispetto alle analisi di sequenziamento [44].

È stata recentemente validata una nuova classificatore molecolare, il Proactive Molecular Risk Classifier for Endometrial Cancer (ProMisE) [32,33]. Tale classificazione si basa sull'immunoistochimica per le proteine mismatch repair e p53, e sul sequenziamento di POLE. Infatti, una bassa espressione delle proteine del mismatch repair appare come un accurato surrogato dell'instabilità dei microsatelliti, mentre un'espressione aberrante di p53 riflette in modo affidabile la presenza di mutazioni TP53, segno distintivo del gruppo alto numero di copie. Ciò consente di assegnare le pazienti a quattro gruppi prognostici come surrogati dei gruppi TCGA:

- POLE-mutato (POLEmt), caratterizzato da buona prognosi, tasso mutazionale molto alto e mutazioni nel dominio esonucleasico della Polimerasi-ε (POLE); tale gruppo può essere identificato solo mediante sequenziamento;
- mismatch repair-deficient (MMR-d), caratterizzato da prognosi intermedia, alto tasso di mutazioni e instabilità dei microsatelliti; tale gruppo può essere rilevato mediante immunoistochimica per proteine del mismatch repair;
- p53-anormale (p53-abn), caratterizzato da prognosi infausta, mutazioni di TP53, basso tasso di mutazioni e alto tasso di alterazioni del numero di copie somatiche; tale gruppo può essere diagnosticato mediante un'espressione immunoistochimica anormale di p53;

- p53-wild-type (p53-wt), caratterizzato da prognosi da buona a intermedia, bassi tassi di alterazioni del numero di copie somatiche e mutazionali; tale gruppo è quello meno definito, che non mostra alcuna firma molecolare specifica [32,33,99].

## 8. ISTOLOGIA

### *8.1 Iperplasia endometriale atipica*

Il rapporto ghiandola-stroma è maggiore di 1:1 (le ghiandole occupano più del 50% della superficie).

L'atipia citologica è definita come:

- Allargamento e arrotondamento nucleare
- Cromatina grossolana, distribuita in modo irregolare
- Nucleoli poco appariscenti, visibili solo con ingrandimenti ad alta potenza
- Perdita di polarità

Sulla base delle alterazioni suddette, i criteri diagnostici per AEH/EIN sono:

#### Architettura

- L'area delle ghiandole supera quella dello stroma (rapporto ghiandola/stroma > 1)
- Lesione composta da singole ghiandole che possono ramificarsi leggermente e variare di forma

#### Citologia

- Le caratteristiche nucleari o citoplasmatiche delle cellule epiteliali differiscono tra le ghiandole di fondo architettonomicamente affollate e le normali ghiandole di fondo
- Può includere cambiamenti nella polarità nucleare, atipie nucleari (come definite sopra) o alterazione del differenziamento citoplasmatico

#### Dimensione

- La dimensione lineare massima supera 1 mm

### Esclusione di altre condizioni

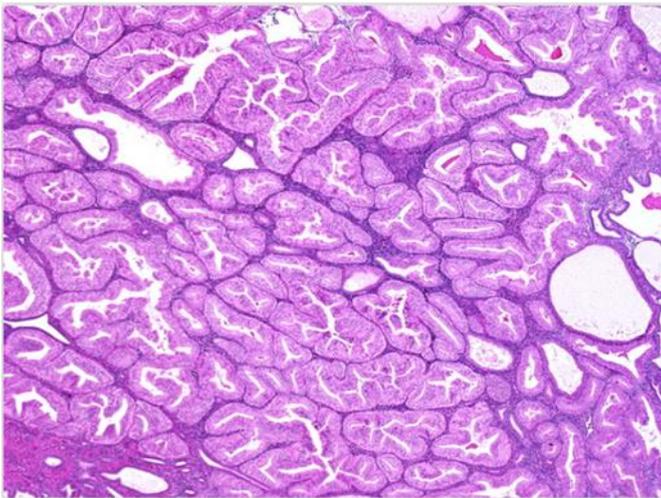
- Alterazioni proliferative, secretorie o dell'endometrio basale; polipo, iperplasia benigna (non atipica), carcinoma (ghiandole labirintiche, cribriformi, aree solide)

## **8.2 Carcinoma endometriale**

### **8.2.1 Grado istologico**

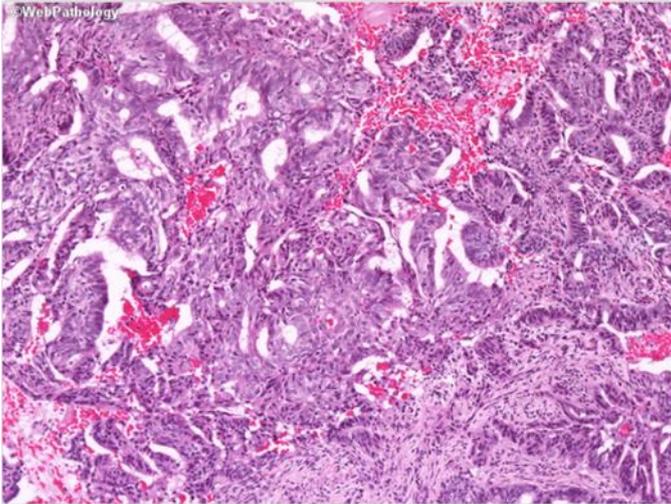
Il grado di differenziazione del carcinoma è un altro sistema per la classificazione del carcinoma endometriale, raggruppati come segue [3]:

#### **Grado 1**



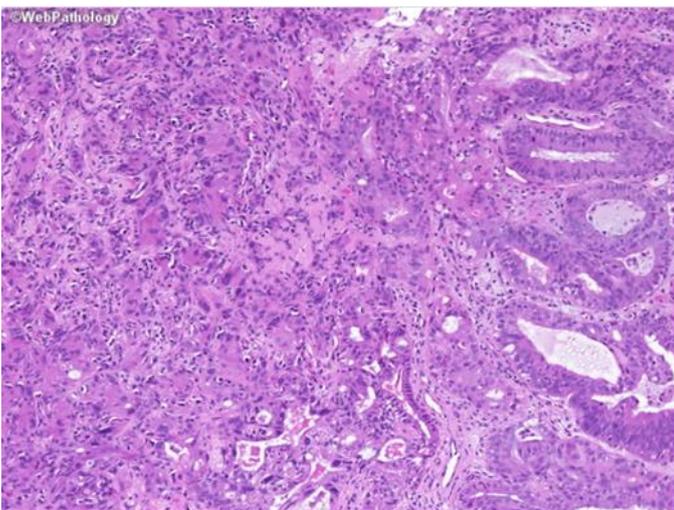
Le ghiandole sono ben differenziate e mostrano angolazioni o ramificazioni. L'atipia citologica è minima. Il tumore contiene non più del 5% di componente solida non squamosa o non morulare. I tumori di grado 1 costituiscono circa il 50% degli adenocarcinomi endometriali.

## Grado 2



I tumori di grado 2 contengono dal 6% al 50% di componente solida non squamosa o non morulare. Questo caso conteneva circa il 30% di aree solide, esclusi i focolai di differenziazione squamosa. I tumori di grado 2 costituiscono circa il 35% di tutti gli adenocarcinomi endometriali.

## Grado 3



I tumori di grado 3 contengono aree solide che comprendono oltre il 50% del tumore. Costituiscono circa il 15% di tutti gli adenocarcinomi endometriali.

Nei tumori con differenziazione squamosa, solo la componente ghiandolare è considerata ai fini della classificazione, come già detto in precedenza. L'immagine mostra la transizione dalla componente ghiandolare a destra alle aree solide a sinistra.

La notevole atipia nucleare (pleomorfismo e nucleoli prominenti), inappropriata per il grado architettonico, aumenta di un grado, il grado di un tumore di grado 1 o 2 [100].

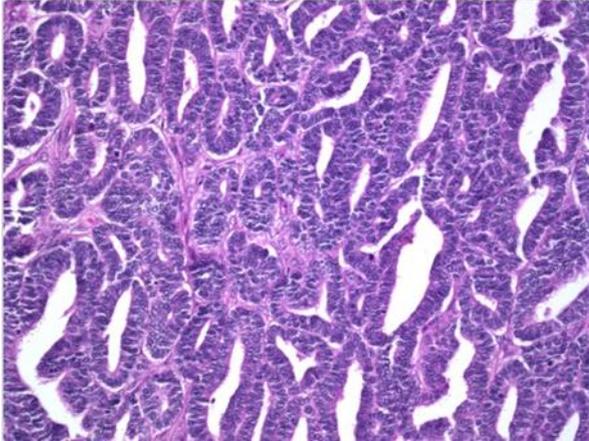
La maggior parte degli autori considera i carcinomi a cellule sierose e chiare, di alto grado per definizione. Il grado di adenocarcinoma con differenziazione squamosa viene assegnato in base al grado nucleare della componente ghiandolare [3].

### ***8.2.2 Tipi istologici***

I tipi istopatologici di carcinomi endometriali sono [101]:

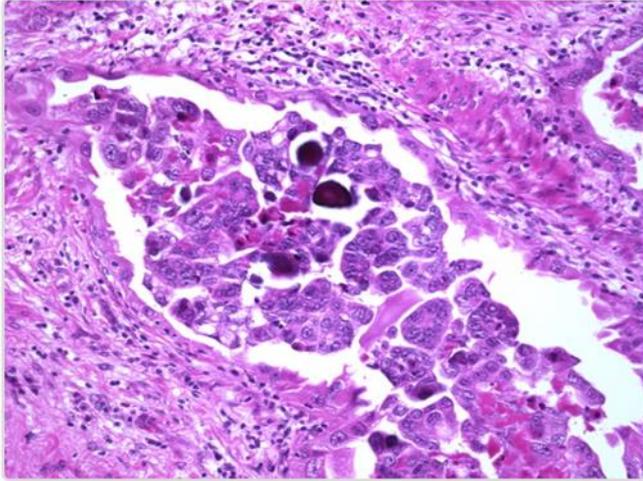
- Adenocarcinoma endometriode: varianti di adenocarcinoma (con differenziazione squamosa; variante secretoria; variante villoghiandolare; e variante a cellule ciliate).
- Adenocarcinoma mucinoso.
- Adenocarcinoma sieroso.
- Adenocarcinoma a cellule chiare.
- Carcinoma indifferenziato.
- Tumori neuroendocrini.
- Carcinoma misto (carcinoma composto da più di un tipo, con almeno il 10% di ogni componente).

## Adenocarcinoma endometriode



E' il tipo istologico più comune di carcinoma endometriale e rappresenta oltre il 75 % dei casi. Questo tumore di tipo I contiene tipicamente ghiandole che ricordano quelle dell'endometrio normale. La concomitante presenza di endometrio iperplastico è correlata a un tumore di basso grado e alla mancanza di invasione miometriale. Tuttavia, quando la componente ghiandolare diminuisce e viene sostituita da aree solide di cellule maligne, il tumore viene classificato come di grado superiore [99]. Inoltre, un endometrio atrofico è più frequentemente associato a lesioni di alto grado che hanno un maggiore potenziale di metastatizzazione [102]. Gli adenocarcinomi endometrioidi possono presentare diverse varianti. Queste includono l'adenocarcinoma endometriode con differenziazione squamosa o i tipi villoghiandolari o secretori. In generale, il comportamento biologico di queste varianti riflette quello dell'adenocarcinoma endometriode classico.

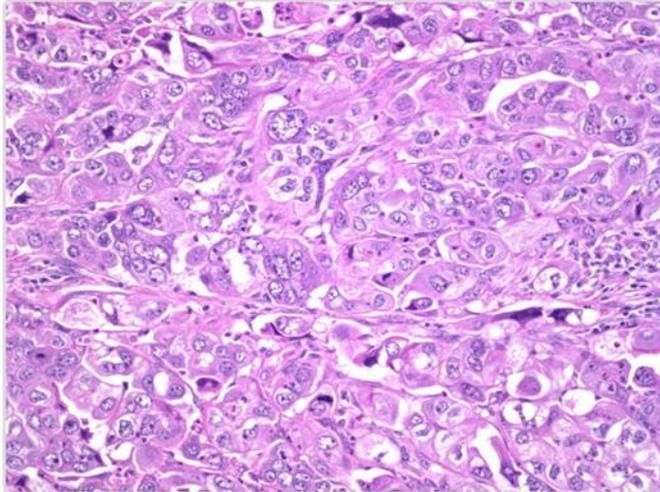
## Carcinoma sieroso



Il carcinoma sieroso, che rappresenta dal 5 al 10 per cento dei tumori dell'endometrio, caratterizza i tumori di tipo II altamente aggressivi che derivano dall'endometrio atrofico delle donne più anziane [103]. Vi è tipicamente un modello complesso di crescita papillare e le cellule dimostrano una marcata atipia nucleare. Comunemente indicato come carcinoma sieroso papillare uterino (UPSC), il suo aspetto istologico ricorda il carcinoma ovarico epiteliale e i corpi psammomatosi si vedono nel 30 per cento dei casi. Generalmente, il tumore è esofitico con un aspetto papillare che emerge da un piccolo utero atrofico. Questi tumori possono, occasionalmente, essere confinati all'interno di un polipo e senza alcuna evidenza di diffusione [104]. Tuttavia, l'UPSC ha una propensione nota per l'invasione miometriale e linfatica. La diffusione intraperitoneale, come l'agglomerazione omentale, che è insolita per l'adenocarcinoma endometriode tipico, è comune anche quando l'invasione miometriale è minima o assente [105]. Di conseguenza, potrebbe essere impossibile distinguere l'UPSC dal carcinoma ovarico epiteliale durante l'intervento chirurgico. Come il carcinoma ovarico, questi tumori di solito secernono CA125. Pertanto, le misurazioni sieriche seriali possono essere utili marker per monitorare la malattia dopo l'intervento. L'UPSC ha un tipo di cellula aggressiva e le donne con tumori endometriali misti contenenti solo il

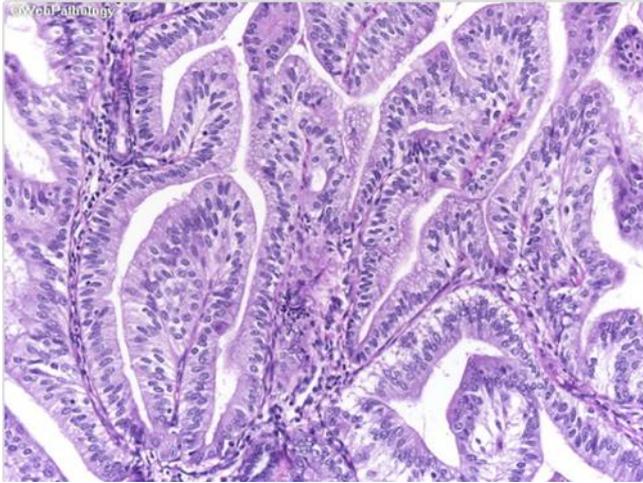
25 % di UPSC hanno la stessa sopravvivenza di quelle con carcinoma sieroso uterino puro [106].

