



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Scuola di Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Oncologiche e Gastroenterologiche –

DiSCOG

*Direttore: Ch.mo Prof. Umberto Cillo*

Unità Operativa Complessa Oncologia 2, Istituto Oncologico Veneto - IRCSS

*Direttore: Ch.ma Prof.ssa Valentina Guarneri*

TESI DI LAUREA

**Carcinoma dell'endometrio: correlazione tra  
caratteristiche clinico-patologiche, sottotipi molecolari  
e misure di outcome**

Relatore: Ch.ma Prof.ssa Valentina Guarneri

Correlatore: Dott.ssa Giulia Tasca

Laureanda: Alessia Leone

ANNO ACCADEMICO 2023/2024



# INDICE

<b>ABSTRACT</b> .....	1
<b>CAPITOLO 1: INTRODUZIONE</b> .....	5
<b>1. IL TUMORE DELL'ENDOMETRIO</b> .....	5
<b>1.1 EPIDEMIOLOGIA</b> .....	5
<b>1.2 FATTORI DI RISCHIO</b> .....	5
<b>1.2.1 Fattori di rischio ambientali</b> .....	6
<b>1.2.2 fattori di rischio ormonali</b> .....	7
<b>1.2.3 Fattori di rischio genetici</b> .....	8
<b>1.3 ISTOPATOLOGIA</b> .....	9
<b>1.4 CLASSIFICAZIONE BIOMOLECOLARE</b> .....	13
<b>1.4.1 POLE-mutant</b> .....	14
<b>1.4.2 MMRd (MisMatch Repair Deficient)</b> .....	16
<b>1.4.3 p53abn</b> .....	17
<b>1.4.4 NSMP (Non Specific Molecular Profile)</b> .....	19
<b>1.4.5 Multiple classifiers</b> .....	20
<b>1.5 DIAGNOSI</b> .....	21
<b>1.6 STADIAZIONE</b> .....	22
<b>1.7 PROGNOSE E RISK ASSESSMENT</b> .....	25
<b>1.8 TRATTAMENTO</b> .....	27
<b>1.8.1 Trattamento della malattia locale e localmente avanzata</b> .....	27
<i>Chirurgia</i> .....	27
<i>Terapia adiuvante</i> .....	28
<i>Terapia neoadiuvante</i> .....	29
<b>1.8.2 Trattamento della malattia metastatica e della recidiva</b> .....	30
<b>1.9 FOLLOW-UP</b> .....	32
<b>CAPITOLO 2: SCOPO DELLO STUDIO</b> .....	34
<b>CAPITOLO 3: MATERIALI E METODI</b> .....	35
<b>1. PAZIENTI</b> .....	35
<b>2. ANALISI STATISTICA</b> .....	35
<b>CAPITOLO 4: RISULTATI</b> .....	37
<b>1. CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE</b> .....	37

<b>2.</b>	<b>STUDIO DI ASSOCIAZIONE TRA GRUPPI MOLECOLARI E CARATTERISTICHE CLINICO-PATOLOGICHE .....</b>	<b>40</b>
<b>3.</b>	<b>MIGRAZIONE DELLA CLASSE DI RISCHIO .....</b>	<b>43</b>
<b>4.</b>	<b>ANALISI DI SOPRAVVIVENZA .....</b>	<b>43</b>
<b>5.</b>	<b>ESPRESSIONE RECETTORIALE NEL GRUPPO NSMP ....</b>	<b>45</b>
	<b>CAPITOLO 5: DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.....</b>	<b>46</b>
	<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>52</b>

## ABSTRACT

**Premessa:** In Italia il carcinoma endometriale è il tumore ginecologico più frequente e rappresenta il 5.5% di tutti i tumori femminili. A partire dal 1983, il tumore dell'endometrio è stato classificato su base istologica, secondo il modello di Bokhman. Nel 2013 il *Cancer Genome Atlas Research Network* ha proposto una nuova classificazione su base molecolare che ha permesso di definire quattro sottogruppi di carcinoma endometriale: POLE mutant comprendente il 7% dei carcinomi endometriali, MMRd (*MisMatch Repair Deficient*) il 28%, p53 abnormal il 26%, NSMP (*Non Specific Molecular Profile*) il 39%. Successivi studi hanno dimostrato l'effettiva importanza prognostica di questa caratterizzazione molecolare. Attualmente, essa è impiegata nella pratica clinica per indirizzare la scelta del trattamento adiuvante.

**Scopo dello studio:** Questo studio retrospettivo si è posto l'obiettivo di valutare l'associazione esistente tra fattori clinico-patologici classici e fenotipo molecolare in una casistica *real life* di 150 pazienti. Sono state analizzate le percentuali di migrazione di stadio e di classe di rischio alla diagnosi avvenute con l'introduzione della classificazione molecolare. È stata analizzata la sopravvivenza globale e libera da malattia come valutazione dell'outcome della popolazione. Infine, è stato valutato l'impatto dell'espressione dei recettori ormonali sull'outcome nel gruppo NSMP.

**Materiali e metodi:** Nello studio sono state incluse 150 pazienti prese in carico presso la UOC Oncologia 2 dell'Istituto Oncologico Veneto di Padova e la Clinica Ginecologica Azienda Ospedale – Università di Padova nel periodo intercorso tra gennaio 2021 e maggio 2024. Le cartelle cliniche sono state revisionate retrospettivamente. L'associazione tra fattori clinico-patologici e fenotipo molecolare è stata valutata con il test del chi-quadrato di Pearson e con il test "per il trend" nel caso di variabili non dicotomiche. Gli indici di outcome sono stati espressi attraverso il loro valore mediano ed il range interquartile. Le migrazioni di stadio e di classe di rischio sono state espresse in percentuale.

**Risultati:** Delle 150 pazienti analizzate, il 7.3% è risultato POLE-mut, il 31.3% MMRd, il 16.7% p53abn e il 44.7% NSMP. Abbiamo osservato un'associazione statisticamente significativa tra fenotipo molecolare e istologia, *grading*, infiltrazione miometriale, stato linfonodale, stadio FIGO 2018, stadio FIGO 2023 ed espressione recettoriale, mentre non abbiamo osservato alcuna associazione con età, classe BMI e LVSI. Con l'introduzione del dato molecolare è avvenuta una migrazione di stadio nel 22% della popolazione ed una migrazione di classe di rischio nel 4% della popolazione. Dopo un follow-up mediano di 15 mesi, la mortalità è stata dell'11.3%. La recidiva di malattia è avvenuta nel 18.7% dei casi, con una *progression free survival* mediana di 14 mesi (IQR 6-24), mentre l'*overall survival* mediana è risultata di 15 mesi (IQR 7-26). Considerando l'outcome dei singoli gruppi molecolari, il gruppo POLE-mut ha presentato un tasso di recidiva del 18.2% e di mortalità del 9.1%, il gruppo MMRd del 21.3% e del 12.8%, il gruppo p53abn del 40% e del 32% e il gruppo NSMP del 9% e del 3%. L'analisi dell'impatto dell'espressione recettoriale sull'outcome del gruppo NSMP non ha dimostrato significatività statistica a causa della bassa numerosità campionaria.

**Conclusioni:** Le caratteristiche della popolazione selezionata sono risultate in linea con quanto noto in letteratura. Allo stesso modo, i risultati derivanti dallo studio di associazione tra caratteristiche clinico-patologiche e gruppi molecolari ricalcano i dati presenti in letteratura. Alcune discordanze si sono evidenziate nell'associazione tra gruppo molecolare ed età o classe BMI, che non sono risultate statisticamente significative. I tassi di recidiva e mortalità, sia nella popolazione globale che nei vari gruppi molecolari, si sono dimostrati coerenti con le evidenze derivanti dalla letteratura. Alcune contraddizioni sono insorte nel gruppo POLE-mut, in cui l'outcome non è risultato eccellente come noto in letteratura, probabilmente a causa della bassa numerosità campionaria. Le percentuali di migrazione di stadio e di classe di rischio si allineano a quanto evidenziato da altri studi sull'argomento. La numerosità campionaria e la lunghezza del follow-up rappresentano i limiti principali dello studio: un setting multicentrico con una popolazione campione più ampia ed un follow-up maggiore permetterebbe l'esecuzione di analisi più accurate.

**Background:** In Italy, endometrial carcinoma is the most frequent gynecological tumor and represents 5.5% of all female tumours. Since 1983, endometrial tumours have been classified based on their histological characteristics, according to the Bokhman model. In 2013, the Cancer Genome Atlas Research Network proposed a new molecular classification that defined four subgroups of endometrial carcinoma: POLE mutant comprising 7% of endometrial cancer, MMRd (Mismatch Repair Deficient) 28%, p53 abnormal 26%, NSMP (Non Specific Molecular Profile) 39%. Subsequent studies have shown the prognostic importance of this molecular characterization. Currently, it is used in clinical practice to guide the choice of the adjuvant treatment.

**Aim of the study:** This retrospective study aimed to evaluate the association between classical clinical-pathological factors and molecular phenotype in a real life population of 150 patients. The rates of migration of stage and risk class at diagnosis occurred with the introduction of molecular classification were analysed. Overall and disease-free survival were analysed to assess the outcome both of the population and of the different molecular groups. Finally, the impact of hormone receptor expression on outcome in NSMP cancers was evaluated.

**Materials and methods:** In the study, 150 patients were included between whom treated at the Oncology Unit of the Istituto Oncologico Veneto of Padua and Clinica Ginecologica Hospital – University of Padua between January 2021 and May 2024. Medical records were reviewed retrospectively. The association between clinical-pathological factors and molecular phenotype was evaluated with the Pearson chi-square test and with the "trend" test in the case of non-dichotomous variables. Outcome indices were expressed through their median value and interquartile range. Migrations of stage and risk class were expressed as a percentage.

**Results:** Of the 150 patients analysed, 7.3% were POLE-mut, 31.3% MMRd, 16.7% p53abn and 44.7% NSMP. We observed a statistically significant association between molecular phenotype and histology, grading, myometrial infiltration, lymph node status, FIGO 2018 stage, FIGO 2023 stage and receptor expression, whereas we didn't observe any association with age, BMI class and LVSI. With the introduction of the molecular classification, 22% of the population has undergone

stage migration and 4% have undergone risk class migration. After a median follow-up of 15 months, mortality was 11.3%. Disease relapse occurred in 18.7% of cases, with a median progression free survival of 14 months (IQR 6-24), whereas the median overall survival was 15 months (IQR 7-26). Considering the outcome of individual molecular groups, POLE-mut group showed a recurrence rate of 18.2% and mortality of 9.1%, MMRd group 21.3% and 12.8%, p53abn group 40% and 32% and NSMP group 9% and 3%. The analysis of the impact of receptor expression on the outcome of the NSMP group did not demonstrate statistical significance due to small sample size.

**Conclusions:** The characteristics of the selected population were in line with what is known in literature. Similarly, the results of the association study between clinical pathological characteristics and molecular groups are similar to those found in the literature. Some discrepancies were found in the association between molecular group and age or BMI class, which were not statistically significant. The rates of relapse and mortality, both in the global population and in the various molecular groups, were consistent with the evidence from the literature. Some contradictions have arisen in the POLE-mut group, where the outcome was not excellent as known in literature, probably due to the small sample size. The rates of stage and risk class migration are consistent with the results from other studies on the subject. The sample size and the length of follow-up represent the main limitations of the study: a multicentre setting with a larger population and a longer follow-up would allow for more accurate analysis.



# CAPITOLO 1: INTRODUZIONE

## 1. IL TUMORE DELL'ENDOMETRIO

### 1.1 EPIDEMIOLOGIA

Il tumore dell'endometrio (EC) rappresenta la sesta neoplasia per frequenza nella popolazione femminile nel mondo [1]. Esso è maggiormente diffuso nei paesi sviluppati, in cui sale al quarto posto. Nel 90% dei casi sono colpite donne in età post-menopausale al di sopra dei 50 anni, con età mediana alla diagnosi di 63 anni [2]. Globalmente, nel 2022 è stata registrata un'incidenza dell'8,4%, con il riscontro di 420.242 nuovi casi. Nello stesso anno la mortalità è stata dell'1,7%, con 97.701 decessi segnalati in tutto il mondo. È stato, quindi, calcolato che il rischio per una donna di contrarre la malattia nel corso della vita è dell'1,01%; mentre il rischio di morire di tumore endometriale, nel caso questo fosse diagnosticato, è dello 0,20% [1].

Osservando la situazione italiana, nel 2023 sono stati 10.200 i nuovi casi registrati, ovvero il 5,5% di tutti i tumori femminili, mentre nel 2022 i decessi sono stati 2.500 [3]. È necessario sottolineare che incidenza e mortalità del tumore endometriale presentano un trend in aumento negli ultimi anni, in particolar modo per le donne nella fascia d'età 60-79 anni, a differenza di ciò che si osserva per altre neoplasie ginecologiche. La probabilità di sopravvivenza a 5 anni rimane stabile al 79% e, superato il primo anno, sale all'86%. Infatti, nel 90% dei casi l'EC risulta essere precocemente sintomatico, permettendo, quindi, una diagnosi precoce nell'80% dei casi con malattia ancora confinata all'interno dell'utero [2,3].

### 1.2 FATTORI DI RISCHIO

Il principale meccanismo patogenetico coinvolto nello sviluppo del tumore endometriale è l'iperestrogenismo. L'80% dei casi di EC sono, infatti, classificati come forme ormono-sensibili, altresì definiti tumori endometriali di tipo 1 [4]. In questi casi, la presenza di uno squilibrio ormonale estro-progestinico con tendenza in senso estrogenico, a scapito del progesterone, determina una continua spinta proliferativa per le cellule endometriali. Questo comporta inizialmente lo sviluppo

di lesioni premaligne, come l'iperplasia endometriale complessa (associata o meno ad atipie cellulari), a cui segue nel tempo la formazione della neoplasia endometriale [4,5]. Il restante 20% dei casi è costituito da tumori endometriali ormono-indipendenti, che non necessitano di iperplasia endometriale per svilupparsi, e si riscontrano in donne con età maggiore, tipicamente in periodo post-menopausale. Per queste forme i principali fattori di rischio riconosciuti sono una storia clinica di progressiva radioterapia pelvica o di terapia con Tamoxifene [3].

In generale, i fattori predisponenti lo sviluppo di EC sono molteplici e possono essere classificati in fattori ambientali, ormonali e genetici.

### **1.2.1 FATTORI DI RISCHIO AMBIENTALI**

Tra i fattori di rischio ambientali, il primo a dover essere citato è l'obesità. L'associazione evidenziata fra obesità e tumore endometriale è forte e dose-dipendente: all'aumentare del BMI (Body Mass Index) aumenta anche l'incidenza di EC. Una meta-analisi condotta dall'*American Institute for Cancer Research* ha dimostrato come, all'aumentare di 5 unità di BMI, il rischio di sviluppare cancro endometriale aumenta del 50% (relative risk [RR] 1.50, 95% CI: 1.42-1.59) [6]. Inoltre, in caso di diagnosi di EC, con il BMI cresce anche la mortalità: per le donne con BMI tra 30 e 34.9 kg/m<sup>2</sup> la mortalità è del 150% maggiore, con un BMI tra 35 e 39.5 kg/m<sup>2</sup> del 525% (RR 2.50, 95% CI: 1.83-4.18, p<0.001; RR 6.25, 95% CI: 3.75-10.42, p<0.001) [7].

I meccanismi che possono spiegare questa forte associazione sono diversi. In primo luogo, un'aumentata massa adiposa si associa a livelli di estradiolo locale e circolante incrementati. Infatti, nei soggetti obesi si osservano maggiori attività secretorie surrenaliche con una maggiore produzione di precursori androgenici, che vengono a loro volta maggiormente convertiti in estradiolo a livello del tessuto adiposo dall'enzima aromatasi. Inoltre, nei soggetti obesi diminuiscono i livelli di sex-hormone binding globuline (SHBG) con un aumento conseguente del pool di estradiolo bioattivo circolante [5]. Questi cambiamenti, in particolare la riduzione di SHBG, sono imputabili all'azione delle adipochine, polipeptidi secreti dal tessuto adiposo, che regolano il metabolismo contribuendo a creare uno stato di insulino-resistenza.

Gli estrogeni, legandosi ai loro recettori  $\alpha$  e  $\beta$ , inducono la trascrizione di geni proliferativi, come IGF1 e IGF1R. Questi, assieme all'azione svolta dall'iperinsulinemia, intervengono iperattivando le pathways cellulari di MAPK e

PI3K/AKT/mTOR, amplificando il segnale proliferativo. A sua volta questo è aumentato anche dall'eventuale perdita del gene oncosoppressore PTEN.

Questo dimostra come gli estrogeni svolgano un effetto mitogeno diretto; tuttavia, essi possiedono anche un effetto mutageno. È, infatti, possibile che alcuni metaboliti genotossici degli estrogeni reagiscano con il DNA determinando un accumulo di *DNA double-strand breaks*, contribuendo all'instabilità genetica delle cellule. Questa situazione di instabilità genetica aumenta la probabilità di accumulare mutazioni che possono poi condurre allo sviluppo di iperplasia e successivamente neoplasia endometriale [6].

Altre componenti della sindrome metabolica associate ad aumentato rischio di tumore endometriale sono l'ipertensione ed il diabete mellito, in particolare quello di tipo 2 [2]. Quest'ultima patologia, infatti, è caratterizzata da iperinsulinemia, iperglicemia e aumentati livelli di IGF1, tutti elementi che, come si è visto precedentemente, concorrono in via diretta o indiretta ad aumentare la spinta proliferativa a livello cellulare. È stato infatti dimostrato che il rischio di sviluppare una neoplasia endometriale aumenta del 97% in presenza di diabete (RR 1.97, 95% CI: 1.71-2.27) [8].

Infine, anche le abitudini alimentari sembrano avere un ruolo tutt'altro che marginale nello sviluppo del cancro dell'endometrio. Una meta-analisi condotta nel 2007, coinvolgente 3 studi di coorte e 16 studi caso-controllo, ha messo in luce una correlazione fra il consumo di 100 g di carne al giorno (RR 1.26, 95% CI: 1.03-1.54), in particolare di carne rossa (1.51, 95% CI: 1.19-1.93), e lo sviluppo di EC [9].

### **1.2.2 FATTORI DI RISCHIO ORMONALI**

Parlando di fattori ormonali, bisogna prendere in considerazione le cause di iperestrogenismo endogeno ed esogeno. Tra le cause endogene sono da ricordare, oltre ad obesità e diabete – già citati –, anche la nulliparità, l'anovulazione cronica, il menarca tardivo, la menopausa precoce e la presenza di tumori estrogeno-secernti.

In particolare, una meta-analisi ha evidenziato l'esistenza di una significativa relazione inversa fra la parità e il rischio di EC (RR 0.69, 95% CI: 0.65-0.74): all'aumentare del numero di parti la donna è sempre più protetta, mentre se fosse nullipara il rischio sarebbe maggiore [10].

Una meta-analisi pubblicata nel 2009 ha dimostrato che la persistenza cronica di cicli anovulatori, tipicamente associati alla sindrome dell'ovaio policistico (PCOS),

è un fattore predisponente per lo sviluppo di EC (OR 2.70) [11]. Infatti, in caso di assenza prolungata di ovulazione, la produzione di ormoni sessuali viene inficiata, con una predominanza di estrogeni, non controbilanciata dal progesterone, prodotto normalmente dal corpo luteo [5].

Valutando le cause esogene di iperestrogenismo, è da citare l'utilizzo di terapia ormonale estrogenica non supplementata con progesterone. In questo caso è stato documentato un rischio superiore fino a 10 volte il normale: il rischio aumenta dopo 12 mesi di terapia a dosi moderate-alte, oppure dopo 18-24 mesi di terapia a basse dosi [5].

Anche l'utilizzo di Tamoxifene come terapia ormonale nel carcinoma mammario ER (estrogen receptor) positivo è associato ad un'aumentata incidenza di tumori endometriali. Nelle utilizzatrici di Tamoxifene si osserva una maggiore incidenza di istotipi aggressivi, con prognosi peggiore. Questo è stato descritto soprattutto in donne in periodo post-menopausale con aumentato BMI. Il rischio in questo caso è associato alla durata complessiva della terapia e all'effetto cumulativo del farmaco [5, 12].