### **Carcinoma a cellule chiare**



Meno del 5% dei tumori endometriali è rappresentato dalla variante a cellule chiare, tuttavia quest'ultimo è l'altro principale tumore di tipo II [107]. L'aspetto microscopico può essere prevalentemente solido, cistico, tubulare o papillare. Più frequentemente, consiste in una miscela di due o più di questi patterns. Gli adenocarcinomi endometriali a cellule chiare sono simili a quelli che si hanno nell'ovaio, nella vagina e nella cervice. In sostanza, non ci sono caratteristiche distintive, ma come l'UPSC, tendono ad essere tumori di alto grado, profondamente invasivi. Alle pazienti viene spesso diagnosticata una malattia in stadio avanzato con prognosi sfavorevole [108].

## Carcinoma mucinoso



L'1-2% dei tumori dell'endometrio ha un aspetto mucinoso che costituisce più della metà del tumore. Tuttavia, molti adenocarcinomi endometrioidi hanno questo aspetto come componente focale [109]. In genere, hanno un modello ghiandolare con cellule colonnari uniformi e una stratificazione minima. Quasi tutti sono lesioni di tipo I, di grado 1 e presentano una buona prognosi [110]. Poiché l'epitelio endocervicale si fonde con il segmento uterino inferiore, il principale dilemma diagnostico è la differenziazione di questo tumore da un adenocarcinoma cervicale primario. L'immunocolorazione può essere utile e la Risonanza Magnetica può chiarire ulteriormente il sito di origine più probabile. In generale, per definire l'anatomia, la RM è preferibile alla scansione TC, poiché la RM offre una risoluzione di contrasto superiore alle interfacce dei tessuti molli.

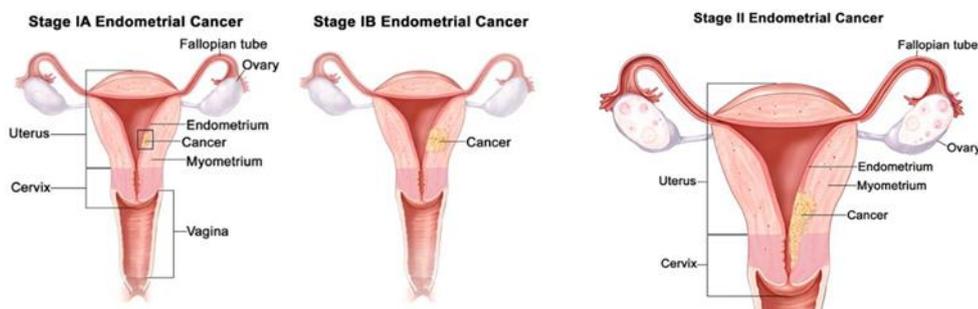
### **Carcinoma misto, carcinoma indifferenziato e tipi rari.**

Un carcinoma endometriale può dimostrare combinazioni di due o più tipi puri. Per essere classificato come carcinoma misto, un componente deve costituire almeno il 10 per cento del tumore. Ad eccezione dell'istologia a cellule sierose e chiare, la combinazione di altri tipi, di solito, non ha alcun significato clinico. Di conseguenza, il carcinoma misto, di solito, si riferisce a una miscela di un carcinoma di tipo I e di tipo II [101]. Il carcinoma indifferenziato manca di differenziazione architettónica ed è caratterizzato da cellule epiteliali di medie dimensioni, monotone, che crescono in masse solide senza uno specifico pattern [36]. Questi rappresentano dall'1 al 2 % dei carcinomi endometriali. Nel complesso, la prognosi è peggiore rispetto alle pazienti con adenocarcinomi endometrioidi scarsamente differenziati [111]. Dei rari tipi istologici, sono stati riportati meno di 100 casi di carcinoma dell'endometrio a cellule squamose. La diagnosi richiede l'esclusione di una componente di adenocarcinoma e nessuna connessione con l'epitelio squamoso della cervice uterina [112]. In genere, la prognosi è negativa [113]. Anche il carcinoma a cellule transizionali dell'endometrio è raro e la malattia metastatica della vescica o dell'ovaio deve essere esclusa durante la diagnosi [114].

## 9. PATTERN DI DIFFUSIONE

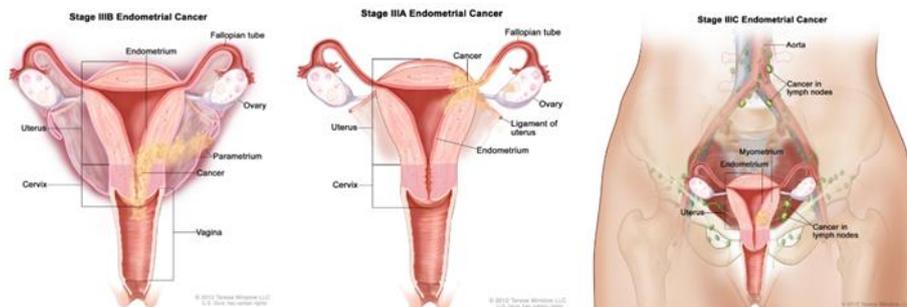
I tumori endometriali hanno diversi modi di diffondersi oltre l'utero [115]. I tumori endometrioidi di tipo I e le loro varianti diffondono più comunemente, in ordine di frequenza, per: 1 estensione diretta, 2 metastasi linfatiche, 3 diffusione ematogena e 4 esfoliazione intraperitoneale. I carcinomi sierici e a cellule chiare di tipo II hanno una particolare propensione per la malattia extrauterina, secondo un modello che ricorda il carcinoma ovarico epiteliale. In generale, i vari modelli di diffusione sono correlati tra loro e spesso si sviluppano contemporaneamente.

L'invasione dello stroma endometriale e l'espansione esofitica all'interno della cavità uterina seguono la crescita iniziale di un tumore precoce. Con il tempo, il tumore invade il miometrio e può infine perforare la sierosa. I tumori situati nel segmento uterino inferiore tendono a coinvolgere precocemente la cervice uterina, mentre quelli nel corpo superiore tendono ad estendersi alle tube di Falloppio o alla sierosa. La crescita regionale avanzata può portare all'invasione diretta delle strutture pelviche adiacenti, tra cui la vescica, l'intestino crasso, la vagina e il legamento largo.

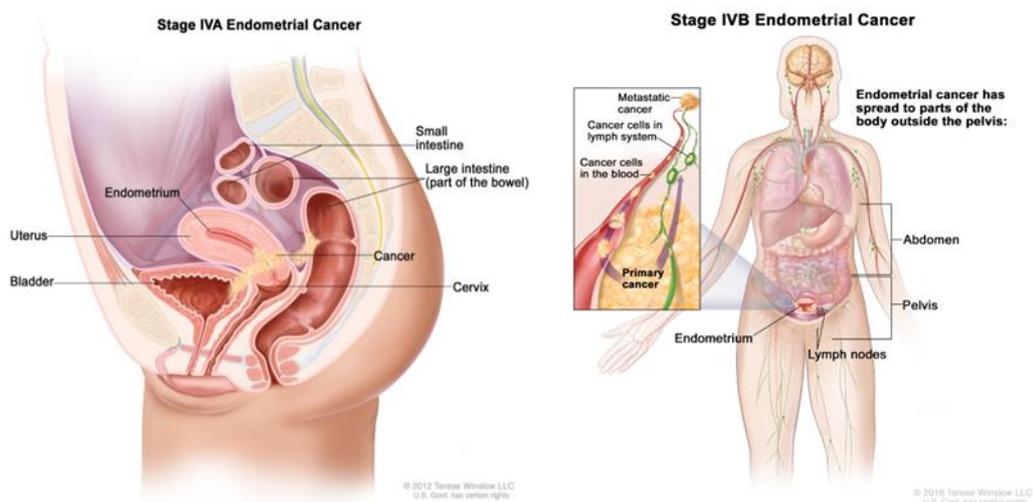


L'invasione dei vasi linfatici e le metastasi ai linfonodi pelvici e paraortici può seguire l'invasione tumorale del miometrio. La rete linfatica che drena l'utero

è complessa e le pazienti possono avere metastasi a qualsiasi singolo gruppo linfonodale o combinazione di gruppi [116].



Questo modello casuale è in contrasto con il cancro della cervice uterina, in cui la diffusione linfatica, di solito, segue una progressione graduale dai linfonodi pelvici a quelli para-aortici a quelli scaleni. La diffusione ematogena provoca più comunemente metastasi al polmone e meno comunemente a fegato, cervello, ossa e altri siti. L'invasione miometriale profonda è il più forte predittore di questo pattern di diffusione [117]. Il trasporto retrogrado trans-tubarico delle cellule tumorali endometriali esfoliate porta le cellule maligne nella cavità peritoneale.



La perforazione della sierosa da parte del tumore è un'altra possibile via. La maggior parte dei tipi di cellule tumorali endometriali presenti nella cavità peritoneale scompare in breve tempo e ha un basso potenziale maligno [118]. In alternativa, in presenza di altre caratteristiche ad alto rischio, come le metastasi annesse o l'istologia sierosa, può risultarne una malattia intra-addominale diffusa.

Le metastasi port-site sono un metodo raro ma possibile per la diffusione del cancro. Martínez e collaboratori [119] hanno valutato quasi 300 procedure di stadiazione laparoscopica per il carcinoma endometriale. Le metastasi port-site complicano lo 0,33 per cento dei casi. Analogamente, è stata riportata la diffusione del cancro in seguito alla morcellazione del campione [120].

## 10. STADIAZIONE

La stadiazione del tumore dell'endometrio si basa sulla valutazione anatomicopatologica e non clinica della malattia. Sono state redatte due classificazioni: la stadiazione FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) [121] e la stadiazione AJCC (American Joint Committee on Cancer) [122].

### 10.1 Classificazione FIGO

La stadiazione FIGO del 2009 è quella più largamente utilizzata (Figura 2). La stadiazione FIGO non tiene in considerazione il grado di differenziazione cellulare (G1-2-3), l'istotipo e l'infiltrazione degli spazi linfovaskolari, che rimangono fattori prognostici indipendenti, così come il volume tumorale  $\leq 2$  cm o  $> 2$  cm [123].

La rilevanza prognostica della citologia peritoneale è ancora dibattuta e, nella nuova stadiazione, l'eventuale positività deve essere segnalata senza per questo modificare l'allocatione nello stadio.

**Figura 2:** Adenocarcinoma endometriale -Stadiazione FIGO 2009

<b>Stadio I</b>		<b>Tumore limitato al corpo dell'utero</b>
	<b>IA</b>	Nessuna infiltrazione o $< 1/2$ del miometrio
	<b>IB</b>	Infiltrazione $> 1/2$ del miometrio
<b>Stadio II</b>		<b>Tumore esteso allo stroma cervicale, ma non fuori dall'utero</b>
<b>Stadio III</b>		<b>Estensione locale o regionale</b>
	<b>IIIA</b>	Estensione alla sierosa uterina, o alle ovaie
	<b>IIIB</b>	Estensione alla vagina o ai parametri
	<b>IIIC</b>	Estensione ai linfonodi pelvici o lombo-aortici
	<b>IIIC1</b>	Linfonodi pelvici positivi
	<b>IIIC2</b>	Linfonodi lombo-aortici positivi, indipendentemente dai pelvici
<b>Stadio IV</b>		<b>Estensione alla mucosa vescicale o intestinale o metastasi a distanza</b>
	<b>IV A</b>	Estensione alla mucosa vescicale o intestinale
	<b>IV B</b>	Metastasi a distanza

## ***10.2 Classificazione AJCC***

La stadiazione AJCC [124] è qui riportata per completezza ma poco utilizzata. Il sistema AJCC classifica il tumore del corpo dell'utero sulla base di tre fattori:

- L'estensione del tumore (T);
- Coinvolgimento linfonodale (N);
- Presenza di metastasi a distanza (M);

Comprende il tumore in situ (Tis), non classificato nel sistema FIGO.