### **1.2.3 FATTORI DI RISCHIO GENETICI**

Nonostante rappresentino una percentuale minore, si riscontrano anche casi di EC su base eredo-familiare. Ad esempio, la Sindrome di Lynch (LS) non causa solo cancro del colon retto (CCR), ma anche altri tumori satelliti, tra cui il più frequente è proprio il tumore endometriale. La sindrome di Lynch è una condizione genetica, ereditata come tratto autosomico dominante, causata dalla mutazione di uno dei geni codificanti per le proteine del sistema Mismatch Repair (MMR): MLH1, MSH2, MSH6, PMS2. Il MMR serve alle cellule per riparare gli errori avvenuti durante la replicazione del DNA: un'alterazione del suo funzionamento conduce ad uno stato di instabilità microsatellitare (MSI); la cellula è, quindi, maggiormente prona ad accumulare mutazioni. Complessivamente, un individuo con LS presenta un rischio del 40-60% di sviluppare EC nel corso della vita. In particolare, secondo il *Prospective Lynch Syndrome Database*, il rischio cumulativo di sviluppare EC in una donna di 75 anni con una mutazione di MLH1, MSH2, MSH6 o PMS2 è rispettivamente del 37.0%, 48.9%, 41.1% e 12.8% [13]. Quella di MSH2 è, quindi, la mutazione più frequentemente associata con lo sviluppo di EC all'interno della Sindrome di Lynch, mentre l'alterazione di MSH6 si è dimostrata essere un tratto sesso-limitato: essa correla con un elevato rischio di EC nel sesso femminile,

mentre il rischio di CCR aumenta solo moderatamente in entrambi i sessi [13]. Nelle donne affette da LS diminuisce anche l'età di insorgenza del tumore endometriale. Infatti, la MSI sembra interessare precocemente il processo di trasformazione neoplastica [5]. In uno studio volto a valutare l'efficacia della chirurgia profilattica nell'ambito della LS, coinvolgente 69 donne affette dalla sindrome e da EC-associato, il 18% di EC è stato diagnosticato prima dei 40 anni, mentre nella popolazione generale l'età media alla diagnosi è di 60 anni [14].

Un altro esempio è la Sindrome di Cowden (CS), una sindrome tumorale amartomatosa congenita, ereditata anch'essa come tratto autosomico dominante. In questo caso la mutazione avviene a livello del gene oncosoppressore PTEN, codificante per una fosfatasi coinvolta nella proliferazione e sopravvivenza cellulare. Il tumore endometriale si riscontra nel 21-28% dei soggetti con CS, e anche in questo caso lo sviluppo della neoplasia inizia in giovane età [15].

Le due sindromi descritte rappresentano le cause principali di EC ereditario, ma i casi ad esse associati non sono frequenti: le mutazioni di MMR e PTEN che si riscontrano nei tumori endometriali sono nella maggior parte dei casi insorte sporadicamente a livello somatico; le mutazioni germinali sono invece una minoranza.

### 1.3 ISTOPATOLOGIA

Facendo riferimento al modello dualistico proposto da JV Bokhman nel 1983, che si basa sulle caratteristiche clinico-patologiche del tumore, i carcinomi dell'endometrio vengono classificati in due varianti [4]:

- **Carcinoma endometrioide di tipo I:** è tipicamente bene o moderatamente differenziato. È estrogeno-dipendente: insorge in donne in pre- o perimenopausa, spesso affette da obesità, iperlipidemia, anovulazione. Costituisce il naturale sviluppo dell'iperplasia endometriale complessa, all'interno di un processo tumorigenico guidato dall'iperestrogenismo. Ha decorso favorevole, rimanendo spesso confinato all'interno dell'utero [4,16].

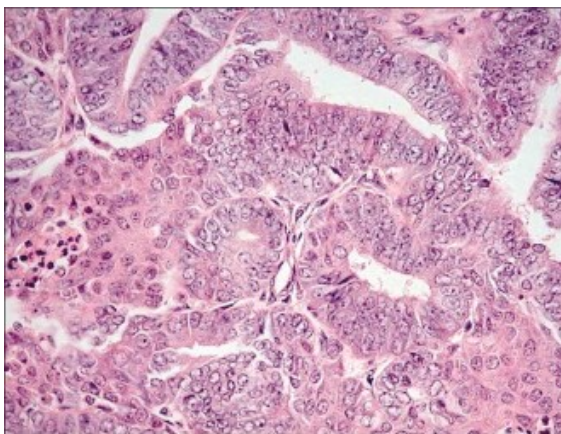
- **Carcinoma non endometriode di tipo II:** è un tumore scarsamente differenziato, ad istotipo sieroso o a cellule chiare, estrogeno-indipendente. Insorge in donne con età maggiore, in post-menopausa. Il suo precursore è definito Carcinoma Intra-epiteliale Endometriale (EIC). Questi tumori sono aggressivi, caratterizzati da un'invasione rapida del miometrio e degli spazi linfovaskolari. Sono associati, quindi, a cattiva prognosi [4,16].

**Tabella I:** Caratteristiche clinico-patologiche del carcinoma endometriale [16].

	<b>Type I: Endometrioid Carcinoma</b>	<b>Type II: Serous Carcinoma</b>
Age	Pre- and perimenopausal	Postmenopausal
Unopposed estrogen	Present	Absent
Hyperplasia precursor	Present	Absent
Grade	Low	High
Myometrial invasion	Superficial	Deep
Growth behavior	Stable	Progressive
Genetic alterations	Microsatellite instability, PTEN, PIK3CA, $\beta$ -catenin	p53 mutations, loss of heterozygosity (LOH)

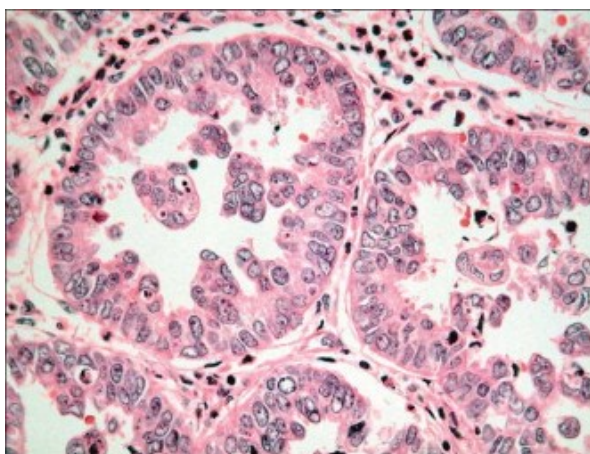
Dal punto di vista macroscopico il tumore endometriale può avere natura esofitica o diffusa ed è spesso multifocale [16]. A livello microscopico, gli istotipi più frequenti sono:

- **Carcinoma endometriode:** rappresenta l'80% dei casi. È caratterizzato dalla presenza di ghiandole simili a quelle normalmente presenti a livello endometriale. Il sistema WHO suddivide l'istotipo endometriode in tre gradi in base alla percentuale di aree neoplastiche ad architettura solida/non-ghiandolare presenti: <5% nel grado 1, ben differenziato; <50% nel grado 2, moderatamente differenziato; >50% nel grado 3, scarsamente differenziato. Il sistema FIGO li riunisce in due classi: tumori a basso grado (comprendono neoplasie G1 e G2) e tumori ad alto grado (G3) [16]. Lo sviluppo di questo istotipo si associa a cinque principali alterazioni molecolari: mutazioni di PTEN, PIK3CA,  $\beta$ -catenina, k-RAS e instabilità dei microsatelliti [2].



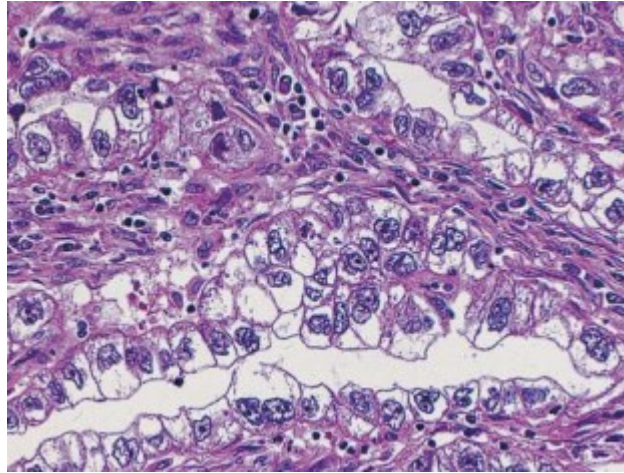
**Figura 1:** Preparato istologico di carcinoma endometrioido ben differenziato [17].

- **Carcinoma sieroso:** è il prototipo di carcinoma di tipo 2 e l'istotipo non-endometrioido più aggressivo. È scarsamente differenziato, ad alto grado, e presenta architettura papillare, con vaste aree di necrosi. Le cellule tumorali sono altamente pleomorfe e caratterizzate da un elevato indice mitotico. Frequentemente si associa alla mutazione del gene oncosoppressore TP53, all'amplificazione di HER2-Neu e alla perdita di eterozigosi in diversi cromosomi (LOH) [16,17].



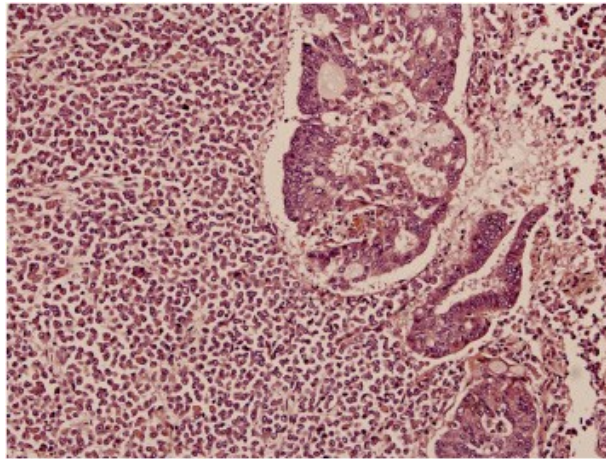
**Figura 2:** Preparato istologico di carcinoma sieroso [17].

- **Carcinoma a cellule chiare:** è un istotipo raro, più frequente in età avanzata, altamente aggressivo. È contraddistinto dalla presenza di “cellule a chiodo”, con un nucleo voluminoso protrudente verso il lume ghiandolare. Il pattern cellulare può essere di tipo papillare, tubolo-cistico o solido [2,16].