**TX:** tumore primitivo non definibile

**T0:** tumore primitivo non evidenziabile

**Tis:** carcinoma in situ

**T1:** tumore limitato al corpo dell'utero

- T1a: tumore confinato all'endometrio o invade meno della metà del miometrio
- T1b: tumore invade la metà o più del miometrio

**T2:** tumore invade la cervice, ma non si estende al di fuori dell'utero

**T3:** diffusione locale e/o regionale del tumore

- T3a: il tumore invade la sierosa e/o gli annessi (estensione diretta e/o metastasi). La citologia peritoneale positiva non modifica lo stadio
- T3b: interessamento della vagina (estensione diretta o metastasi) o parametri

**T4:** invasione della mucosa della vescica e/o intestinale (La presenza di edema bolloso non è sufficiente per classificare la neoplasia T4)

**Nx:** metastasi linfonodali non valutabili

**N0:** assenza di metastasi nei linfonodi regionali

**N1:** metastasi ai linfonodi regionali (linfonodi pelvici)

**N2:** metastasi ai linfonodi regionali paraortici, senza o con positività dei linfonodi pelvici

**Mx:** metastasi a distanza non valutabili

**M0:** assenza di metastasi a distanza

**M1:** presenza di metastasi a distanza (include metastasi ai linfonodi inguinali, intraperitoneo, polmone, fegato o osso. Sono escluse le metastasi ai linfonodi para-aortici, vagina, sierosa pelvica, o annessi)

## 11. SCREENING E PREVENZIONE

Attualmente lo screening di massa su una popolazione asintomatica in età premenopausale e postmenopausale per la diagnosi precoce di carcinoma endometriale non è attuabile. Studi condotti su prelievo escocervicale hanno dimostrato una frequenza di falsi negativi di circa il 40-50% in quanto le cellule endometriali esfoliate, avendo subito l'azione dell'ambiente vaginale, presentano alterazioni per cui perdono le caratteristiche che permettono la differenziazione della cellula tumorale da quella normale. D'altro canto la prognosi è strettamente legata alla precocità della diagnosi, infatti la sopravvivenza a 5 anni diminuisce drasticamente dal 78-98% in caso di diagnosi allo stadio I fino ad un 3-10% in caso di diagnosi in stadio IV. [125]

Lo screening è raccomandato solo per i gruppi ad alto rischio, come quelli con la sindrome di Lynch di tipo 2 con desiderio di preservare la fertilità, prima dell'isterectomia profilattica eseguita in età più avanzata. [126] In questi casi, la sorveglianza endometriale viene eseguita mediante biopsia e ecografia transvaginale a partire dall'età di 35 anni (ogni anno fino all'isterectomia). La chirurgia profilattica (isterectomia e salpingo-ovariectomia bilaterale), preferibilmente con approccio minimamente invasivo, dovrebbe essere valutata come opzione all'età di 40 anni per i portatori di mutazione della sindrome di Lynch di tipo 2 per prevenire il carcinoma endometriale e ovarico. [127]

La maggior parte dei casi di carcinoma endometriale non può essere prevenuta, ma la riduzione dei fattori di rischio e l'introduzione di fattori protettivi nello stile di vita, quando possibile, possono ridurre il rischio di sviluppare la malattia. Tutte le donne dovrebbero essere informate dei rischi e dei sintomi del carcinoma dell'endometrio ed essere fortemente incoraggiate ad impegnarsi in una regolare attività fisica e ad adottare uno stile di vita attivo che possa aiutare a raggiungere e mantenere un peso ideale, oltre a

ridurre altri fattori di rischio per il carcinoma endometriale come l'ipertensione arteriosa e il diabete. L'uso di contraccettivi orali combinati è associato in modo significativo ad una diminuzione del carcinoma endometriale in tutte le utenti, il beneficio aumenta con l'aumentare della durata del trattamento. [128]

## 12. DIAGNOSI

Sia l'iperplasia endometriale che il carcinoma vengono diagnosticati più comunemente in seguito a sanguinamento uterino anomalo. Il sanguinamento uterino anomalo nella popolazione in premenopausa include uno spettro di disturbi che possono includere menorragia, metorragia e oligomenorrea [129].

In ogni donna che lamenti una perdita ematica vaginale anomala, il primo esame da eseguire è l'ecografia trans-vaginale (TVS, Trans-Vaginal Sonography) [128]. Tale esame permette di valutare lo spessore endometriale (sospetto se  $>5\text{mm}$  in postmenopausa, in periodo fertile può variare tra 1 e 14 mm in funzione del periodo del ciclo mestruale) e la eventuale presenza di ispessimenti focali. L'aggiunta del color e del power Doppler rende possibile studiare con accuratezza la perfusione ematica dell'endometrio normale e dei processi espansivi a suo carico [130].

La diagnosi di iperplasia endometriale atipica e di carcinoma endometriale si basa essenzialmente sulla valutazione del tessuto endometriale ottenuto attraverso prelievi biotipici mirati +/- associati a isteroscopia.

Dopo una diagnosi istopatologica dell'adenocarcinoma endometriale, è necessario valutare altri fattori. Questi includono l'estensione locale del tumore, l'evidenza di malattia metastatica e il rischio perioperatorio.

Una radiografia del torace viene spesso eseguita in quanto è un esame a basso costo universalmente disponibile e le conseguenze del rilevamento delle metastasi polmonari, sebbene rare nella malattia in stadio iniziale, sono significative. Il CA125 sierico può essere utile nella malattia avanzata per il follow-up.

La RM con mezzo di contrasto paramagnetico è in grado di stadiare in maniera completa il carcinoma dell'endometrio, consentendo di valutare il grado di infiltrazione miometriale con una sensibilità dell'87%, l'infiltrazione dello stroma della cervice con una sensibilità dell'80% e delle pareti della vagina. Permette inoltre di valutare l'infiltrazione del tessuto adiposo dei parametri e la presenza di linfadenomegalie pelviche o lombo-aortiche in una sola metodica con un'accuratezza del 76% [131].

La TC presenta scarsa accuratezza diagnostica rispetto alla RMN nella valutazione dell'utero ma risulta utile nella valutazione delle eventuali sedi di malattia extra-uterine (TC addome utile nello studio dei linfonodi e del fegato).

In aggiunta alle modalità di imaging morfologiche, è stata recentemente proposta per lo studio del carcinoma endometriale la Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) con F-18 fluorodeossiglucosio (FDG). Tale metodica è impiegata sia per la rilevazione di metastasi linfonodali (N) [132,133] durante la valutazione pre chirurgica che nel follow up post operatorio [134], sebbene non sia da considerare nella normale pratica clinica. La scintigrafia ossea è limitata ai casi clinicamente sospetti di localizzazione ossea.

## 13. TRATTAMENTO

### *13.1 Iperplasia endometriale atipica*

L'isterectomia è il trattamento preferito per le donne con iperplasia endometriale atipica poiché, nel tempo, il rischio di progressione verso il cancro si avvicina al 29%. Vi è anche un alto tasso di individuazione di neoplasie invasive concomitanti, coesistenti con l'iperplasia atipica. [135,136] Gli specialisti in ginecologia e ostetricia che eseguono l'isterectomia per l'iperplasia endometriale atipica dovrebbero conoscere la possibilità di coesistenza con neoplasie invasive e l'eventuale necessità di una stadiazione chirurgica, per cui sarebbero indicati lavaggi peritoneali prima di eseguire un'isterectomia.

Il trattamento standard dell'iperplasia atipica associato alla migliore sopravvivenza è rappresentato dall'isterectomia totale extrafasciale, la salpingo-ovariectomia bilaterale e l'opzionale stadiazione linfonodale. [127]

### *13.2 Carcinoma endometriale*

#### *Stadio I*

L'approccio chirurgico standard per il trattamento del carcinoma dell'endometrio in stadio I è rappresentato dall'isterectomia extrafasciale e dall'annessiectomia bilaterale, con o senza linfadenectomia. Le vie di accesso chirurgico sono la via laparotomica, la via laparoscopica ± assistenza vaginale, la via vaginale ± assistenza laparoscopica, la via "robotica" di più recente introduzione. [137-139]

E' dal 1990 che il ruolo della linfadenectomia in questo gruppo di pazienti è oggetto di discussione. Da uno studio randomizzato italiano condotto su 514

pazienti con carcinoma dell'endometrio in stadio I (venivano esclusi gli stadi IA–IB G1 secondo la stadiazione FIGO 1998 e gli istotipi speciali) è emerso che la linfadenectomia non determina un vantaggio in termini di sopravvivenza libera da malattia (81.0% vs 81.7% a 5 anni, rispettivamente nel braccio con e senza e sopravvivenza globale (85.9% vs 90.0% a 5 anni) [140].

Un'ulteriore conferma di questi dati emerge dall'analisi dei risultati dello studio ASTEC, dove la linfadenectomia pelvica, non ha dimostrato un beneficio in termini di sopravvivenza globale e intervallo di tempo libero da malattia [141]. Alcuni autori suggeriscono di considerare una stadiazione chirurgica completa nelle pazienti con rischio intermedio-alto (stadio IA G3 e IB, FIGO 2009) per identificare quelle pazienti che richiedono un trattamento adiuvante postoperatorio. L'estensione della linfadenectomia è stata valutata in un ampio studio retrospettivo pubblicato nel 2010 che ha confrontato la linfadenectomia pelvica vs linfadenectomia pelvica e paraortica (studio SEPAL). Dai dati emersi, le pazienti ad alto rischio hanno beneficiato di una linfadenectomia pelvica e lomboaortica in termini di sopravvivenza globale [142-146].

La biopsia del linfonodo sentinella ha mostrato una buona performance diagnostica e potrebbe rappresentare un buon compromesso tra l'esecuzione di una stadiazione chirurgica completa e l'omissione di una linfadenectomia sistematica. In particolare, la biopsia del linfonodo sentinella sarebbe in grado di ridurre la morbilità potenzialmente derivabile dall'esecuzione di una linfadenectomia sistematica, e la sua 'ultra- stadiazione' consentirebbe l'individuazione di micrometastasi linfonodali spesso non diagnosticate con l'esame istologico convenzionale.

## *Stadio II*

In questo gruppo di pazienti, l'approccio chirurgico consiste nell'isterectomia radicale in presenza di coinvolgimento evidente del parametrio [147]. La chirurgia deve essere modulata in accordo alla recente classificazione dell'isterectomia radicale per ottenere margini liberi da neoplasia. L'isterectomia semplice con annessiectomia può essere presa in considerazione. Per la linfadenectomia valgono le stesse considerazioni riportate in precedenza per lo stadio I [137].

#### *Stadio III-IV*

Nelle pazienti con malattia diffusa / metastatica, l'approccio chirurgico ha un ruolo palliativo, poiché il trattamento di scelta è quello chemioterapico sistemico con carboplatino e paclitaxel. Alcuni autori suggeriscono di considerare il massimo sforzo chirurgico nelle pazienti con un buon performance status analogamente a quanto viene fatto nel carcinoma dell'ovaio [148-150].

Qualora la chirurgia non sia fattibile a causa di controindicazioni mediche (5-10% delle pazienti), accanto al trattamento medico con carboplatino e paclitaxel può essere preso in considerazione un trattamento radioterapico esterno, con o senza brachiterapia, per il controllo locale di malattia.

#### *Terapia adiuvante*

Ad oggi, l'indicazione per una radioterapia adiuvante è basata sulla presenza di fattori di rischio. Una malattia con basso rischio (stadio I, G1 o 2 con invasione miometriale assente o superficiale) o nei casi in cui sia presente un singolo fattore di rischio, non è indicata radioterapia adiuvante. Per le pazienti con cancro a rischio intermedio o intermedio alto (almeno due fattori di rischio tra: età <60 anni, invasione miometriale profonda, G3, istologia sierosa o a cellule chiare, LVSI), la brachiterapia è preferibile alla radioterapia a fasci esterni, in termini di controllo locale senza alcun impatto significativo sulla qualità della vita. Nello stadio I-II a più alto rischio (grado 3 e invasione

profonda e/o LVSI, istologia sfavorevole, marker molecolari sfavorevoli), la radioterapia a fasci esterni rimane la prima scelta terapeutica. Tuttavia, la necessità di radioterapia a fasci esterni si riduce quando lo staging chirurgico mostra linfonodi negativi. Lo staging chirurgico permette anche di identificare i casi con linfonodi positivi (stadio III) che necessitano di terapia adiuvante. Per il carcinoma endometriale stadio III, la combinazione di chemioterapia adiuvante e radioterapia sembra più efficace nell' aumentare la sopravvivenza libera da malattia.

### ***13.3 Work-up per la terapia fertility-sparing***

La diagnosi di carcinoma endometriale in giovani donne in età fertile è rara. Sebbene il carcinoma endometriale sia la neoplasia ginecologica più comune nei paesi sviluppati, la sua incidenza in età fertile è meno del 20% e questa percentuale scende a meno del 5% per le donne di età inferiore ai 40 anni [151]. Il cambiamento del concetto di età concezionale negli ultimi anni rende però non più aneddótico il numero di donne nullipare desiderose di prole a cui può essere diagnosticato un carcinoma dell'endometrio e che richiedono una preservazione della fertilità, anche alla luce delle moderne tecniche di Riproduzione Assistita. Il tumore endometriale di tipo endometrioidale limitato all'endometrio (stadio IA secondo la moderna classificazione FIGO, ma senza infiltrazione miometriale, quindi con una sottocategoria dello stesso stadio corrispondente allo stadio IA della precedente classificazione) ha un rischio inferiore all'1% di avere dei linfonodi positivi (con le sopravvivenze descritte sopra). Risulta anche importante, ai fini prognostici, la differenziazione della neoplasia in quanto le neoplasie G1 tendono a rispondere al trattamento adiuvante ormonale con progestinici. È quindi a queste pazienti che dovrebbe essere riservato il programma di fertility sparing: il problema si concentra

sulla corretta diagnosi e stadiazione per la selezione di pazienti con tali caratteristiche. Le pazienti devono essere informate che l'approccio fertility sparing è un trattamento non standard, e che devono essere disposte ad accettare uno stretto follow-up durante e dopo il trattamento, che in caso di fallimento del trattamento o recidiva precoce va presa in considerazione l'isterectomia, cosa che deve essere anche suggerita dopo una eventuale gravidanza.

La gestione conservativa del carcinoma endometriale si basa sul trattamento medico con progestinici. I progestinici più utilizzati e descritti in letteratura sono rappresentati dal medrossiprogesterone acetato e megestolo acetato; sono state utilizzate anche altre terapie come gli analoghi del GnRH, idrossiprogesterone, letrozolo, tamoxifene, contraccettivi orali e spirale al Levonorgestrel. Esistono anche alcuni lavori in letteratura che propongono la resettoscopia isteroscopica del tumore combinata o a progestinici orali o al posizionamento di IUD medicata. La dose ottimale del progestinico non è ancora stata identificata. Nei vari studi vengono utilizzate dosi che vanno da 100 a 1200 mg/die per il medrossiprogesterone acetato e da 40 a 600 mg/die per il megestolo acetato. [152-153]

È stato dimostrato che la maggior parte dei pazienti risponde entro 6 mesi dal trattamento (circa 75%) con solo un piccolo beneficio aggiuntivo per il prolungamento del trattamento fino a 12 mesi. [154]

Dopo l'inizio del trattamento la valutazione nel follow-up va valutata ogni 3-6 mesi mediante isteroscopia ed adeguata biopsia fino all'ottenimento della gravidanza anche mediante tecniche di PMA. [155,156] Una volta ottenuta la gravidanza va suggerita l'isterectomia totale con salpingectomia bilaterale ed opzionale ovariectomia bilaterale.

Qualora la terapia non avesse efficacia e non vi fosse risposta patologica dovrebbe essere suggerita l'isterectomia o salpingectomia bilaterale.

L'annessiectomia bilaterale può essere omessa qualora la paziente sia giovane (<45 anni), e senza segni di malattia extrauterina.