**Figura 3:** Preparato istologico di carcinoma a cellule chiare [16].

- **Carcinoma indifferenziato:** è un tumore altamente aggressivo, composto da piccole cellule epiteliali monomorfe. L'architettura neoplastica non presenta differenziazione ghiandolare o trabecolare; è caratterizzata, invece, da necrosi e alta attività mitotica cellulare [18].



**Figura 4:** Preparato istologico di carcinoma endometriale indifferenziato [18].

- **Carcinoma misto:** viene così definito un carcinoma endometriale in cui si riconoscono due diverse entità istologiche, di cui almeno una sierosa o a cellule chiare. Rappresenta circa il 10% dei tumori dell'endometrio [18].

Altri istotipi più rari sono stati descritti recentemente, come il carcinoma mesonefrico e simil-mesonefrico, il carcinoma a cellule squamose, il carcinoma mucinoso e il carcinosarcoma [18].

Per riassumere, l'istotipo endometriode è l'unico a poter essere definito di basso grado, se si presenta bene o moderatamente differenziato. Gli altri istotipi, essendo scarsamente differenziati, sono definiti di alto grado. Questi, assieme al carcinoma endometriode G3, sono altamente aggressivi ed associati ad una prognosi infausta.



Oltre all'istotipo e al grading FIGO, gli altri fattori prognostici clinico-patologici sono [2,19]:

- L'infiltrazione del miometrio (IM): fornisce una stima della profondità di infiltrazione del tumore e viene classificata come  $<50\%$  o  $\geq 50\%$ .
- L'invasione degli spazi linfovaskolari (LVSI): viene classificata come assente, focale o sostanziale. Una LVSI sostanziale è definita dalla presenza di emboli tumorali in più di quattro o cinque vasi ed è un forte predittore di metastatizzazione linfonodale e a distanza, oltre che di ridotto overall survival (OS).
- Lo stadio FIGO: valuta l'estensione del tumore e l'invasione linfonodale, di organi adiacenti e a distanza. È stato dimostrato essere un fattore prognostico forte di recidiva e sopravvivenza.

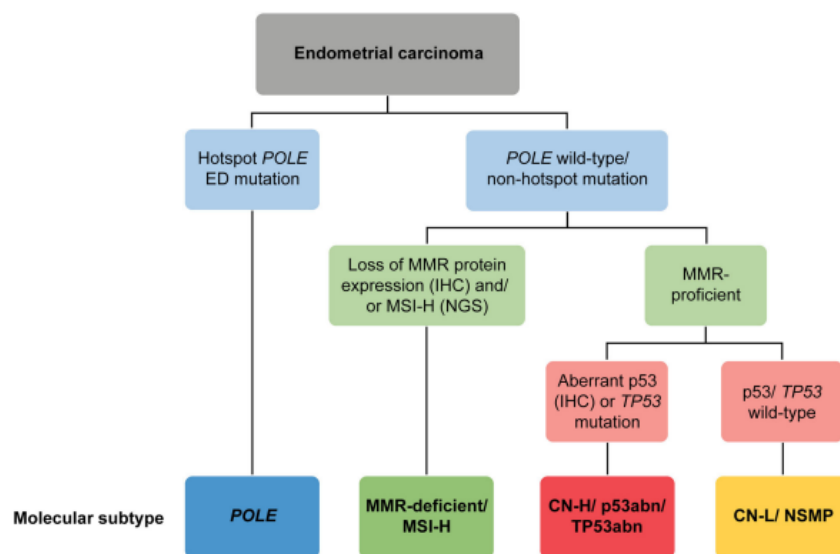
## 1.4 CLASSIFICAZIONE BIOMOLECOLARE

Nel 2013 il *The Cancer Genome Atlas (TCGA) Research Network* pubblicò uno studio riguardante l'analisi genomica, trascrittomica e proteomica di un campione di 373 EC, di cui 307 endometrioidi, 53 sierosi e 13 misti. Questa indagine evidenziò l'esistenza di quattro gruppi molecolari di EC, particolarmente rilevanti dal punto di vista prognostico [20]:

- **POLE/ultramutated**: il 7% dei casi, associati a prognosi eccellente, senza evidenza di recidiva indipendentemente dallo stadio del tumore.
- **Microsatellite-instability/hypermuted (MSI-H)**: il 28% dei casi, associati a prognosi intermedia.
- **Copy-number-low/endometrioid (CN-L)**: il 39% dei casi, associati a prognosi intermedia.
- **Copy-number-high/serous like (CN-H)**: il 26% dei casi, associati a prognosi infausta.

La classificazione proposta dal TCGA si basa sul sequenziamento dell'intero genoma e non è facilmente applicabile nel contesto della normale pratica clinica per i costi elevati. Due gruppi di ricerca, *ProMisE* e *TransPORTEC*, hanno sviluppato in maniera indipendente un metodo classificativo basato su test più sostenibili e anche diffusi in ambito clinico per identificare i quattro gruppi molecolari [21].

Questi metodi si avvalgono dell'utilizzo della tecnica di *next-generation sequencing* (NGS) e dell'analisi immunoistochimica (IHC) dei campioni. La NGS viene utilizzata per valutare la presenza di mutazioni patogeniche all'interno del dominio esonucleasico del gene POLE, fungendo da surrogato per il gruppo POLE-ultramutated. L'IHC viene utilizzata per valutare l'espressione delle proteine appartenenti al sistema DNA MisMatch Repair (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2), surrogato per il gruppo MSI-H; l'IHC serve, inoltre, per identificare l'espressione della proteina p53, surrogato per il gruppo CN-H [22]. È possibile realizzare questi test su campioni tumorali fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE). Ne è stata dimostrata l'alta riproducibilità, nonché l'elevata concordanza tra diversi laboratori e tra campioni derivati da biopsia e da isterectomia [21]. È stata evidenziata, infine, una forte significatività prognostica anche in popolazioni non selezionate, in popolazioni selezionate per età o per istotipo e in popolazioni derivanti da trial clinici [21].



**Figura 5:** Schema della classificazione molecolare, creato utilizzando i surrogati basati sui dati immunoistochimici e molecolari [22].

### 1.4.1 POLE-mutant

Il gruppo POLE-mut rappresenta approssimativamente l'8-10% di tutti i carcinomi endometriali ed è composto da ECs accomunati dalla presenza di una alterazione molecolare nel gene POLE. Questo codifica per la proteina DNA polimerasi ε, che presenta attività replicativa, di *proofreading* e di riparazione del DNA [21]. Essa contiene al suo interno un sito catalitico attivo, che polimerizza il filamento guida (*leading strand*) durante la replicazione del DNA, e un dominio esonucleasico che

svolge l'attività di *proofreading*. Ha la capacità di correggere l'inserimento di nucleotidi errati in senso 3'→5', ed interviene anche nei meccanismi di riparazione del DNA: *MisMatch Repair* (MMR), *Base Excision Repair* (BER), *Nucleotide Excision Repair* (NER), *double-strand break repair* [20]. Alterazioni nel dominio esonucleasico di POLE inducono l'accumularsi di mutazioni nel genoma cellulare: questi tumori si associano ad un alto carico mutazionale (>100 mut/Mb) e vengono per questo definiti ultramutati [20,21].

Le alterazioni che si riscontrano più frequentemente sono 5: P286R, V411L, S297F, A456P, S459F. Sono mutazioni somatiche, missenso, presenti in eterozigosi, e rappresentano il 95% delle varianti con significato patogenico del gene POLE [23]. Queste sembrano essere mutazioni driver, che non richiedono la presenza di un *second hit* da parte di un'altra mutazione o di una LOH; inoltre, sono eventi molto precoci, che probabilmente danno inizio al processo tumorigenico [20]. Dal punto di vista molecolare, oltre al fenotipo ultramutato, questi tumori sono caratterizzati da un'alta proporzione di trasversioni C→A, e bassa di C→G; presentano un basso tasso di *somatic copy-number alterations* (SCNAs); sono tipicamente associati a stabilità microsatellitare (MSS) [19,20,24].

Dal punto di vista istologico, gli EC POLE-mut sono tipicamente di istotipo endometrioidale di alto grado. Presentano foci caratterizzati da cellule con severa atipia nucleare e alto indice mitotico e da cellule giganti. Sono caratterizzati, inoltre, da un importante infiltrato immunitario di linfociti intraepiteliali CD8+ [19,20].

L'età alla diagnosi risulta essere minore, con una mediana di 60 anni, rispetto agli altri gruppi molecolari. I pazienti affetti presentano generalmente anche un BMI minore [19,25].

È stato dimostrato che il gruppo molecolare POLE-mut ha una prognosi eccellente, con quasi nessun evento di recidiva o di morte specifico per malattia, anche in tumori con caratteristiche clinico-patologiche sfavorevoli. Nei pochi casi in cui si è verificata una recidiva, è stato osservato un tasso di sopravvivenza elevato e sostenuto nel tempo, con un *survival* a lungo-termine dai 5 ai 14 anni. È stato, inoltre, dimostrato che questi outcome non sono associati all'utilizzo del trattamento adiuvante. Queste evidenze hanno portato a modificare le linee guida ESGO/ESTRO/ESP per gli ECs POLE-mut in stadio precoce (I-II): essi sono ora indicati come a basso rischio e non vi è più indicazione all'utilizzo di un trattamento adiuvante [21].

Le caratteristiche molecolari che permettono di identificare un tumore come ultramutato e, quindi, come POLE-mut, sono individuabili solo tramite sequenziamento completo di tutto il genoma cellulare. Questo non è applicabile al contesto clinico. Non esiste ancora un surrogato adeguato, però di prassi vengono sequenziati gli esoni 9, 11, 13 e 14 del dominio esonucleasico di POLE, ovvero quelli colpiti dalle mutazioni patogeniche più frequenti. Sono state create anche delle linee guida per interpretare le varianti di POLE e discriminare quelle a significato patologico, da quelle a significato incerto o non patologico [19,20].