Il tasso di recidiva dopo terapia conservativa per carcinoma dell'endometrio è riportato tra il 30% e 40% con un tempo mediano di manifestazione di 12-18 mesi ed un range tra 4 e 66 mesi. Sembra che la recidiva aumenti in relazione al tempo per almeno 5 anni. [157]

### ***13.4 Marcatori predittivi della risposta al trattamento conservativo***

Una percentuale considerevole di pazienti non risponde al trattamento conservativo o mostra recidive dopo una iniziale remissione, con il conseguente rischio di progressione a malattia invasiva. Per tale ragione negli ultimi anni sono stati condotti numerosi studi circa gli aspetti clinici, di imaging, istologici e molecolari che potrebbero influenzare l'esito del trattamento. L'immunoistochimica ha giocato un ruolo maggiore in questo ambito. Sebbene sia stato valutato un gran numero di marcatori immunoistochimici, la loro utilità non è ancora chiara.

La ricerca di marker predittivi sulla biopsia pretrattamento ha l'interessante scopo di identificare preventivamente i casi di mancata risposta al trattamento conservativo, evitando il rischio di progressione della malattia legato ad una terapia inefficace. Nonostante il gran numero di marker valutati, solo per pochi di essi sono state trovate associazioni significative.

I marker predittivi più studiati nella fase di pretrattamento sono i recettori del progesterone e degli estrogeni. Nonostante i risultati al riguardo siano variabili, una alta espressione di questi recettori è predittiva di buona risposta al trattamento in numerosi studi. Inoltre le isoforme di tali recettori, in particolare il recettore B del progesterone, sembrano più promettenti. La perdita di PTEN sembra infatti predire una scarsa risposta al trattamento conservativo solo se associata a bassa espressione di phospho-AKT; al

contrario la perdita isolata di PTEN non ha significato. Per quanto riguarda le proteine del mismatch repair (MMR), un anomalo pattern di espressione (incluso MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) predice in maniera forte una scarsa risposta al trattamento. MLH1 considerato singolarmente non è significativo. Una alta espressione di Dusp6 sembra associata a buona risposta al trattamento, al contrario una alta espressione di GRP78 è predittiva di scarsa risposta.

La valutazione dei marcatori post-trattamento e dei loro cambiamenti durante il follow up ha lo scopo di valutare l'efficacia della terapia e di indagare i meccanismi di azione e resistenza. A questo proposito, la previsione della risposta individuale in una fase precoce della terapia può consentire di adattare la tempistica del follow up e, se necessario, di modificare il trattamento.

Nella fase di follow-up, PR, ER e le loro isoforme sembrano mostrare una down regolazione nei casi di buona risposta, una espressione stabile nei casi di mancata risposta al trattamento. Nei casi di buona risposta, si osserva una aumentata espressione di Fas, NCoR, Bcl2 stromale e Dusp6, e una ridotta espressione di Bcl2, survivin, Ki67, HE4 e SPAG9. Nei casi di mancata risposta, si osserva una aumentata espressione di GRP78, Nrf2 e AKR1C1, survivin, PAX2 e perdita di PTEN associata ad alta espressione di phospho-mTOR.

In conclusione, PR e ER sono stati i marker predittivi più studiati sia nella fase di pre-trattamento che di follow-up, mostrando risultati contrastanti. Lo studio delle isoforme PR e ER può portare a risultati migliori; PRB è apparso come il più promettente. MMR, Dusp6, GRP78 e PTEN combinato con phospho-AKT o phospho-mTOR hanno mostrato risultati significativi, ma sono necessari ulteriori studi per definire la loro accuratezza. [158]

## **SEZIONE SPERIMENTALE**

## 1. INTRODUZIONE

L'iperplasia endometriale è una lesione caratterizzata da ghiandole endometriali a proliferazione irregolare [1,2]. In assenza di atipia citologica, l'iperplasia endometriale è considerata una proliferazione benigna dovuta a un'azione squilibrata degli estrogeni [1,2]. D'altra parte, l'iperplasia endometriale atipica (AEH) è considerata una lesione precancerosa e precursore del carcinoma endometrioide [1,2]. Per questo motivo, il trattamento di scelta per l'AEH è l'isterectomia totale con salpingo-ovariectomia bilaterale [3]. Tuttavia, in caso di AEH e di carcinoma endometriale endometrioide precoce ben differenziato limitato all'endometrio (EEC) allo stadio FIGO Ia, può essere adottato un approccio conservativo nelle giovani donne che desiderano preservare la loro fertilità o nelle donne ad alto rischio chirurgico [3,4]. I criteri di ammissibilità per il trattamento conservativo dell'EEC sono: istotipo endometrioide, di basso grado, nessuna invasione miometriale, nessuna invasione dello spazio linfovascolare, nessun coinvolgimento cervicale o annessiale [4]. Diversi trattamenti conservativi sono stati utilizzati per l'AEH e l'EEC [5]. Tra i progestinici, il dispositivo intrauterino a rilascio di levonorgestrel (LNG-IUD) è apparso il più efficace [6-8]. Inoltre, la combinazione di resezione isteroscopica con progestinici si è dimostrata più efficace dei soli progestinici [8-10]. Tuttavia, una percentuale variabile di pazienti non mostra alcuna risposta al trattamento conservativo o recidiva dopo una risposta iniziale, il che implica un rischio di progressione verso la malattia mioinvasiva [11,12].

Sono stati studiati diversi marker clinici e patologici per identificare le donne che non risponderanno al trattamento [11-16]. Tuttavia, attualmente non esistono marcatori clinici o patologici affidabili da utilizzare nella pratica clinica per prevedere la risposta dell'AEH e dell'EEC al trattamento

conservativo. Tra i marcatori immunoistochimici più promettenti, una debole espressione della fosfatasi 6 a doppia specificità (Dusp6) nell'AEH e nell'EEC è stata associata alla resistenza ai progestinici [11,17]. Tuttavia, l'accuratezza predittiva di Dusp6 non è ancora stata definita, così come la soglia di espressione di Dusp6 che dovrebbe discriminare tra responder e non responder.

Lo scopo di questo studio è dunque di valutare il valore predittivo di Dusp6 su una coorte selezionata di pazienti con AEH o EEC trattati in modo conservativo, che siano omogenei per età (<50 anni), diagnosi patologica (AEH e EEC), tipo di trattamento (resezione isteroscopica più inserimento LNG-IUD) e tempo di follow-up (almeno 1 anno). Al fine di definire l'applicabilità clinica di Dusp6 come marker predittivo di risposta al trattamento conservativo dell'AEH o dell'EEC, ci siamo anche proposti di calcolarne l'accuratezza predittiva e di definire criteri immunoistochimici per la sua interpretazione.

## 2. MATERIALI E METODI

### *2.1 Protocollo di studio*

Il protocollo che definisce i metodi di studio è stato definito a priori. Lo studio è stato progettato come uno studio osservazionale a singolo centro che valuta una coorte retrospettiva, seguendo le linee guida e la checklist STROBE [18].

Abbiamo esaminato le cartelle cliniche e i reports patologici di tutte le pazienti fino a 45 anni di età, con diagnosi di AEH o EEC sottoposte a trattamento conservativo con resezione isteroscopica seguita da inserimento di dispositivo intrauterino (LNG-IUD) a rilascio di levonorgestrel presso il Dipartimento di Neuroscienze, Scienze riproduttive e odontoiatria e presso il Dipartimento di Sanità Pubblica dell'Università Federico II, Napoli, Italia, da gennaio 2007 a giugno 2019.

I vetrini istologici di tutte le pazienti che soddisfacevano i criteri di selezione sono stati rivisti al fine di confermare la diagnosi iniziale di AEH e EEC. Dai blocchi di paraffina della biopsia endometriale pre-trattamento sono state ottenute nuove sezioni istologiche per la valutazione immunohistochimica dell'espressione di Dusp6. Infine, è stata valutata l'associazione tra l'espressione di Dusp6 e ciascun esito del trattamento conservativo, nonché l'accuratezza dell'espressione immunohistochimica di Dusp6 nella previsione della risposta al trattamento.

In base a criteri di selezione definiti a priori, abbiamo escluso: pazienti trattate con isterectomia, pazienti con un periodo di follow-up <1 anno; pazienti che non hanno fornito un consenso informato scritto per l'uso dei propri campioni biologici a fini di ricerca; pazienti senza tessuto disponibile per immunohistochimica ad hoc.

La gestione pre-operatoria, il trattamento e il follow-up sono stati eseguiti come precedentemente descritto [8].

## *2.2 Outcomes dello studio*

Gli outcomes dello studio sono stati:

- l'associazione di una debole espressione immunoistochimica di Dusp6 con la mancata regressione dell'AEH o dell'EEC dopo il trattamento conservativo;
- l'associazione di una debole espressione immunoistochimica di Dusp6 con la recidiva dell'AEH o dell'EEC dopo una regressione iniziale al trattamento conservativo;
- l'accuratezza di una debole espressione immunoistochimica di Dusp6 nella previsione dell'esito del trattamento conservativo che ha mostrato una significativa associazione con l'espressione di Dusp6.

La regressione dell'AEH o dell'EEC è stata definita come l'assenza delle lesioni pre-trattamento all'esame istologico di due biopsie isteroscopiche di follow-up consecutive; la mancata regressione della malattia è stata definita come l'assenza di una regressione 12 mesi dopo l'inizio del trattamento. La recidiva della malattia è stata definita come la presenza dell'AEH o dell'EEC dopo una precedente regressione.

L'espressione immunoistochimica di Dusp6, nucleare e citoplasmatica, è stata dicotomizzata come "debole" e "forte" in base all'intensità dell'immunocolorazione. In particolare, è stato considerato "forte" nel caso di immunocolorazione da moderata a intensa in > 50% delle cellule nelle ghiandole della lesione.

### ***2.3 Metodi istologici e immunoistochimici***

Le procedure istologiche e immunoistochimiche sono state eseguite come precedentemente descritto [8,20]. Per la valutazione immunoistochimica dell'espressione di Dusp6 è stato utilizzato un anticorpo monoclonale di coniglio anti-Dusp6 (diluizione 1/100; Abcam, clone EPR129Y). Gli esami istologici sono stati eseguiti da due autori (LI e AT) e le controversie sono state risolte mediante discussione al microscopio a due.

### ***2.4 Analisi statistica***

L'associazione di una debole espressione immunoistochimica di Dusp6 con ciascun esito del trattamento conservativo nelle pazienti con AEH o CEE è stata valutata in base al rischio relativo (RR) con intervalli di confidenza al 95% (CI) e un errore  $\alpha$  impostato a 0,05.

L'accuratezza predittiva di Dusp6 è stata valutata calcolando la sensibilità, la specificità e l'area sottesa alla curva (AUC) sulle curve ROC (Receiver Operating Characteristic).

L'accuratezza predittiva di Dusp6 è stata classificata a priori come nulla per  $AUC \leq 0,5$ , bassa per  $0,5 < AUC \leq 0,75$ , moderata per  $0,75 < AUC \leq 0,9$ , alta per  $0,9 < AUC < 0,97$ , molto alta per  $AUC \geq 0,97$ , come precedentemente riportato [15].

L'analisi di accuratezza predittiva è stata eseguita solo per i risultati che hanno mostrato un'associazione significativa con l'espressione di Dusp6.

Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando come software il pacchetto SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

### ***2.5 Eticità dello studio***

Lo studio ha ricevuto l'approvazione dal Comitato di Revisione Istituzionale dell'Università degli Studi di Napoli Federico II, ed è stato eseguito in conformità alla dichiarazione di Helsinki. Tutti le pazienti incluse hanno firmato un consenso informato scritto per l'uso dei loro campioni biologici a fini di ricerca e tutti i dati sono stati resi anonimi per impedire l'identificazione dei soggetti.

### 3. RISULTATI

#### *3.1 Caratteristiche delle pazienti*

In totale sono state incluse nello studio 36 pazienti che soddisfano i criteri di selezione: a 29 (80,6%) è stata diagnosticata l'AEH e a 7 (19,4%) l'EEC.

La media  $\pm$  deviazione standard (DS) dell'età è di  $35,5 \pm 5,5$  anni. La media  $\pm$  DS dell'indice di massa corporea (BMI) è di  $28,6 \pm 7,9$  Kg / m<sup>2</sup>. Il 41,6% delle pazienti ha avuto gravidanze precedenti, il 5,4% una storia familiare di carcinoma endometriale e il 16,6% una storia familiare di altri tumori. Tra le altre malattie, le patologie della tiroide sono state riportate nel 22,3% delle pazienti, l'ipertensione nel 13,9%, l'endometriosi nel 5,6%, l'infertilità nel 5,6% e il diabete mellito nel 2,8%. Tra i sintomi, il 33,3% delle pazienti ha avuto sanguinamento mestruale abbondante con o senza sanguinamento mestruale prolungato, 5,6% frequente e irregolare sanguinamento vaginale non mestruale, 5,6% sanguinamento mestruale frequente (Tabella 1).

Per quanto riguarda i risultati del trattamento, il 27,8% delle pazienti ha mostrato il fallimento del trattamento conservativo dell'AEH o dell'EEC. In particolare, il 16,7% delle donne non ha mostrato alcuna regressione e il 13,3% delle pazienti che hanno risposto, ha poi mostrato recidiva della malattia. La media  $\pm$  DS del tempo di follow-up è stata di  $69,9 \pm 36,3$  mesi (Tabella 1).

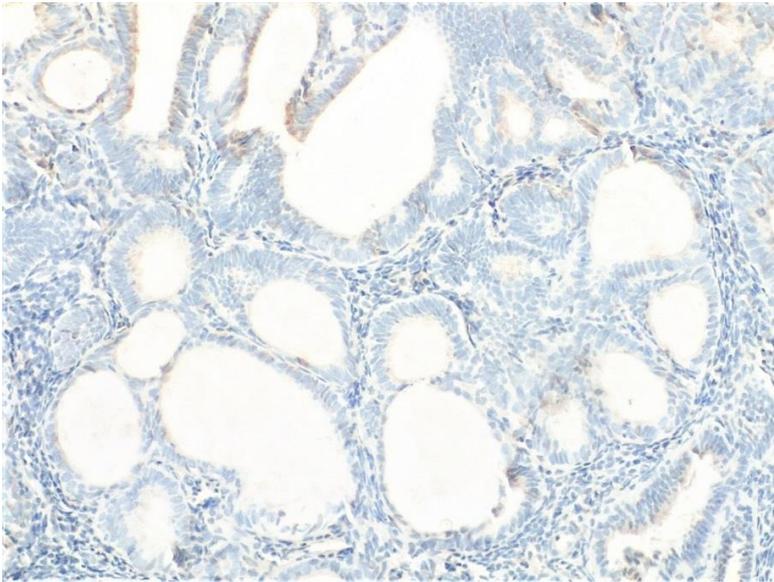
**Tabella 1. Caratteristiche delle pazienti incluse ed esiti del trattamento conservativo dell'iperplasia endometriale atipica e del carcinoma endometriale precoce.**

<b>PATIENTS CHARACTERISTICS</b>	<b>N (%)</b>	<b>MEAN ± SD</b>
<b>Age, years</b>	-	35.5 ± 5.5
<b>BMI, kg/m<sup>2</sup></b>	-	26.6 ± 7.9
<b>Diagnosis of early endometrial carcinoma</b>	7 (19.4)	-
<b>Diagnosis of atypical endometrial hyperplasia</b>	29 (80.6)	-
<b>Previous pregnancies</b>	15 (41.6)	-
<b>Spontaneous delivery</b>		
<b>Cesarean section</b>	2 (5.6)	
<b>Miscarriages</b>	10 (27.8)	
	12 (33.4)	
<b>Familiar history of endometrial carcinoma</b>	2 (5.4)	-
<b>Familiar history of other cancers</b>	6 (16.6)	-
<b>Other diseases</b>		-
<b>Blood hypertension</b>	5 (13.9)	
<b>Diabetes mellitus</b>	1 (2.8)	
<b>Thyroid diseases</b>	8 (22.3)	
<b>Endometriosis</b>	2 (5.6)	
<b>Infertility</b>	2 (5.6)	
<b>Symptoms</b>		-
<b>Heavy menstrual bleeding with or without prolonged menstrual bleeding</b>	12 (33.3)	
<b>Frequent irregular non-menstrual vaginal bleeding</b>	2 (5.6)	
<b>Frequent menstrual bleeding</b>	2 (5.6)	
<b>Treatment outcomes</b>		-
<b>Treatment failure</b>	10 (27.8)	
<b>No regression</b>	6 (16.7)	
<b>Recurrence</b>	4 (13.3)	
<b>Follow-up length, months</b>	-	69.9 ± 36.3

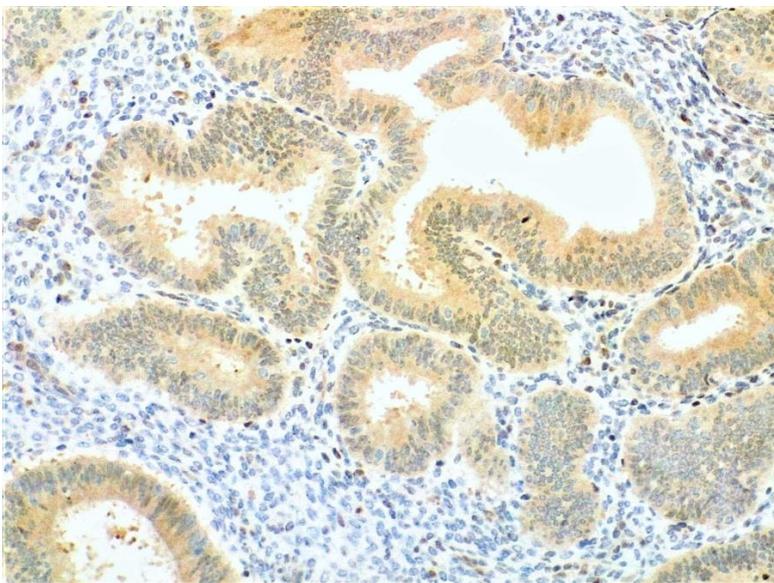
### ***3.2 Dusp6 come marker predittivo***

All'immunoistochimica, una paziente è stata esclusa perché l'espressione di Dusp6 non era valutabile. Delle 35 donne rimanenti, 7 donne (20%) hanno mostrato una debole espressione di Dusp6 (Figura 1), mentre le restanti hanno mostrato una forte espressione di Dusp6 (Figura 2).

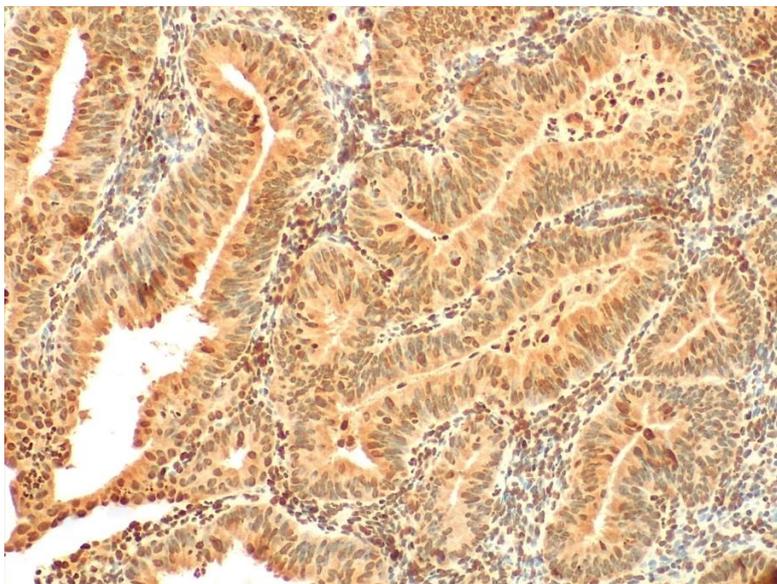
**Figura 1a**



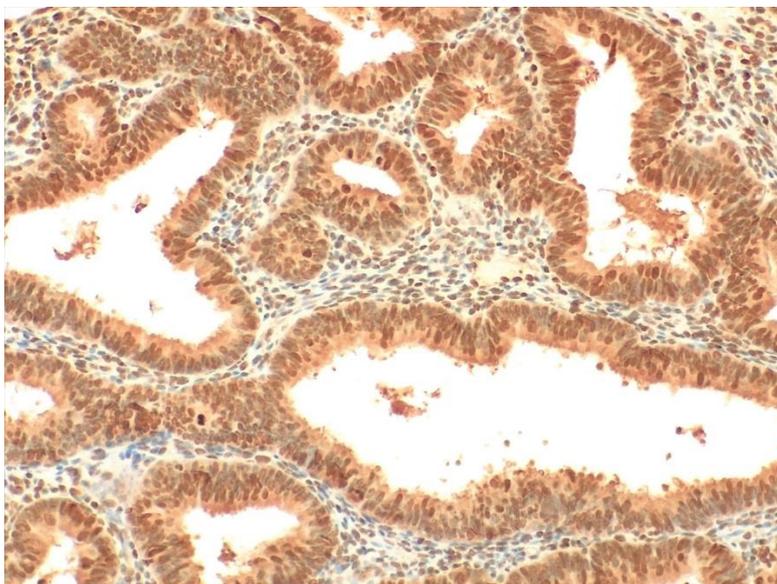
**Figura 1b**



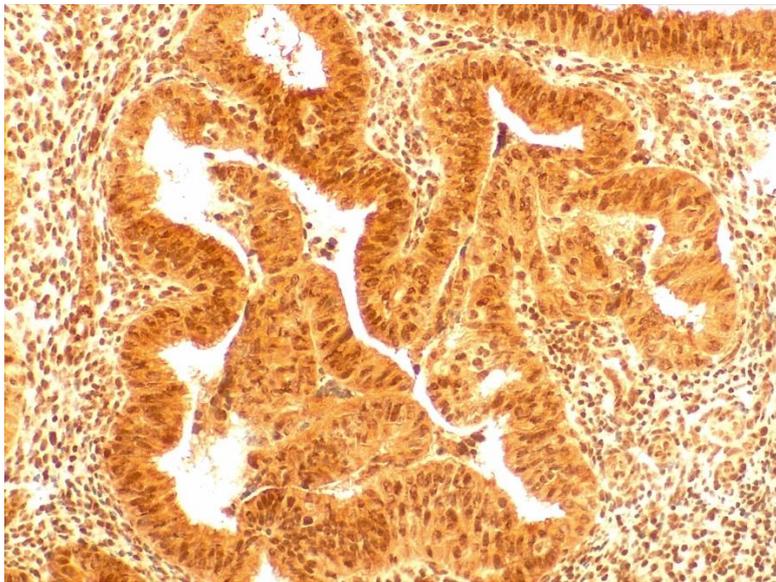
**Figura 1c**



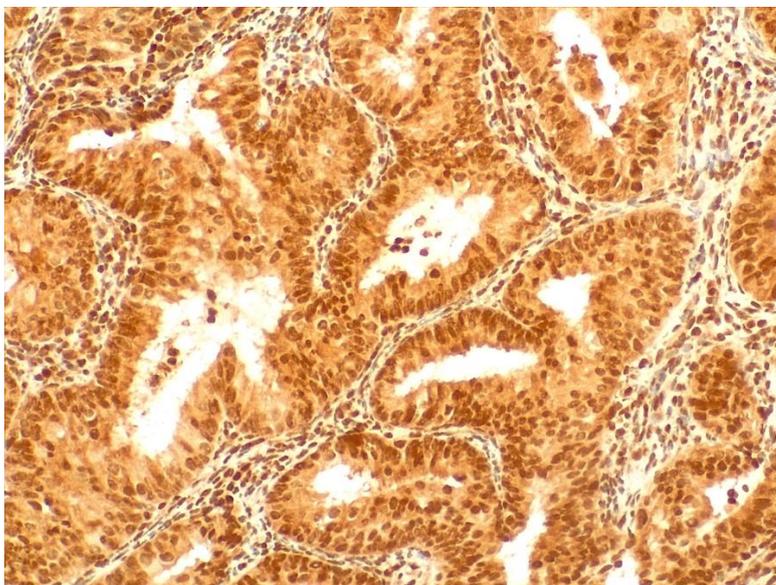
**Figura 2a**



**Figura 2b**



**Figura 2c**

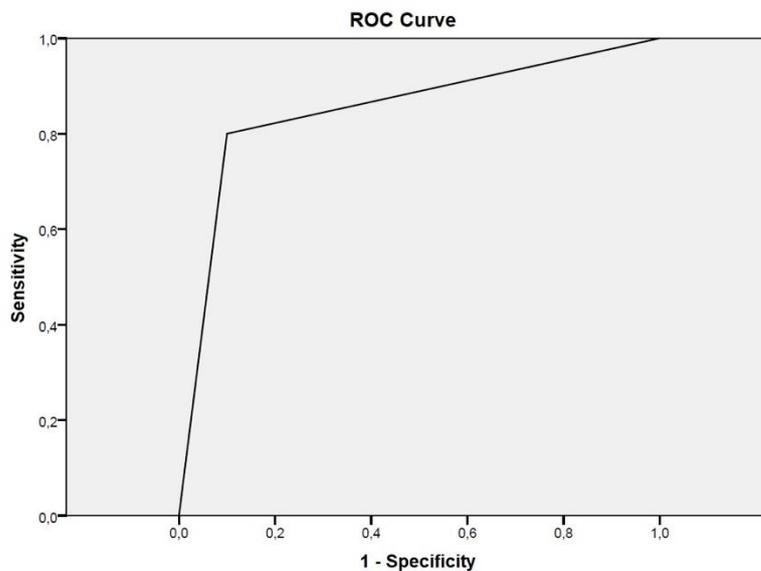


Le pazienti con una debole espressione immunoistochimica di Dusp6 hanno mostrato un rischio significativamente aumentato di mancata regressione della malattia, con un RR di 16 (IC 95%: da 2,1 a 121,7;  $p = 0,0074$ ).

Al contrario, una debole espressione di Dusp6 non era significativamente associata al rischio di recidiva dopo una regressione iniziale (RR = 0,4, IC 95%: da 0,02 a 6,7;  $p = 0,53$ ).

Nel prevedere la mancata regressione delle lesioni dopo il trattamento conservativo, la valutazione dell'espressione immunoistochimica di Dusp6 ha mostrato sensibilità = 80%, specificità = 90% e un'accuratezza predittiva moderata, con una AUC di 0,85 (Figura 3).

**Figura 3**



L'accuratezza predittiva di Dusp6 nel predire la recidiva della malattia non è stata valutata perché l'associazione tra l'espressione di Dusp6 e la recidiva non è risultata significativa.

## 4. DISCUSSIONE

### *4.1 Principali risultati e interpretazione*

Questo studio ha mostrato che una debole espressione immunoistochimica di Dusp6 alla biopsia pre-trattamento in pazienti con AEH o EEC è associata ad un rischio 16 volte maggiore di mancata regressione della lesione. Inoltre, la valutazione dell'espressione immunoistochimica di Dusp6 ha mostrato una accuratezza moderata nel predire la mancata regressione dell'AEH e dell'EEC in risposta al trattamento conservativo.

Dusp6 è una fosfatasi a doppia specificità, che defosforila le chinasi regolate dal segnale extracellulare, agendo come un regolatore negativo della via delle protein chinasi attivate dal mitogeno [20]. Quindi, Dusp6 inibisce la crescita cellulare e promuove l'apoptosi [20]. La perdita di Dusp6 è stata documentata in diversi carcinomi umani, compreso il cancro esofageo, pancreatico, nasofaringeo e polmonare [20]. Nel carcinoma dell'endometrio, il ruolo di Dusp6 appare controverso: da un lato, sembra inibire la transizione epiteliale-mesenchimale; d'altra parte, sembra promuovere il mantenimento di un fenotipo di cellule staminali simili al cancro [21,22]. Nell'AEH e nell'EEC trattati in modo conservativo, Zhang et al. hanno mostrato che i casi sensibili al progestinico avevano livelli significativamente più alti di espressione di Dusp6 rispetto ai casi resistenti al progestinico [17]. Hanno anche scoperto che la trasfezione con alte dosi di Dusp6 aumentava significativamente l'inibizione della crescita indotta da progestinici nelle cellule di Ishikawa [20]. Tuttavia, da allora il ruolo predittivo di Dusp6 non è stato ulteriormente valutato e la sua accuratezza predittiva non è mai stata calcolata. Pertanto, l'applicabilità clinica di Dusp6 come marker predittivo di risposta ai progestinici nell'AEH e nell'EEC non è ancora chiara.