#### **1.4.2 MMRd (Mismatch Repair Deficient)**

Il gruppo MMRd rappresenta il 25-30% di tutti gli EC e comprende tumori caratterizzati da instabilità microsatellitare (MSI). Questa dipende da un malfunzionamento del sistema *DNA Mismatch Repair* (MMR). Questo riconosce e ripara gli errori avvenuti durante la replicazione e la ricombinazione del DNA, come inserzioni, delezioni e incorporazioni errate di basi [26]. I principali effettori del sistema MMR sono quattro proteine: MLH1, MSH2, MSH6, PMS2. Se uno dei geni codificanti per queste proteine è colpito da una mutazione il sistema MMR sarà *deficient*. Di conseguenza il genoma cellulare accumulerà alterazioni, soprattutto nelle regioni microsatelliti, portando alla condizione di instabilità microsatellitare. È possibile caratterizzare un tumore come MSI effettuando un test molecolare PCR, oppure valutando la presenza o assenza delle proteine MMR tramite IHC. È stato dimostrato che il test IHC ha sensibilità equiparabile a quello molecolare e concordanza al 95%. Il test IHC è più economico, rapido e accessibile: per questo rappresenta un buon surrogato per individuare gli EC MMRd [20].

Il fenotipo MSI si riscontra non solo nei carcinomi endometriali, ma anche in altri tipi di tumori e la loro insorgenza si può associare alla sindrome di Lynch, caratterizzata dalla presenza di mutazioni germ-line delle proteine MMR. Si stima che circa il 10-14% degli EC MMRd siano associati alla sindrome di Lynch. Questo è più probabile se la mutazione riguarda le proteine MSH2, MSH6 o PMS2 (40 e 60% di probabilità), invece è meno frequente in caso di mutazione di MLH1 (2% di probabilità) [26]. L'alterazione delle proteine MMR che si riscontra più frequentemente è l'ipermetilazione del promotore di MLH1, ma questa si associa tipicamente ai casi sporadici di EC MMRd [26].

Dal punto di vista molecolare, questi tumori presentano alta frequenza mutazionale, seppur inferiore rispetto al gruppo POLEmut (>10 mut/Mb), e per questo sono definiti ipermutati. Inoltre, presentano un basso tasso di SCNAs [21]. Altre mutazioni frequentemente riscontrate sono quelle dei geni PTEN, PIK3CA e PIK3R1 [27]. Dal punto di vista istologico, i tumori MMRd originano spesso dal segmento uterino inferiore, sono tipicamente endometrioidi, presentano un importante infiltrato linfocitario tumorale e peritumorale, presentano sostanziale LVSI ed invasione miometriale più profonda, sono caratterizzati da un pattern di invasione di tipo MELF (*microcytic, elongated, fragmented*) [20,21,25,26].

Gli EC MMRd hanno prognosi intermedia. La presenza di un sistema MMR *deficient* sembra essere un fattore predisponente la recidiva in EC endometrioidi di basso grado, in stadio precoce. Per i carcinomi endometrioidi di alto grado rappresenta un fattore prognostico intermedio, mentre per i carcinomi non endometrioidi un fattore prognostico favorevole [20].

I tumori MMRd non sembrano avere un beneficio significativo in termini di sopravvivenza utilizzando il trattamento chemioterapico, mentre rispondono bene alla radioterapia. Essi sembrano essere possibili target degli *immune checkpoint inhibitors*, dal momento che presentano una iper-espressione di PD-1/PDL-1. Recentemente è stato approvato dall'Agencia Italiana del Farmaco (AIFA), dalla *Food and Drug Administration* (FDA) e dall'*European Medicines Agency* (EMA) il farmaco *Dostarlimab*, un anticorpo monoclonale anti-PD1, per trattare EC MMRd ricorrenti o avanzati, che hanno progredito dopo chemioterapia *platinum-based* [20].

### 1.4.3 p53abn

Il gruppo molecolare p53abn rappresenta circa il 15% di tutti gli EC ed è responsabile di più del 50% dei casi di mortalità. Questo gruppo molecolare è, infatti, associato alla prognosi peggiore, indipendentemente dall'istotipo del tumore. I tassi di recidiva sono alti, anche per tumori in stadio I (29,5% di probabilità). Per questo, secondo le linee guida ESGO/ESTRO/ESP 2020, tutti gli EC p53abn che presentino invasione miometriale devono essere considerati ad alto rischio. Questo approccio permette di evitare una sottostadiazione nel 42% dei casi, indirizzando necessariamente al trattamento adiuvante [21,27].

Questi tumori sono accomunati dalla presenza di mutazioni nel gene oncosoppressore TP53. Questo codifica per la proteina p53, che agisce come fattore di trascrizione: quando il DNA viene danneggiato essa induce l'espressione di proteine che interrompono il ciclo cellulare in fase G1 per permettere la riparazione del DNA; se il danno è troppo esteso induce l'espressione di fattori pro-apoptotici [20]. Per identificare queste mutazioni si può sequenziare il gene TP53 con la tecnica NGS, oppure si può valutare l'espressione della proteina p53 attraverso l'IHC. In caso di espressione *wild type* (wt) l'espressione nucleare di p53 dovrebbe essere osservabile in meno dell'80% delle cellule con intensità variabile. Se TP53 presenta una mutazione si possono distinguere quattro pattern di espressione della proteina [19,20]:

- **Pattern mutato – overespressione:** espressione nucleare diffusa e uniformemente intensa; è dovuto a mutazioni missenso.
- **Pattern mutato – assenza completa:** completa assenza di espressione nucleare; è dovuto a mutazioni frameshift o non senso.
- **Pattern mutato – citoplasmatico:** overespressione citoplasmatica; è dovuto a mutazioni loss of function (LOF) che coinvolgono il dominio C-terminale di localizzazione nucleare della proteina.
- **Pattern subclonale:** espressione mutata in un'area cellulare ben delimitata in un background di espressione wt.

Il test NGS e il test IHC presentano una concordanza del 94.5-95.1%; la tecnica IHC essendo più economica e accessibile risulta essere un buon surrogato per l'individuazione dei tumori p53abn [19].

Oltre alla mutazione di p53, questi tumori presentano generalmente MSS, basso tasso mutazionale ( $2.3 \times 10^{-6}$  mut/Mb) ed estese SCNAs. Dal punto di vista istologico, sono tipicamente tumori ad alto grado, di istotipo non endometrioido (spesso sieroso o indifferenziato). Non è raro riscontrare LVSI, invasione miometriale, positività linfonodale e stadio avanzato alla diagnosi. Per queste caratteristiche, questa categoria molecolare viene anche definita *Copy Number High/Serous Like* (CN-H) [20,21,26].

Questi tumori insorgono prevalentemente in pazienti con BMI basso e più anziane: l'età media alla diagnosi per questo gruppo è 60.3 anni, mentre per i restanti EC è 55.41 anni [25].

Come è stato già sottolineato, questo gruppo molecolare si associa alla prognosi peggiore. È stato evidenziato un miglioramento dell'outcome dopo trattamento chemioterapico *platinum-based* rispetto al solo trattamento radioterapico [21]. Si hanno evidenze che terapie a base di *PARP inhibitors* e *Trastuzumab* (anti-HER2) abbiano risultati promettenti: questi tumori sono spesso caratterizzati da HRD (*Homologous Recombination Deficiency*), alta espressione di PARP-1 e amplificazione di HER2 [20].

#### 1.4.4 NSMP (Non Specific Molecular Profile)

Il restante 50% dei carcinomi endometriali viene classificato come *Non Specific Molecular Profile* (NSMP), non presentando mutazioni di POLE, MMR o TP53 [21].

Questo gruppo di tumori risulta essere molto eterogeneo. Dal punto di vista molecolare, presentano un basso numero di SCNAs e un basso tasso mutazionale ( $2.9 \times 10^{-6}$  mut/Mb). Spesso risultano mutate le pathway di PI3K/Akt, wnt/CTNNB1 e ARID1A [20,21,28]. Dal punto di vista istologico, sono tumori frequentemente endometrioidi, di basso grado e con differenziamento squamoso, con poco infiltrato linfocitario tumorale. Mostrano alti livelli di espressione di recettori ormonali, sia estrogenici che progestinici (ER+/PR+) [21]. Avendo queste caratteristiche, vengono definiti anche *Copy Number Low/Endometrioid* (CN-L). Spesso si presentano in pazienti con BMI alto e hanno prognosi intermedia: essendo un gruppo eterogeneo, esso comprende sia tumori indolenti che aggressivi [29]. Gli EC endometrioidi di basso grado hanno prognosi buona, quelli di altro grado intermedia, quelli non endometrioidi hanno prognosi infausta [20].

È probabile che in futuro si cercherà di classificare in maniera più dettagliata questi tumori, andando a stratificarli sulla base dell'istologia (grado, istotipo, LVSI, profondità di invasione miometriale), delle caratteristiche immunoistochimiche (espressione di LCAM1) o molecolari (mutazione di CTNNB1 o di ARID1A).

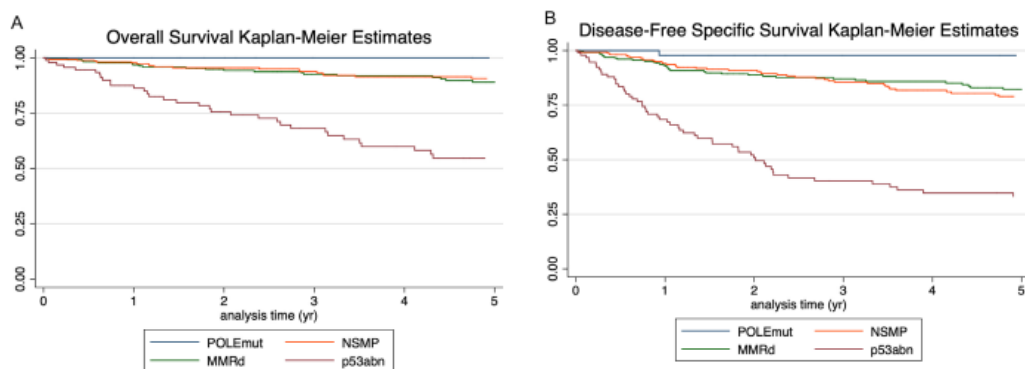
È stato osservato che è possibile stratificare gli EC NSMP anche sulla base dell'espressione dei recettori ormonali. Lo studio ENITEC ha proposto una classificazione specifica per questi tumori in tre gruppi di rischio: un gruppo ad alto rischio esprime bassi livelli di HR (0-10%), associato ad outcome sfavorevole (sopravvivenza a 5 anni del 75.9-83.3%); un gruppo a rischio intermedio esprime livelli moderati di HR (20-80%) con outcome intermedio (sopravvivenza a 5 anni

del 93.0-93.9%); un gruppo a basso rischio esprimente alti livelli di HR (90-100%) con outcome favorevole (sopravvivenza a 5 anni del 97.8-100%) [20,28].