Nel nostro studio, abbiamo confermato che una debole espressione immunoistochimica di Dusp6 era significativamente associata alla mancata

regressione dell'AEH o dell'CEE dopo un trattamento conservativo. Infatti, in caso di una debole espressione immunoistochimica di Dusp6, il rischio di mancata regressione era 16 volte maggiore. L'analisi di accuratezza predittiva ha mostrato una sensibilità del 80% e una specificità dell'90% nel prevedere la mancata regressione di AEH/EEC; l'accuratezza predittiva è risultata moderata, con un'AUC di 0,85. Pertanto, Dusp6 è apparso come un marker predittivo più accurato del recettore del progesterone nell'AEH e nell'EEC trattati in modo conservativo, costituendo potenzialmente il marker predittivo più affidabile attualmente disponibile in questo campo [11,15,16]. Infatti, ad oggi, nessun altro marker predittivo ha raggiunto una combinazione così favorevole di sensibilità e specificità nel predire l'esito del trattamento conservativo nell'AEH e nell'EEC [11,13,15,16].

Sulla base della sua accuratezza, Dusp6 può essere adatto per essere utilizzato nella pratica clinica, aiutando ad orientare la gestione delle pazienti giovani con AEH ed EEC. In particolare, l'espressione di Dusp6 potrebbe aiutare a personalizzare il follow-up (es. più o meno ravvicinato e distanziato), o per identificare un sottogruppo di pazienti che necessiterebbero di un trattamento più aggressivo (es. combinazione di più progestinici). Inoltre, la valutazione dell'espressione immunoistochimica di Dusp6 potrebbe essere ancora più utile quando la scelta tra trattamento conservativo e isterectomia risulta difficile, ad esempio nelle donne intorno ai 40 anni, nelle donne che non sono sicure del desiderio di gravidanza o in caso di un basso potenziale di fertilità di coppia. Inoltre, sarebbe interessante valutare se Dusp6 mantiene il suo valore predittivo nelle donne in post menopausa; infatti, il trattamento conservativo dell'AEH/CEE può essere preso in considerazione anche in caso di chirurgia ad alto rischio. Infine, in futuro, la combinazione di Dusp6 con altri marcatori predittivi clinici o patologici potrebbe consentire una stratificazione ancora più accurata del rischio di mancata regressione nelle donne trattate in modo conservativo per AEH e EEC. Ulteriori studi sono incoraggiati in questo campo.

#### *4.2 Punti di forza e limiti*

Per quanto a nostra conoscenza, questo è il secondo studio che valuta il valore predittivo di Dusp6 nell'AEH e nell'EEC trattati in modo conservativo, e il primo che ne calcola l'accuratezza predittiva. Abbiamo anche proposto una soglia di espressione immunohistochimica di Dusp6, che può consentire di interpretarla nella pratica patologica di routine.

Punto di forza del nostro studio risiede nell'omogeneità della popolazione studiata, in termini di età, diagnosi patologica e trattamento.

In primo luogo, abbiamo incluso solo pazienti con meno di 45 anni e in premenopausa, riflettendo la popolazione che necessita principalmente di un trattamento conservativo. In secondo luogo, tutte le pazienti avevano AEH ed EEC istologicamente confermati e abbiamo escluso l'iperplasia non atipica, che è una proliferazione benigna e avrebbe potuto influenzare i risultati [23]. In terzo luogo, il protocollo di trattamento era lo stesso per tutte le pazienti e consisteva nella resezione isteroscopica più inserimento di LNG-IUD, che può essere attualmente considerato il trattamento conservativo più efficace per AEH e EEC [8]. Infine, il tempo di follow-up è stato di almeno 1 anno per tutte le pazienti, consentendo un'adeguata valutazione degli esiti del trattamento [3,4].

I limiti del nostro studio risiedono nel disegno retrospettivo e nella piccola dimensione complessiva del campione. Tuttavia, data l'intenzione di valutare una popolazione di studio omogenea e la rarità della condizione (solo il 20-25% dei carcinomi endometriali e dell'AEH si verificano nelle donne in premenopausa e solo il 3-5% delle donne con carcinoma endometriale ha meno di 45 anni di età [24]), sembra difficile eseguire uno studio prospettico su una popolazione di studio più ampia. Stiamo ora pianificando studi multicentrici più ampi per convalidare i nostri risultati.

## **5. CONCLUSIONI**

Una debole espressione immunohistochemica di Dusp6 appare come un forte predittore di mancata regressione dell'AEH e dell'EEC dopo un trattamento conservativo. Sulla base della sua accuratezza, Dusp6 può essere utile come marker predittivo nelle pazienti con AEH/EEC eleggibili al trattamento conservativo, specialmente nei casi difficili. Ulteriori studi sono necessari per validare questi risultati e per combinare Dusp6 con ulteriori markers clinico patologici, al fine di garantire un trattamento sempre più personalizzato delle pazienti.

## **REFERENZE**

## Sezione bibliografica

- [1] Tavassoli F, Devilee P, editors. Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC Press; 2003. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics; pp. 217–228.
- [2] Katarzyna Sobczuk and Anna Sobczuk, New classification system of endometrial hyperplasia WHO 2014 and its clinical implications, *Prz Menopauzalny*. 2017 Sep; 16(3): 107–111.
- [3] Amant F., Mirza R.M., Koskas M, et al. FIGO CANCER REPORT 2018 Cancer of the corpus uteri
- [4] Kurman RJ, Kaminski PF, Norris HJ The behavior of endometrial hyperplasia. A long-term study of "untreated" hyperplasia in 170 patients. *Cancer*. 1985 Jul 15; 56(2):403-12.
- [5] Ordi J, Bergeron C, Hardisson D, et al. Reproducibility of current classifications of endometrial endometrioid glandular proliferations: further evidence supporting a simplified classification. *Histopathology*. 2014 Jan; 64(2):284-92.
- [6] Baak JP, Mutter GL, Robboy S, et al. Review The molecular genetics and morphometry-based endometrial intraepithelial neoplasia classification system predicts disease progression in endometrial hyperplasia more accurately than the 1994 World Health Organization classification system. *Cancer*. 2005 Jun 1; 103(11):2304-12
- [7] Owings RA, Quick CM. Endometrial intraepithelial neoplasia. *Arch Pathol Lab Med* 2014; 138: 484–491
- [8] Mutter GL Baak JP, Crum CP, et al. Endometrial precancer diagnosis by histopathology et al. Endometrial precancer diagnosis by histopathology, clonal analysis, and computerized morphometry. *J Pathol*. 2000;190:462–469.
- [9] Bergeron C, Nogales FF, Masseroli M, et al. A multicentric European study testing the reproducibility of the WHO classification of endometrial

hyperplasia with a proposal of a simplified working classification for biopsy and curettage specimens. *Am J Surg Pathol.* 1999;23:1102–1108.

[10] Mutter GL, Endometrial intraepithelial neoplasia (EIN): will it bring order to chaos? The Endometrial Collaborative Group. *Gynecol Oncol.* 2000 Mar; 76(3):287-90.

[11] Mutter GL, Kauderer J, Baak JP, et al. Biopsy histomorphometry predicts uterine myoinvasion by endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Hum Pathol.* 2008 Jun; 39(6):866-74.

[12] Hecht JL, Ince TA, Baak JP, et al. Prediction of endometrial carcinoma by subjective endometrial intraepithelial neoplasia diagnosis. *Mod Pathol.* 2005 Mar; 18(3):324-30.

[13] Zaino R, Carinelli S G, Ellenson LH. Tumours of the uterine Corpus: epithelial Tumours and Precursors. WHO Press, Lyon. 2014:125–126

[14] Emons G, Beckmann MW, Schmidt D, et al. New WHO classification of endometrial hyperplasias. *Geburtsh Frauenheilk.* 2015;75:135–136

[15] Committee on Gynecologic Practice, Society of Gynecologic Oncology. The American College of Obstetricians and Gynecologists Committee Opinion no. 631. Endometrial intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol.* 2015;125:1272–1278

[16] Gallos I D, Yap J, Rajkhowa M, et al. Regression, relapse, and live birth rates with fertility-sparing therapy for endometrial cancer and atypical complex endometrial hyperplasia: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;207:2660–2662

[17] Gallos ID, Alazzam M, Clark TJ. Management of Endometrial Hyperplasia. RCOG/BSGE Green-top Guideline No. 67. 2016;67:2

[18] Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, et al, for the Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013; 497: 67–73.

- [19] Broaddus RR, Lynch HT, Chen LM et al. . Pathologic features of endometrial carcinoma associated with HNPCC: a comparison with sporadic endometrial carcinoma. *Cancer* 2006; 106: 87–94.
- [20] Mulac-Jericevic B, Mullinax RA, DeMayo FJ, et al. Subgroup of reproductive functions of progesterone mediated by progesterone receptor-B isoform. *Science*. 2000 Sep 8; 289(5485):1751-4.
- [21] Gronemeyer H, Meyer ME, Bocquel MT, et al. Review Progestin receptors: isoforms and antihormone action. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1991; 40(1-3):271-8.
- [22] Lessey BA, Alexander PS, Horwitz KB. The subunit structure of human breast cancer progesterone receptors: characterization by chromatography and photoaffinity labeling. *Endocrinology*. 1983 Apr; 112(4):1267-74.
- [23] Chi T, Lieberman P, Ellwood K, Carey M. A general mechanism for transcriptional synergy by eukaryotic activators. *Nature*. 1995 Sep 21; 377(6546):254-7.
- [24] Wagner BL, Norris JD, Knotts TA, et al. The nuclear corepressors NCoR and SMRT are key regulators of both ligand - and 8-bromo-cyclic AMP-dependent transcriptional activity of the human progesterone receptor. *Mol Cell Biol*. 1998 Mar; 18(3):1369-78.
- [25] Mangal RK, Wiehle RD, Poindexter AN, et al. Differential expression of uterine progesterone receptor forms A and B during the menstrual cycle. *nJ Steroid Biochem Mol Biol*. 1997 Nov-Dec; 63(4-6):195-202.
- [26] Garcia E, Bouchard P, De Brux J, et al. Use of immunocytochemistry of progesterone and estrogen receptors for endometrial dating. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988 Jul; 67(1):80-7.
- [27] Snijders MP, de Goeij AF, Debets-Te Baerts MJ, et al. Immunocytochemical analysis of oestrogen receptors and progesterone

receptors in the human uterus throughout the menstrual cycle and after the menopause. *J Reprod Fertil.* 1992 Mar; 94(2):363-71.

[28] Cooke PS, Buchanan DL, Young P, et al. *Stromal estrogen receptors mediate mitogenic effects of estradiol on uterine epithelium.* *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; **94**: 6535–40.

[29] Bulun SE, Economos K, Miller D, et al. CYP19 (aromatase cytochrome P450) gene expression in human malignant endometrial tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; **79**: 1831–4

[30] Wantanabe K, Sasano H, Harada N, Ozaki M, Niikura H, Sato S, et al. *Aromatase in human endometrial carcinoma and hyperplasia. Immunohistochemical, in situ hybridization, and biochemical studies.* *Am J Pathol* 1995; **146**: 491–500.

[31] Yager JD, Liehr JG. Molecular mechanisms of estrogen carcinogenesis. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1996; **36**: 203–32.

[32] Talhouk A, McConechy MK, Leung S, et al. Confirmation of ProMisE: a simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer. *Cancer*. 2017;123:802–13.

[33] Kommos S, McConechy MK, Kommos F, et al. Final validation of the ProMisE molecular classifier for endometrial carcinoma in a large population-based case series. *Ann Oncol.* 2018;29:1180–8

[34] MacDonald ND, Salvesen HB, Ryan A, et al. Frequency and prognostic impact of microsatellite instability in a large population-based study of endometrial carcinomas. *Cancer Res.* 2000;60:1750–2

[35] Esteller M, Catusus L, Matias-Guiu X, et al. hMLH1 promoter hypermethylation is an early event in human endometrial tumorigenesis. *Am J Pathol.* 1999;155:1767–72.

- [36] Levine RL, Cargile CB, Blazes MS, et al. PTEN mutations and microsatellite instability in complex atypical hyperplasia, a precursor lesion to uterine endometrioid carcinoma. *Cancer Res.* 1998;58:3254–8.
- [37] Sutter C, Dallenbach-Hellweg G, Schmidt D, Baehring J, et al. Molecular analysis of endometrial hyperplasia in HNPCC-suspicious patients may predict progression to endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Pathol.* 2004;23:18–25.
- [38] Lucas E, Chen H, Molberg K, et al. Mismatch repair protein expression in endometrioid intraepithelial neoplasia/atypical hyperplasia: should we screen for lynch syndrome in precancerous lesions? *Int J Gynecol Pathol.* 2018.
- [39] Chapel DB, Yamada SD, Cowan M, et al. 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;149:570–4.
- [40] Vierkoetter KR, Kagami LA, Ahn HJ, et al. Loss of mismatch repair protein expression in unselected endometrial adenocarcinoma precursor lesions. *Int J Gynecol Cancer.* 2016;26:228–32.
- [41] Bonadona V, Bonaiti B, Olschwang S, et al. Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. *J Am Med Assoc.* 2011;305:2304–10.
- [42] Barrow E, Robinson L, Alduaij W, et al. Cumulative lifetime incidence of extracolonic cancers in Lynch syndrome: a report of 121 families with proven mutations. *Clin Genet.* 2009;75:141–9.
- [43] Russo M, Broach J, Sheldon K, et al. Clonal evolution in paired endometrial intraepithelial neoplasia/atypical hyperplasia and endometrioid adenocarcinoma. *Hum Pathol.* 2017;67:69–77.