### 1.4.5 Multiple classifiers

Alcuni carcinomi endometriali possiedono più di una caratteristica molecolare. Essi vengono definiti *multiple classifiers* e rappresentano circa il 3% di tutti i carcinomi endometriali. Sono: MMRd-p53abn, POLEmut-p53abn, MMRd-POLEmut, MMRd-POLEmut-p53abn [30]. La loro prognosi dipende dal sottotipo molecolare *driver*. Le mutazioni di POLE prevalgono sulle altre conferendo al tumore una prognosi migliore; lo stato MMRd prevale sulle alterazioni di p53 [20]:

- I tumori POLEmut-p53abn, MMRd-POLEmut e MMRd-POLEmut-p53abn devono essere classificati come EC POLEmut, con ottima prognosi.
- I tumori MMRd-p53abn devono essere classificati come EC MMRd, con prognosi intermedia.



**Figura 6:** Curve Kaplan-Meier rappresentanti l' A) Overall Survival e il B) Disease-Free Specific Survival dei diversi gruppi molecolari [31].



## 1.5 DIAGNOSI

Non esistono evidenze scientifiche che supportino l'utilizzo di procedure di screening in donne asintomatiche, ad eccezione delle pazienti affette da sindrome di Lynch, sebbene anche in questo caso le indicazioni fornite dalla letteratura siano controverse [32].

L'80% degli EC viene diagnosticato in fase precoce in quanto il tumore endometriale risulta precocemente sintomatico nel 90% dei casi. Il sintomo tipico è il sanguinamento uterino anomalo, da intendersi sia come perdite ematiche vaginali in menopausa sia come sanguinamenti inattesi in età fertile [2,3,33]. La presenza di questa sintomatologia in pazienti in post-menopausa porta alla diagnosi di EC nell'8-10% dei casi, dal momento che la causa più frequente del sanguinamento uterino atipico è l'atrofia endometriale [4,32]. In età fertile, invece, il sintomo viene spesso sottovalutato, portando a diagnosi spesso non tempestive. Una percentuale variabile tra il 2,2-3,1% dei casi rimane asintomatica nel tempo e spesso la diagnosi avviene accidentalmente [4]. I sintomi tardivi che possono insorgere sono dolore e leucorrea, dovuti ai fenomeni necrotico-colligativi tipici delle fasi più avanzate della malattia. In caso di interessamento linfonodale si può riscontrare edema agli arti inferiori, al pube, alla vagina. I sintomi che si presentano in caso di diffusione metastatica sono dolore addominale, pelvico, lombosacrale e gluteo, sindromi subocclusive, dolore osseo e dispnea [33].

Nel caso di un sanguinamento uterino anomalo l'esame di primo livello da eseguire è l'ecografia transvaginale (TVS), che permette di valutare lo spessore della rima endometriale. L'aggiunta del color e del power Doppler alla TVS permette di studiare anche la vascolarizzazione dell'endometrio e degli eventuali processi espansivi presenti. Sarà necessario eseguire degli esami di secondo livello, successivamente alla TVS, nel caso lo spessore della rima sia >4mm in postmenopausa, oppure nel caso superi l'intervallo di riferimento di 1-14 mm, in base al periodo del ciclo mestruale, in età fertile [33]. In caso di alterazioni riscontrate durante questi esami di primo livello, la diagnosi deve essere confermata tramite l'esame istologico di campioni ottenuti tramite biopsie mirate che possono essere eseguite in concomitanza della procedura di isteroscopia. Questa permette di valutare le anomalie uterine visualizzando direttamente la cavità endometriale [32]. Le biopsie possono essere eseguite tramite la tecnica di *curettag*e (raschiamento) o

tramite la tecnica con sonda *Pipelle*, che risulta avere maggior sensibilità (99.6%), ma con cui si ottengono campioni adeguati solo nel 34% dei casi [2,17,32].

Un'altra tecnica di imaging che può essere utilizzata è la risonanza magnetica (MRI), dal momento che permette di valutare più accuratamente la malattia loco-regionale. Contrariamente, la tomografia computerizzata (CT) e la tomografia a emissione di positroni (FDG-PET/CT) non vengono utilizzate durante la valutazione iniziale della malattia [32].

## 1.6 STADIAZIONE

La malattia endometriale deve essere stadiata tramite chirurgia e successivo esame anatomico-patologico dei campioni ottenuti, in quanto la valutazione clinica e preoperatoria determinano una sottostadiazione nel 20% dei casi [17,33].

Rimane di grande importanza l'esecuzione di un corretto e dettagliato studio preoperatorio. Questo comprende: esame obiettivo generale e ginecologico; TVS; radiografia del torace; profilo biochimico completo di emocromo, indici di funzionalità renale ed epatica; CT addominale; MRI pelvica con e senza mezzo di contrasto [2].

La CT presenta una minor accuratezza diagnostica nella stadiazione rispetto alla MRI; essa viene utilizzata per esaminare la presenza di malattia extrapelvica, in quanto permette di studiare i linfonodi retroperitoneali e il parenchima epatico. La MRI permette una miglior valutazione dell'estensione locale indagando più accuratamente la profondità di invasione miometriale, l'infiltrazione dello stroma cervicale, delle pareti vaginali, del tessuto adiposo dei parametri e la presenza di linfadenomegalie pelviche e lombo-aortiche. La FDG-PET/CT può essere utile per valutare accuratamente la presenza di metastasi a distanza, soprattutto a livello linfonodale, ma non dovrebbe essere eseguita di routine, secondo le linee guida. Infine, in caso di sospetta localizzazione ossea è possibile utilizzare la scintigrafia ossea [2,33].

Sono state stilate due classificazioni: la stadiazione FIGO (*International Federation of Gynecology and Obstetrics*) e la stadiazione AJCC (*American Joint Committee on Cancer*). La stadiazione FIGO è quella maggiormente utilizzata, in particolare nella versione del 2009. Essa si basa sull'estensione della malattia, indipendentemente dal grading, dall'istotipo e dal LVSI [33].

<b>Stadio I</b>	<b>Tumore limitato al corpo dell'utero</b>
<b>IA</b>	Nessuna infiltrazione o <50% del miometrio
<b>IB</b>	Infiltrazione ≥ 50% 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 ± pelvici positivi
<b>Stadio IV</b>	<b>Estensione alla mucosa vescicale o intestinale o metastasi a distanza</b>
<b>IVA</b>	Estensione alla mucosa vescicale o intestinale
<b>IVB</b>	Metastasi a distanza

**Tabella II:** Stadiazione FIGO 2009 [33].

Dal 2009 i progressi ottenuti nella comprensione del comportamento patologico e delle caratteristiche molecolari dei carcinomi endometriali sono stati notevoli. Per questo, nel 2023 la stadiazione FIGO è stata aggiornata [34]:

- Lo *staging system* FIGO2023 introduce una sottostadiazione degli stadi più precoci (I e II) sulla base dei fattori prognostici non tenuti in considerazione dalla classificazione del 2009: l'istotipo, il grading, il LVSI. Per gli stadi avanzati (III e IV) ridefinisce le sedi di estensione e di metastatizzazione (differenziando le micrometastasi [0.2-2mm] dalle macrometastasi [>2mm]), individuando diversi sottostadi.
- Lo *staging system* FIGO2023m introduce anche la componente molecolare, permettendo un *downstaging* dei tumori POLEmut (IAmpOLEmut), con prognosi migliore, e un *upstaging* dei tumori p53abn in stadio I (IICm<sub>p53abn</sub>), con prognosi peggiore.

Stage	Description
Stage I	Confined to the uterine corpus and ovary <sup>c</sup>
IA	Disease limited to the endometrium OR non-aggressive histological type, i.e. low-grade endometrioid, with invasion of less than half of myometrium with no or focal lymphovascular space involvement (LVSI) OR good prognosis disease IA1 Non-aggressive histological type limited to an endometrial polyp OR confined to the endometrium IA2 Non-aggressive histological types involving less than half of the myometrium with no or focal LVSI IA3 Low-grade endometrioid carcinomas limited to the uterus and ovary <sup>c</sup>
IB	Non-aggressive histological types with invasion of half or more of the myometrium, and with no or focal LVSI <sup>d</sup>
IC	Aggressive histological types <sup>e</sup> limited to a polyp or confined to the endometrium
Stage II	Invasion of cervical stroma without extrauterine extension OR with substantial LVSI OR aggressive histological types with myometrial invasion
IIA	Invasion of the cervical stroma of non-aggressive histological types
IIB	Substantial LVSI <sup>d</sup> of non-aggressive histological types
IIC	Aggressive histological types <sup>e</sup> with any myometrial involvement
Stage III	Local and/or regional spread of the tumor of any histological subtype
IIIA	Invasion of uterine serosa, adnexa, or both by direct extension or metastasis IIIA1 Spread to ovary or fallopian tube (except when meeting stage IA3 criteria) <sup>c</sup> IIIA2 Involvement of uterine subserosa or spread through the uterine serosa
IIIB	Metastasis or direct spread to the vagina and/or to the parametria or pelvic peritoneum IIIB1 Metastasis or direct spread to the vagina and/or the parametria IIIB2 Metastasis to the pelvic peritoneum
IIIC	Metastasis to the pelvic or para-aortic lymph nodes or both <sup>f</sup> IIIC1 Metastasis to the pelvic lymph nodes IIIC1i Micrometastasis IIIC1ii Macrometastasis IIIC2 Metastasis to para-aortic lymph nodes up to the renal vessels, with or without metastasis to the pelvic lymph nodes IIIC2i Micrometastasis IIIC2ii Macrometastasis
Stage IV	Spread to the bladder mucosa and/or intestinal mucosa and/or distance metastasis
IVA	Invasion of the bladder mucosa and/or the intestinal/bowel mucosa
IVB	Abdominal peritoneal metastasis beyond the pelvis
IVC	Distant metastasis, including metastasis to any extra- or intra-abdominal lymph nodes above the renal vessels, lungs, liver, brain, or bone
Stage designation	Molecular findings in patients with early endometrial cancer (Stages I and II after surgical staging)
Stage IA <sub>m</sub> <sup>pOLEmut</sup>	POLEmut endometrial carcinoma, confined to the uterine corpus or with cervical extension, regardless of the degree of LVSI or histological type
Stage IIC <sub>m</sub> <sup>p53abn</sup>	p53abn endometrial carcinoma confined to the uterine corpus with any myometrial invasion, with or without cervical invasion, and regardless of the degree of LVSI or histological type