- [44] Kurnit KC, Kim GN, Fellman BM, et al. CTNNB1 (beta-catenin) mutation identifies low grade, early stage endometrial cancer patients at increased risk of recurrence. *Mod Pathol.* 2017;30:1032–41.
- [45] Myers A, Barry WT, Hirsch MS, et al. beta-Catenin mutations in recurrent FIGO IA grade I endometrioid endometrial cancers. *Gynecol Oncol.* 2014;134:426–7
- [46] Liu Y, Patel L, Mills GB, et al. Clinical significance of CTNNB1 mutation and Wnt pathway activation in endometrioid endometrial carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106:dju245.
- [47] Cancer Genome Atlas Research Network, Kandoth C, Schultz N, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature.* 2013;497:67–73.
- [48] Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature.* 1991;351:453–6.
- [49] Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature.* 2000;408:307–10
- [50] Iggo R, Gatter K, Bartek J, et al. Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet.* 1990;335:675–9.
- [51] Kobel M, Piskorz AM, Lee S, et al. Optimized p53 immunohistochemistry is an accurate predictor of TP53 mutation in ovarian carcinoma. *J Pathol Clin Res.* 2016;2:247–58.
- [52] Yemelyanova A, Vang R, Kshirsagar M, et al. Immunohistochemical staining patterns of p53 can serve as a surrogate marker for TP53 mutations in ovarian carcinoma: an immunohistochemical and nucleotide sequencing analysis. *Mod Pathol.* 2011;24:1248–53.

- [53] Garg K, Leitao MM Jr, Wynveen CA, et al. p53 overexpression in morphologically ambiguous endometrial carcinomas correlates with adverse clinical outcomes. *Mod Pathol*. 2010;23:80–92.
- [54] Ito K, Watanabe K, Nasim S, et al. Prognostic significance of p53 overexpression in endometrial cancer. *Cancer Res*. 1994;54:4667–70.
- [55] Dupont J, Wang X, Marshall DS, et al. Wilms Tumor Gene (WT1) and p53 expression in endometrial carcinomas: a study of 130 cases using a tissue microarray. *Gynecol Oncol*. 2004;94:449–55.
- [56] Jongen VH, Briet JM, de Jong RA, et al. Aromatase, cyclooxygenase 2, HER-2/neu, and p53 as prognostic factors in endometrioid endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2009;19:670–6.
- [57] Lee EJ, Kim TJ, Kim DS, et al. p53 alteration independently predicts poor outcomes in patients with endometrial cancer: a clinicopathologic study of 131 cases and literature review. *Gynecol Oncol*. 2010;116:533–8.
- [58] Nout RA, Bosse T, Creutzberg CL, et al. Improved risk assessment of endometrial cancer by combined analysis of MSI, PI3K-AKT, Wnt/beta-catenin and P53 pathway activation. *Gynecol Oncol*. 2012;126:466–73.
- [59] Urabe R, Hachisuga T, Kurita T, et al. Prognostic significance of overexpression of p53 in uterine endometrioid adenocarcinomas with an analysis of nuclear grade. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014;40:812–9.
- [60] Kim G, Kurnit KC, Djordjevic B, et al. Nuclear beta-catenin localization and mutation of the CTNNB1 gene: a context-dependent association. *Mod Pathol*. 2018;31:1553–9.
- [61] Sal V, Demirkiran F, Erenel H, et al. Expression of PTEN and beta-Catenin and their relationship with clinicopathological and prognostic factors in endometrioid type endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2016;26:512–

- [62] Jones S, Wang TL, Shih Ie M *et al.* Frequent mutations of chromatin remodeling gene ARID1A in ovarian clear cell carcinoma. *Science* 2010;330:228–231.
- [63] Wiegand KC. ARID1A mutations in endometriosis-associated ovarian carcinomas. *N Engl J Med* 2010;363:1532–1543.
- [64] Reisman D, Glaros S, Thompson EA. The SWI/SNF complex and cancer. *Oncogene* 2009;28:1653–1668.
- [65] Wilson BG, Roberts CWM. SWI/SNF nucleosome remodellers and cancer. *Nat Rev Cancer* 2011;11:481–492.
- [66] Wu JI, Lessard J, Crabtree GR. Understanding the words of chromatin regulation. *Cell* 2009;136:200–206.
- [67] ARID1A loss is prevalent in endometrial hyperplasia with atypia and low-grade endometrioid carcinomas Henrica MJ Werner, Anna Berg, Elisabeth Wik, Even Birkeland, Camilla Krakstad, Kanthida Kusonmano, Kjell Petersen, Karl H Kalland, Anne M Oyan, Lars A Akslen, Jone Trovik and Helga B Salvesen *Modern Pathology* volume26, pages428–434 (2013)
- [68] World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research - Continuous Update Project Report. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Endometrial Cancer. 2013
- [69] Esposito K, Chiodini P, Capuano A, et al. Metabolic syndrome and endometrial cancer: a meta-analysis. *Endocrine*. 2014; 45: 28– 36.
- [70] Zhang Y, Liu H, Yang S, et al. Overweight, obesity and endometrial cancer risk: results from a systematic review and meta-analysis. *Int J Biol Markers*. 2014; 29: e21– e29.
- [71] Rosato V, Zucchetto A, Bosetti C, et al. Metabolic syndrome and endometrial cancer risk. *Ann Oncol*. 2011; 22: 884– 889.

- [72] Luo J, Beresford S, Chen C, et al. Association between diabetes, diabetes treatment and risk of developing endometrial cancer. *Br J Cancer*. 2014; 111: 1432– 1439.
- [73] Barry JA, Azizia MM, Hardiman PJ. Risk of endometrial, ovarian and breast cancer in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2014; 20: 748– 758.
- [74] Ali AT. Reproductive factors and the risk of endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2014; 24: 384– 393.]
- [75] Peiretti M, Colombo N. Sex cord-stromal tumors of the ovary. In: *Textbook of Gynaecological Oncology*, Ankara and Istanbul: Günes Publishing, 2012: 453– 456.
- [76] Brinton LA, Berman ML, Mortel R, et al. Reproductive, menstrual, and medical risk factors for endometrial cancer: results from a case-control study. *Am J Obstet Gynecol*. 1992; 167: 1317– 1325.
- [77] Zucchetto A, Serraino D, Polesel J, et al. Hormone-related factors and gynecological conditions in relation to endometrial cancer risk. *Eur J Cancer Prev*. 2009; 18: 316– 321
- [78] Hemminki K, Bermejo JL, Granstorm C: Endometrial cancer: population attributable risks from reproductive, familial and socioeconomic factors. *Eur J Cancer* 41(14):2155, 2005
- [79] Bansal N, Yenduri V, Wenham RM: The molecular biology of endometrial cancers and the implications for pathogenesis, classification, and targeted therapies. *Cancer Control* 16(1):8, 2009
- [80] Aarnio M, Sankila R, Pukkala E, et al: Cancer risk in mutation carriers of DNA-mismatch-repair genes. *Int J Cancer* 81(2):214, 1999

- [81] Delin JB, Miller DS, Coleman RL: Other primary malignancies in patients with uterine corpus malignancy. *Am J Obstet Gynecol* 190:1429, 2004
- [82] Hampel H, Frankel W, Panescu J, et al. Screening for Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) among endometrial cancer patients. *Cancer Res* 66(15): 7810, 2006
- [83] Gruber SB, Thompson WD. A population-based study of endometrial cancer and familial risk in younger woman. Cancer and Steroid Hormone Study Group. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5(6):411,1996
- [84] Beiner ME, Finch A, Rosen B, et al. The risk of endometrial cancer in women with BRCA1 and BRCA2 mutations. A prospective study. *Gynecol Oncol* 104(1):7, 2007
- [85] Thai TH, Du F, Tsan JT, et al. Mutations in BRCA1-associated ring domain (BARD1) gene in primary breast, ovarian and uterine cancers. *Hum Mol Genet* 7(2):195, 1998
- [86] Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, et al: Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst* 90(18):1371, 1998
- [87] van Leeuwen FE, Benraadt J, Coebergh JW, et al. Risk of endometrial cancer after tamoxifen treatment of breast cancer. *Lancet* 343(8895):448, 1994
- [88] American College of Obstetricians and Gynecologists: Tamoxifen and uterine cancer. Committee Opinion No. 601, June 2014c
- [89] Dossus L, Allen N, Kaaks R, et al. Reproductive risk factors and endometrial cancer: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Cancer* 127(2):442, 2010

- [90] Stanford JL, Brinton LA, Berman ML, et al. Oral contraceptives and endometrial cancer: do other risk factors modify the association? *Int J Cancer* 54(2):243, 1993
- [91] Maxwell GL, Schildkraut JM, Calingaert B, et al. Progestin and estrogen potency of combination oral contraceptives and endometrial cancer risk. *Gynecol Oncol* 103(2):535, 2006
- [92] Felix AS, Gauder MM, La Vecchia C, et al. Intrauterine devices and endometrial cancer risk: a pooled analysis of the Epidemiology of Endometrial Cancer Consortium. *Int J Cancer* 136(5):E410, 2015
- [93] Viswanathan AN, Feskanich D, De Vivo I, et al. Smoking and the risk of endometrial cancer: results from Nurses' Health Study. *Int J Cancer* 114(6):996, 2005
- [94] G L Mutter, M C Lin, J T Fitzgerald, et al. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *Natl Cancer Inst.* 2000 Jun 7;92(11):924-30. doi: 10.1093/jnci/92.11.924.
- [95] Nicolas M Monte 1 , Kaitlyn A Webster, Donna Neuberg, et al. Joint loss of PAX2 and PTEN expression in endometrial precancers and cancer. *Cancer Res.* 2010 Aug 1;70(15):6225-32. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0149. Epub 2010 Jul 14.
- [96] G L Mutter, H Wada, W C Faquin, et al. K-ras mutations appear in the premalignant phase of both microsatellite stable and unstable endometrial carcinogenesis. *Mol Pathol.* 1999 Oct;52(5):257-62. doi: 10.1136/mp.52.5.257.
- [97] W C Faquin , J T Fitzgerald, M C Lin, K A Boynton, et al. Sporadic microsatellite instability is specific to neoplastic and preneoplastic endometrial tissues. *Am J Clin Pathol.* 2000 Apr;113(4):576-82. doi: 10.1309/4mgm-fmrc-6awk-yqy2.

- [98] Murali R, Soslow RA, Weigelt B. Classification of endometrial carcinoma: more than two types. *Lancet Oncol.* 2014;15:e268–e278.
- [99] A. Talhouk, M.K. McConechy, S. Leung, H.H. Li-Chang, J.S. Kwon, N. Melnyk, et al., A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers, *Br. J. Cancer* 113 (2015) 299–310.
- [100] Scholten AN, Smit VT, Beerman H, van Putten WL, Creutzberg CL. Prognostic significance and interobserver variability of histologic grading systems for endometrial carcinoma. *Cancer.* 2004;100:764–772.
- [101] Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington S, Young RH. Tumours of the Female Reproductive Organs. WHO classification of tumours. Lyon: IARC Press; 2014.
- [102] Kurman RJ, Norris HJ: Endometrial hyperplasia and related cellular changes. In Kurman RJ (ed): *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract.* 1994, p 411
- [103] Jordan LB, Abdul-Kader M, Al Nafussi A: Uterine serous papillary carcinoma: histopatologic changes within the female genital tracu. *Int J Gynecol Cancer* 11(4):283, 2001
- [104] Carcangiu ML, Chambers JT: Uterine papillary serous carcinoma: a study on 108 cases with emphasis on the prognostic significance of associated endometrioid carcinoma, absence of invasion, and concomitant ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 47(3):298, 1992
- [105] Sherman ME, Bitterman P, Rosenshein NB, et al: Uterine serous carcinoma. A morphologically diverse neoplasm with unifying clinicopathologic features. *Am J Surg Pathol* 16(6):600, 1992
- [106] Ellenson LH, Ronnett BM, Kurman RJ: Precursor lesion of endometrial carcinoma. In Kurman RJ, Ellenson LH, Ronnett BM (eds): *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*, New York, Springer, 2011a, p 360

- [107] Abeler VM, Kjorstad KE. Clear cell carcinoma of the endometrium: a histopathological and clinical study of 97 cases. *Gynecol Oncol* 40(3):207, 1991
- [108] Hamilton CA, Cheung MK, Osann K, et al: Uterine papillary serous and clear cell carcinomas predict for poorer survival compared to grade 3 endometrioid corpus cancer. *Br J Cancer* 94(5):642, 2006
- [109] Ross JC, Eifel PJ, Cox RS, et al. Primary mucinous adenocarcinoma of endometrium. A clinicalpathologic and histochemical study. *Am J Surg Pathol* 7(8):715, 1983
- [110]Melhem MF, Tobon H. Mucinous adenocarcinoma of the endometrium: a clinico-pathological review of 18 cases. *Int J Gynecol Pathol* 6(4):347, 1987
- [111] Silva EG, Deavers MT, Malpica A. Undifferentiated carcinoma of the endometrium: a review. *Pathology* 39(1):134, 2007
- [112] Altrabulsi B, Malpica A, Deavers MT, et al. Undifferentiated carcinoma of the endometrium. *Am J Surg Pathol* 29(10):1316, 2005
- [113] Varras M, Kioses E. Five-year survival pf a patient with primary endometrial squamous cell carcinoma: a case report and review of literature. *Eur J Gynecol Oncol* 23(4):327, 2002
- [114] Goodman A, Zukerberg LR, Rice LW, et al. Squamous cell carcinoma of the endometrium: a report of eight cases and a review of the literature. *Gynecol Oncol* 61(1):54, 1996
- [115] Ahluwalia M, Light AM, Surampudi K, et al. Transitional cell carcinoma of the endometrium: a case report and review of the literature. *Int J Gynecol Pathol* 25(4):378, 2006
- [116] Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, et al. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 40(1):55, 1991
- [117] Burke TW, Levenback C, Tornos C, et al. Intraabdominal lymphatic mapping to direct selective pelvic and paraaortic lymphadenectomy in women

with high-risk endometrial cancer: results of a pilot study. *Gynecol Oncol* 62(2):169, 1996

[118] Mariani A, Webb MJ, Keeney GL, et al. Hematogenous dissemination in corpus cancer. *Gynecol Oncol* 80(2):233, 2001a

[119] Hirai Y, Takeshima N, Kato T, et al. Malignant potential of positive peritoneal cytology in endometrial cancer. *Obstet Gynecol* 97(5 Pt 1):725, 2001

[120] Martínez A, Querleu D, Leblanc E, et al. Low incidence of port-site metastases after laparoscopic staging of uterine cancer. *Gynecol Oncol* 118(2):145, 2010

[121] Graebe K, Garcia-Soto A, Aziz M, et al. Incidental power morcellation of malignancy: a retrospective cohort study. *Gynecol Oncol* 136(2):274, 2015

[122] Pecorelli S. Revised FIGO staging for endometrium. *Int J Gynecol Obstet* 2009; 105(2):103-4.