**Tabelle III e IV: FIGO2023 e FIGO2023m staging system [34].**

Lo studio condotto dal *National Cancer Center Research Institute* di Tokyo, pubblicato nel 2023, ha preso in esame 265 EC, valutandone la stadiazione FIGO secondo la classificazione del 2009 e quella del 2023, sia nella versione classica che in quella molecolare. Questo studio ha riscontrato una percentuale di migrazione di stadio del 23.4%: è stato osservato un *upstaging* da stadio I a II in 58 pazienti, dovuto all'istotipo aggressivo (87.9%) o al LVSI sostanziale (12.1%); un *downstaging* da stadio III a stadio IA3 o IIA/B/C è stato riscontrato solo in 4 pazienti. Valutando la migrazione di stadio secondo il dato molecolare, un *downstaging* a stadio IA<sub>m</sub><sup>POLEmut</sup> è avvenuto in 19 pazienti per la presenza di POLE mutato, mentre quattro pazienti hanno subito un *upstaging* a stadio IIC<sub>m</sub><sup>p53abn</sup> per la presenza di p53 mutata. Secondo questo studio, il sistema FIGO2023m ha una miglior abilità discriminatoria rispetto ai sistemi FIGO2023 e FIGO2009 [35].

## 1.7 PROGNOSI E RISK ASSESSMENT

Lo stadio tumorale è uno dei fattori prognostici che influenza maggiormente la sopravvivenza a lungo termine [17]. Per tutte e tre le classificazioni FIGO si conferma l'evidenza che all'aumentare dello stadio diminuisce la *progression free survival* a 5 anni (PFS) [36]:

- **FIGO2009**: PFS di 80.9% in stadio I, 63.7% in stadio II, 61.2% in stadio III, 22.2% in stadio IV.
- **FIGO2023**: PFS di 79.9% in stadio I, 76.4% in stadio II, 62.2% in stadio III, 22.2% in stadio IV.
- **FIGO2023m**: PFS di 80.3% in stadio I, 75.2% in stadio II; PFS di 88.5% per il gruppo POLEmut, 76.1% per MMRd, 71.4% per NSMP, 43.8% per p53abn.

Oltre allo stadio, gli altri importanti fattori prognostici riconosciuti sono l'invasione miometriale, l'istotipo, il grado di differenziazione, il gruppo molecolare. Sulla base di tali fattori, nel 2020 l'*European Society of Gynecological Oncology* (ESGO), in collaborazione con l'*European Society of Radiotherapy* (ESTRO) e con l'*European Society of Pathology* (ESP), ha stilato delle classi di rischio molecolare con valore prognostico e le ha confrontate con le classi di rischio clinico-patologico precedentemente redatte. Queste linee guida servono durante la pratica clinica per orientare la scelta del corretto trattamento adiuvante [27].

Risk Group	Molecular Classification Unknown	Molecular Classification Known
Low	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stage IA endometrioid, grade 1-2, LVSI negative or focal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stage I-II POLE EDM endometrial carcinoma, no residual disease</li> <li>Stage IA MMRd/p53 wt endometrioid carcinoma + low grade + LVSI negative or focal</li> </ul>
Intermediate	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stage IB endometrioid, grade 1-2, LVSI negative or focal</li> <li>Stage IA endometrioid, grade 3, LVSI negative or focal</li> <li>Stage IA non-endometrioid (serous, clear cell, undifferentiated carcinoma, carcinosarcoma, mixed) without myometrial invasion</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stage IB MMRd/p53 wt endometrioid carcinoma + low-grade + LVSI negative or focal</li> <li>Stage IA MMRd/p53 wt endometrioid carcinoma + high-grade + LVSI negative or focal</li> <li>Stage IA p53 abn and/or non-endometrioid without myometrial invasion</li> </ul>
High-intermediate	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stage I endometrioid, substantial LVSI, regardless of grade and depth of invasion</li> <li>Stage IB endometrioid, grade 3, regardless of LVSI status</li> <li>Stage II</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stage I MMRd/p53 wt endometrioid carcinoma + substantial LVSI regardless of grade and depth of invasion</li> <li>Stage IB MMRd/p53 wt endometrioid carcinoma high-grade regardless of LVSI status</li> <li>Stage II MMRd/p53 wt endometrioid carcinoma</li> </ul>
High	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stage III-IVA with no residual disease</li> <li>Stage I-IVA non-endometrioid (serous, clear cell, undifferentiated carcinoma, carcinosarcoma, mixed) with myometrial invasion, and with no residual disease</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stage III-IVA MMRd/p53 wt endometrioid carcinoma with no residual disease</li> <li>Stage I-IVA p53abn endometrial carcinoma with myometrial invasion, with no residual disease</li> <li>Stage I-IVA p53 wt/MMRd serous, undifferentiated carcinoma, carcinosarcoma with myometrial invasion, with no residual disease</li> </ul>
Advanced	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stage III-IVA with residual disease</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stage III-IVA with residual disease of any molecular type</li> </ul>
Metastatic	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stage IVB</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stage IVB of any molecular type</li> </ul>

**Tabella V:** Classi di rischio prognostico ESGO/ESTRO/ESP 2020 [27].

Così come per la stadiazione FIGO2023m, anche per la classificazione di rischio molecolare le novità introdotte sono essenzialmente due [27]:

- I tumori POLEmut di stadio I e II vengono classificati come *low risk*, e non più come *intermediate* o *high-intermediate risk* in base all'istotipo, al grading, all'invasione miometriale e al LVSI.
- I tumori IA p53mut non sono più da considerare come *low risk*, ma come *intermediate risk*.

Uno studio condotto nel 2020 dall'Università Di Vienna si è posto l'obiettivo di descrivere se e come avvenisse la migrazione di classe di rischio, considerando anche il dato molecolare oltre a quello clinico-patologico, in un campione di 40 pazienti affette da EC. È stata evidenziata una variazione di classe nel 57.5% dei casi (23 pazienti). In particolare, il 10% era dovuto ad *upstaging* dalle classi *low* e *high-intermediate* alla classe *high-risk* (4 pazienti), e il 47.5% era dovuto a *downstaging* dalle classi *high*, *high-intermediate*, ed *intermediate* alla classe *low-risk* (19 pazienti) [37].

## **1.8 TRATTAMENTO**

### **1.8.1 Trattamento della malattia locale e localmente avanzata**

#### ***Chirurgia***

La terapia standard per il tumore dell'endometrio localizzato è rappresentata dalla chirurgia, che svolge un ruolo chiave anche nella stadiazione della malattia. L'approccio chirurgico può avvenire per via laparotomica oppure tramite tecniche mininvasive (laparoscopia e chirurgia robotica). Lo studio randomizzato GOG-LAP2 ha dimostrato che entrambe le modalità si associano ad una sopravvivenza globale a 5 anni superiore al 90%, riscontrando però significativi benefici in termini di durata di ospedalizzazione, controllo del dolore, complicanze e qualità di vita a favore della chirurgia miniinvasiva. Risultati equivalenti sono stati confermati anche dallo studio LACE [2,33].

La tipologia di intervento dipende dallo stadio e dalla classe di rischio della malattia.

Nelle pazienti con EC di stadio I si esegue una isterectomia semplice con annessiectomia bilaterale, mentre in stadio II è indicata l'isterectomia radicale con annessiectomia bilaterale. In questi casi, l'impiego della linfadenectomia (LAD) è oggetto di discussione. Dalla letteratura si evince che, in caso di basso rischio di secondarismi linfonodali, l'impiego della linfadenectomia non si associa ad un aumento in termini di sopravvivenza globale e libera da malattia. In caso di pazienti a rischio intermedio-alto di recidiva, la scelta migliore sembra essere la stadiazione chirurgica completa. Lo studio SEPAL ha confrontato i benefici della LAD pelvica vs LAD pelvica-lombo-aortica in pazienti ad alto rischio: è stato evidenziato un beneficio in termini di sopravvivenza globale a favore della linfadenectomia pelvica-lombo-aortica [33].

Negli ultimi anni, però, la LAD viene sempre più spesso sostituita dalla biopsia del linfonodo sentinella (SLNB) [3]. Lo studio SENTOR ha dimostrato che la SLNB possiede un'accuratezza diagnostica accettabile e rappresenta una valida alternativa per la stadiazione chirurgica [38]. Inoltre, l'utilizzo della SLNB si associa ad un minor rischio di complicanze linfatiche, come linfedema degli arti inferiori o linfocele pelvico, rispetto alla LAD sistematica [39]. Per questi motivi, secondo le linee guida ESMO, l'utilizzo della biopsia del linfonodo sentinella può essere considerato nelle pazienti con malattia a rischio basso o intermedio. Inoltre, può

rappresentare un'alternativa alla LAD sistematica nelle pazienti con malattia a rischio intermedio-alto o alto in stadio I-II [40].

In stadio III-IVA, con malattia resecabile e buon performance status, è indicata la citoriduzione chirurgica massima; mentre, in caso di controindicazioni chirurgiche, malattia non resecabile o presenza di metastasi a distanza (stadio IVB) la chirurgia acquisisce uno scopo puramente palliativo [2].