[123] Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al., eds.: *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed. New York.

[124] Schink JC et al. Tumor size in endometrial cancer: a prospective factor for lymph node metastases. *Obstet Gynecol* 1987; 70:216.

[125] Goodman A. 2009. *Endometrial Cancer: Screening, Diagnosis, and Surgical Staging*. Totowa, NJ: Humana Press. p 1-11.

[126] Smith RA, Cokkinides V, Brawley OW. Cancer screening in the United States, 2009: A review of current American Cancer Society guidelines and issues in cancer screening. *CA Cancer J Clin*. 2009;**59**:27–41.

[127] N. Colombo C. Creutzberg F. Amant T., et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up . the ESMO-ESGO-ESTRO Endometrial Consensus Conference Working Group *Annals of Oncology*, Volume 27, Issue 1, January 2016

[128] Fraser IS, Critchley HO, Munro MG, Broder M. Writing Group for this Menstrual Agreement Process. A process designed to lead to international

agreement on terminologies and definitions used to describe abnormalities of menstrual bleeding. *Fertil Steril.* 2007;87:466–476.

[129] Savelli L, Ceccarini M et al. Preoperative local staging of endometrial cancer: transvaginal sonography vs. magnetic resonance imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008 May; 31(5):560-6.

[130] Epstein E et al. Gray-scale and color Doppler ultrasound characteristics of endometrial cancer in relation to stage, grade and tumor size. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; 38(5):586-93.

[131] Manfredi R, Mirk P et al. Loco-Regional Staging of Endometrial Carcinoma: Role of MR Imaging in predicting surgical staging. *Radiology* 2004; 231:372-8.

[132] Suga T, Nakamoto Y et al. Clinical value of FDG-PET for preoperative evaluation of endometrial cancer. *Ann Nucl Med* 2011 May; 25(4):269-75. Epub 2011 Mar 9.

[133] Signorelli M, Guerra L et al. Role of the integrated FDG PET/CT in the surgical management of patients with high risk clinical early stage endometrial cancer: detection of pelvic nodal metastases. *Gynecologic Oncology* 2009; 115(2):231-5.

[134] Saga T, Higashi T et al. Clinical value of FDG-PET in the follow up of postoperative patients with endometrial cancer. *Ann Nucl Med* 2003; 17:197-203.

[135] Horn LC, Schnurrbusch U, Bilek K, et al: Risk of progression in complex and atypical endometrial hyperplasia: clinicopathologic analysis in cases with and without progestogen treatment. *Int J Gynecol Cancer* 14(2):348, 2004

- [136] Trimble CL, Kauderer J, Zaino R, et al: Concurrent endometrial carcinoma in women with a biopsy diagnosis of atypical endometrial hyperplasia: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer* 106(4):812, 2006
- [137] Querleu D, Morrow CP. Classification of radical hysterectomy. *Lancet Oncol* 2008;9:297-30.
- [138] FIGO Committee on Gynecologic Oncology, Denny L, Hacker NF, Gori J, et al.: Staging Classifications and Clinical Practice. Guidelines for Gynaecologic Cancers. [www.igo.org/publications/staging\\_classifications](http://www.igo.org/publications/staging_classifications)
- [139] Signorelli M, Lissoni AA, Cormio G, et al. Modified radical hysterectomy versus extrafascial hysterectomy in the treatment of stage I endometrial cancer: results from the ILIADE randomized study. *Ann Surg Oncol* 2009;16:3431-41.
- [140] ASTEC study group, Kitchener H, Swart AM, Qian Q, et al. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet* 2009;373:125-36.
- [141] Laurelli G, Di Vagno G, Scaffa C, et al. Conservative treatment of early endometrial cancer: preliminary results of a pilot study. *Gynecol Oncol* 2011;120:43-6.
- [142] Todo Y, Kato H, Kaneuchi M, Watari H, Takeda M, Sakuragi N. Survival effect of para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer (SEPAL study): a retrospective cohort analysis. *Lancet* 2010; 375:1165-1172.
- [143] Coronado PJ1, Fasero M, Baquedano L, Martinez-Maestre MA, Casado A, Vidart JA, Herraiz MA Impact of the Lymphadenectomy in High-Risk Histologic Types of Endometrial Cancer: A Matched-Pair Study. *Int J Gynecol Cancer*. 2014 Mar 19.
- [144] Mell LK1, Carmona R, Gulaya S, Lu T, Wu J, Saenz CC, Vaida F. Cause-specific effects of radiotherapy and lymphadenectomy in stage I-II

endometrial cancer: a population-based study. *J Natl Cancer Inst.* 2013 Nov 6;105(21):1656-66

[145] Kim HS1, Suh DH, Kim MK, Chung HH, Park NH, Song YS. Systematic lymphadenectomy for survival in patients with endometrial cancer: a meta-analysis. *Jpn J Clin Oncol.* 2012 May;42(5):405-12.

[146] May K1, Bryant A, Dickinson HO, Kehoe S, Morrison J. Lymphadenectomy for the management of endometrial cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010 Jan 20;(1).

[147] Takano M, Ochi H, Takei Y et al. Surgery for endometrial cancers with suspected cervical involvement: is radical hysterectomy needed (a GOTIC study)? *Br J Cancer* 2013; 109: 1760–1765.

[148] Barlin JN, Puri I, Bristow RE. Cytoreductive surgery for advanced or recurrent endometrial cancer: a meta-analysis. *Gynecol Oncol.* 2010 Jul;118(1):14-8.

[149] Lambrou NC, et al. Optimal surgical cytoreduction in patients with stage III and stage IV endometrial carcinoma: a study of morbidity and survival. *Gynecol Oncol* 928, 2004;93(3):653–8. 929

[150] Bristow RE, et al. Stage IVB endometrial carcinoma: the role of cytoreductive surgery and determinants of survival. *Gynecol Oncol* 2000;78(2):85–91. 933; 375:1165-1172.

[151] Lee NK, Cheung MK, Dhin JY et al: Prognostic factors for uterine cancer in reproductive-aged women. *Obstet Gynecol* 2007; 109: 655–662

[152] Armstrong AJ, Hurd WW, Elguero S, et al. Diagnosis and Management of Endometrial Hyperplasia, *JMIG*, Vol 19, Issue 5, September/October 2012

[153] Falcone F, Laurelli G, Losito S, et al. Fertility preserving treatment with hysteroscopic resection followed by pro- gestin therapy in young women with early endometrial cancer. *J Gynecol Oncol* 2017 Jan;28(1):e2

[154] Gallos I.D., Yap J., Rajkhowa M., Luesley D.M., Coomarasamy A., Gupta J.K. Regression, relapse, and live birth rates with fertility-sparing therapy for endometrial cancer and atypical complex endometrial hyperplasia: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol*; 207:266-12;2012

[155] Kisielewski F, Gajewska ME, Marczevska MJ, et al. Comparison of endometrial biopsy and postoperative hysterectomy specimen findings in patients with atypical endometrial hyperplasia and endometrial cancer. *Ginekologia Polska* 2016; 87, 7:488-492.

[156] Kim M.K., Seong S.J., Song T., Kim M.L., Yoon B.S., Jun H.S. et al. Comparison of dilatation & curettage and endometrial aspiration biopsy accuracy in patients treated with high-dose oral progestin plus levonorgestrel intrauterine system for early-stage endometrial cancer. *Gynecol Oncol*; 130:470-3;2013

[157] Park J.Y., Lee S.H., Seong S.J., Kim D.Y., Kim T.J., Kim J.W. et al. Progestin re-treatment in patients with recurrent endometrial adenocarcinoma after successful fertility-sparing management using progestin. *Gynecol Oncol*; 129:7-11;2013

[158] Travaglino A., Raffone a., Saccone G, et al., Immunohistochemical predictive markers of response to conservative treatment of endometrial hyperplasia and early endometrial cancer: A systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019 Sep;98(9):1086-1099.

## Sezione sperimentale

- [1] Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH, editors. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th ed., Lyon, IARC 2014.
- [2] Travaglino A, Raffone A, Saccone G, et al. Congruence Between 1994 WHO Classification of Endometrial Hyperplasia and Endometrial Intraepithelial Neoplasia System. *Am J Clin Pathol.* 2020;153(1):40-48.
- [3] Management of Endometrial Hyperplasia Green-top Guideline No. 67 RCOG/BSGE Joint Guideline | February 2016
- [4] Colombo et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology.* 2016; 27: 16-41
- [5] Chandra V, Kim JJ, Benbrook DM, Dwivedi A, Rai R. Therapeutic options for management of endometrial hyperplasia. *J Gynecol Oncol.* 2016;27:e8.
- [6] Gallos ID, Shehmar M, Thangaratinam S, Papapostolou TK, Coomarasamy A, Gupta JK. Oral progestogens vs levonorgestrel-releasing intrauterine system for endometrial hyperplasia: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;203:547.e. 1-547.e.10.
- [7] Yuk JS, Song JY, Lee JH, Park WI, Ahn HS, Kim HJ. Levonorgestrel-releasing intrauterine systems versus oral cyclic medroxyprogesterone acetate in endometrial hyperplasia therapy: a meta-analysis. *Ann Surg Oncol.* 2017;24:1322-1329.
- [8] Giampaolino P, Di Spiezio Sardo A, Mollo A, et al. Hysteroscopic Endometrial Focal Resection followed by Levonorgestrel Intrauterine Device Insertion as a Fertility-Sparing Treatment of Atypical Endometrial

Hyperplasia and Early Endometrial Cancer: A Retrospective Study. *J Minim Invasive Gynecol.* 2019 May - Jun;26(4):648-656

[9] Zhang Q, Qi G, Kanis MJ, et al. Comparison among fertility-sparing therapies for well differentiated early-stage endometrial carcinoma and complex atypical hyperplasia. *Oncotarget.* 2017;8(34):57642-57653. Published 2017 May 3.

[10] Fan Z, Li H, Hu R, Liu Y, Liu X, Gu L. Fertility-Preserving Treatment in Young Women With Grade 1 Presumed Stage IA Endometrial Adenocarcinoma: A Meta-Analysis. *Int J Gynecol Cancer.* 2018;28(2):385-393.

[11] Travaglino A, Raffone A, Saccone G, et al. Immunohistochemical predictive markers of response to conservative treatment of endometrial hyperplasia and early endometrial cancer: A systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019;98(9):1086-1099.

[12] Guillon S, Popescu N, Phelippeau J, Koskas M. A systematic review and meta-analysis of prognostic factors for remission in fertility-sparing management of endometrial atypical hyperplasia and adenocarcinoma. *Int J Gynaecol Obstet.* 2019;146(3):277-288

[13] Travaglino A, Raffone A, Saccone G, et al. PTEN as a predictive marker of response to conservative treatment in endometrial hyperplasia and early endometrial cancer. A systematic review and meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2018;231:104-110.

[14] Raffone A, Travaglino A, Saccone G, et al. Diabetes mellitus and responsiveness of endometrial hyperplasia and early endometrial cancer to conservative treatment. *Gynecol Endocrinol.* 2019;35(11):932-937.

- [15] Raffone A, Travaglino A, Saccone G, et al. Should progesterone and estrogen receptors be assessed for predicting the response to conservative treatment of endometrial hyperplasia and cancer? A systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019;98(8):976-987.
- [16] Raffone A, Travaglino A, Mascolo M, Insabato L, Zullo F. Predictive accuracy of hormone receptors in conservatively treated endometrial hyperplasia and early endometrioid carcinoma. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020;99(1):140.
- [17] Zhang H, Yan L, Bai Y, et al. Dual-specificity phosphatase 6 predicts the sensitivity of progestin therapy for atypical endometrial hyperplasia. *Gynecol Oncol.* 2015;136(3):549-553.
- [18] Von Elm E, Altman DG, Egger M, et al. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies. *Int J Surg.* 2014;12(12):1495-1499
- [19] Raffone A, Travaglino A, D'Antonio A, et al. BAG3 expression correlates with the grade of dysplasia in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020;99(1):99-104.
- [20] Zhang H, Guo Q, Wang C, et al. Dual-specificity phosphatase 6 (Dusp6), a negative regulator of FGF2/ERK1/2 signaling, enhances 17 $\beta$ -estradiol-induced cell growth in endometrial adenocarcinoma cell. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;376(1-2):60-6
- [21] Fan MJ, Liang SM, He PJ, Zhao XB, Li MJ, Geng F. Dusp6 inhibits epithelial-mesenchymal transition in endometrial adenocarcinoma via ERK signaling pathway. *Radiol Oncol.* 2019;53(3):307-315.
- [22] Kato M, Onoyama I, Yoshida S, et al. Dual-specificity phosphatase 6 plays a critical role in the maintenance of a cancer stem-like cell phenotype in

human endometrial cancer [published online ahead of print, 2020 Mar 11]. *Int J Cancer*. 2020;10.

[23] Travaglino A, Raffone A, Saccone G, et al. Congruence Between 1994 WHO Classification of Endometrial Hyperplasia and Endometrial Intraepithelial Neoplasia System. *Am J Clin Pathol*. 2020;153(1):40-48.

[24] Soliman PT, Oh JC, Schmeler KM, Sun CC, Slomovitz BM, Gershenson DM. Risk factors for young premenopausal women with endometrial cancer. *Obstetrics and Gynecology* 2005;105(3):575.

## **LEGGENDA PER LE TABELLE E FIGURE**

**Tabella 1.** Caratteristiche delle pazienti incluse ed esiti del trattamento conservativo dell'iperplasia endometriale atipica e dell' early endometrial cancer.

**Figure 1.** Bassa espressione di Dusp6 (immunocolorazione da nulla a debole) (ingrandimento 200X).

**Figure 2.** Alta espressione di Dusp6 (immunocolorazione da moderata a intensa) (ingrandimento 200X).

**Figure 3.** Area sotto la curva (AUC) sulla curva ROC (Receiver Operating Characteristic) di una debole espressione immunoistochimica di Dusp6 nel predire mancata regressione dell'iperplasia endometriale atipica o dell'early endometrial cancer dopo trattamento conservativo.