### ***Terapia adiuvante***

La scelta del trattamento adiuvante si basa sulla classe di rischio [26,33,40]:

- ***Low-Risk Class:*** In seguito al solo trattamento chirurgico il rischio di recidiva è inferiore al 5% e nel 75% dei casi questa è esclusivamente vaginale. Dai risultati del trial PORTEC-1, l'89% delle pazienti con recidiva vaginale isolata trattate con radioterapia pelvica (EBRT) e brachiterapia endovaginale (VBT) di salvataggio ha avuto una remissione completa. Per questa classe di rischio non è indicato quindi alcun trattamento adiuvante.
- ***Intermediate-Risk Class:*** Il rischio di recidiva varia tra il 5 e il 10%. Lo studio PORTEC-2 ha evidenziato come la VBT sia più efficace nel ridurre il rischio di recidiva vaginale rispetto alla EBRT, analizzata da PORTEC-1. La VBT può essere omessa se si assicura un adeguato follow-up, soprattutto in pazienti con età inferiore ai 60 anni.
- ***High-Intermediate-Risk Class:*** Il rischio di recidiva è stimato essere del 12-14%. In concordanza con i dati emersi negli studi PORTEC-2 e PORTEC-3, in caso di pN0 è raccomandata la VBT, mentre se lo stato linfonodale non è noto le linee guida ESMO indicano l'utilizzo della radioterapia adiuvante a fasci esterni (EBRT). Questa può essere eventualmente associata ad una chemioterapia concomitante e/o sequenziale, soprattutto in tumori G3 e/o con LVSI sostanziale.
- ***High-Risk Class:*** Il rischio di recidiva (vaginale, pelvica, a distanza) a 5 anni è di circa il 41%. Lo studio PORTEC-3 ha confrontato l'utilizzo della sola radioterapia vs l'associazione di EBRT e chemioterapia in questa classe di pazienti. Dai dati emersi si evidenzia che l'aggiunta della chemioterapia adiuvante aumenta in maniera significativa la sopravvivenza globale e quella libera da recidiva [41]. Le linee guida raccomandano, quindi, l'utilizzo di chemioterapia sistemica con Carboplatino e Paclitaxel per 4



cicli seguita da radioterapia. In alternativa si può utilizzare la sola chemioterapia con Carboplatino-Paclitaxel per 6 cicli, ma questa opzione è gravata da una maggiore tossicità e un maggior tasso di recidive linfonodali [33]. PORTEC-3 ha analizzato la diversa efficacia delle due opzioni terapeutiche (EBRT vs EBRT-CT) anche in base alla classificazione molecolare: il gruppo p53abn ha beneficiato maggiormente del trattamento combinato, mentre il gruppo POLEmut ha mostrato un'eccellente sopravvivenza in entrambi i bracci di trattamento. I gruppi NSMP e MMR-d hanno dato risultati intermedi: è stata notata una tendenza a trarre maggior beneficio dal trattamento combinato nel primo gruppo e dal solo trattamento radioterapico nel secondo [33].

### ***Terapia neoadiuvante***

Attualmente lo standard per il trattamento della malattia in stadio avanzato (III-IV) si avvale di una combinazione di chirurgia, chemioterapia e radioterapia, ma non esiste ancora consenso su quale sia la corretta sequenza terapeutica. Rimane però l'evidenza che il fattore prognostico più significativo in questi casi sia l'estensione della citoriduzione ottenuta [42]. È stato valutato il comportamento della chemioterapia neoadiuvante (NACT) seguita da chirurgia citoriduttiva (CRS), rispetto alla CRS seguita da CT adiuvante, in termini di outcome e complicanze: si è notato che l'utilizzo della NACT prima della CRS si associa alla stessa sopravvivenza globale della chirurgia+CT adiuvante, permettendo però un minor tasso di morbidità perioperatorie, con tempi di ospedalizzazione ed operatori minori [43].

La malattia localmente avanzata con interessamento cervicale maggiore viene tipicamente trattata con isterectomia radicale seguita da radioterapia adiuvante. È stata indagata la possibilità di variare l'approccio terapeutico utilizzando la radioterapia neoadiuvante seguita da isterectomia extra-fasciale: questa alternativa offre un buon controllo locoregionale con un basso tasso di morbidità *treatment-related* [44].

## 1.8.2 Trattamento della malattia metastatica e della recidiva

Le pazienti con recidiva di EC sono un gruppo molto eterogeneo che comprende la recidiva vaginale isolata, la singola metastasi a distanza e la metastatizzazione diffusa. Le principali sedi di metastasi in ordine decrescente di frequenza sono il polmone, il fegato, l'osso e l'encefalo [33].

Dai dati emersi dallo studio PORTEC-1, la recidiva vaginale isolata risulta curabile nel 75-89% dei casi se trattata con EBRT e/o VBT, eseguibili in pazienti non trattate precedentemente con terapia radiante. Le metastasi singole a distanza possono essere trattate con la resezione chirurgica oppure con la radioterapia che garantiscono un aumento dell'intervallo libero da progressione. Nella maggior parte dei casi si assiste però ad una ripresa di malattia multifocale a distanza, per cui le opzioni terapeutiche perseguibili sono la chemioterapia o l'ormonoterapia sistemica [33].

La prima linea terapeutica in caso di malattia avanzata o in ripresa è rappresentata dalla combinazione Carboplatino AUC 5-6 + Paclitaxel 175mg/m<sup>2</sup> ogni 21 giorni per 6 cicli [40]. Lo studio randomizzato GOG209 ha confrontato l'efficacia e la tossicità del regime Carboplatino-Paclitaxel (TC) vs Paclitaxel-Doxorubicina-Cisplatino (TAP). Dai risultati è emersa la non inferiorità di TC rispetto a TAP sia per OS (mediana di 37 vs 41 mesi, rispettivamente; *hazard ratio* [HR] 1.002, 90% CI:0.9-1.12) che per PFS (mediana di 13 vs 14 mesi; HR 1.032, 90% CI:0.93-1.15). Il regime TC si associa, inoltre, a minori tossicità rispetto a TAP [45].

L'associazione di TC con l'agente anti-angiogenico Bevacizumab ha, invece, fallito nel dimostrare un beneficio significativo in termini di PFS e OS. Attualmente non sono state identificate delle opzioni terapeutiche oltre la prima linea: Taxani e Doxorubicina possono essere utilizzati a scopo palliativo, ma hanno dimostrato efficacia moderata. Mimando l'approccio terapeutico del cancro ovarico, è stato studiato il concetto di *platinum-sensitivity* nell'EC, ed è stato dimostrato che riproporre una chemioterapia *platinum-based* è possibile in pazienti selezionati che abbiano recidivato dopo i 6 mesi dalla fine della prima linea di trattamento [40].

L'ormonoterapia viene utilizzata come trattamento di prima linea in pazienti con scadimento delle condizioni generali che presentino fattori predittivi di risposta alla terapia endocrina: EC di basso grado endometrioidale esprime i recettori ormonali estrogenico (ER) e progestinico (PR). I farmaci standard sono i progestinici: Medrossiprogesterone acetato 200mg e Megestrololo acetato 160mg. In alternativa,

è possibile ricorrere all'uso di Tamoxifene, Fulvestrant e Inibitori delle Aromatasi [33,40].

Attualmente, sono diversi gli studi volti a individuare nuove strategie terapeutiche per gli EC in stadio avanzato sulla base delle loro caratteristiche molecolari.

L'incorporazione dell'immunoterapia al trattamento iniziale per gli EC avanzati e metastatici porta ad un miglioramento sostanziale degli outcome, soprattutto per il gruppo MMRd [46]. Sulla base dei risultati evidenziati dallo studio GARNET, nel 2021 FDA, EMA ed AIFA hanno approvato Dostarlimab, antagonista di PDL-1, in monoterapia per il trattamento di pazienti affette da EC MMRd recidivante o avanzato [40].

Il trial di fase III KEYNOTE-775 ha evidenziato un miglioramento significativo della sopravvivenza globale, in pazienti con EC avanzato precedentemente chemiotratate, se trattate con l'associazione di Pembrolizumab (anti PD-1) e Lenvatinib (inibitore tirosinchinasico) rispetto al trattamento chemioterapico standard. Questi risultati hanno condotto all'approvazione nel 2021 da parte di FDA e nel 2022 da parte di EMA del trattamento con Pembrolizumab+Lenvatinib per pazienti con EC avanzato, indipendentemente dallo stato MMR, con una progressione di malattia dopo trattamento chemioterapico non candidabili alla terapia chirurgica o radioterapica [47].

Partendo dall'ipotesi che l'attività citotossica della chemioterapia favorisca l'esposizione di antigeni tumorali, è stata studiata la possibilità di associare immunoterapia+chemioterapia in prima linea. Il trial RUBY ha confermato che la combinazione Carboplatino/Paclitaxel+Dostarlimab determina un significativo aumento della PFS nella malattia avanzata o recidivante, con un beneficio sostanziale nella popolazione MMRd. Questa strategia è stata approvata da FDA ed EMA nel 2023 [48]. All'interno dello stesso setting, i trial AtTEnd e NRG hanno confermato l'efficacia, in termini di aumento di PFS, dell'associazione di Atezolizumab e Pembrolizumab, rispettivamente, con la chemioterapia standard [49,50].

Una terza strategia di associazione all'immunoterapia è rappresentata dall'utilizzo di inibitori PARP in quei tumori che presentano un difetto dei meccanismi di riparazione del DNA e quindi un alto tasso mutazionale, ovvero nei sottogruppi POLEmut e MMRd. Ad esempio, il DOMEK Trial-fase II ha lo scopo di investigare l'utilizzo di Durvalumab±Olaparib in EC recidivanti, refrattari o metastatici [33].

Dallo studio PALEO stanno emergendo, invece, risultati ottimistici riguardo l'impiego di Letrozolo (inibitore delle aromatasi) + Palbociclib (inibitore delle cicline) in tumori NSMP ormonopositivi.

Gli EC p53abn sono associati per definizione a cattiva prognosi. Essi sono più frequentemente di istotipo sieroso e nel 60% dei casi overesprimono HER2. Un trial randomizzato di fase II sta cercando di valutare l'efficacia della terapia di mantenimento con Trastuzumab (anti-HER2) al termine del trattamento chemioterapico con Carboplatino/Paclitaxel: nel braccio di associazione con Trastuzumab si osserva un significativo aumento di PFS e OS [33].

## 1.9 FOLLOW-UP

Tra il 14 e il 47% delle recidive di EC interessano la zona pelvica o vaginale e sono, pertanto, potenzialmente curabili. Questo impone lo svolgimento di follow-up eseguito con un'adeguata frequenza [33]. Nella maggior parte dei casi la ripresa di malattia si verifica nei primi due-tre anni dopo il trattamento radicale e tipicamente si manifesta con calo ponderale, dolore e sanguinamenti uterini [2,17]. La combinazione di anamnesi ed esame obiettivo, volta alla ricerca dei sintomi di recidiva, sembra avere un'accuratezza diagnostica elevata, circa dell'80%. Le linee guida AIOM raccomandano l'esecuzione di anamnesi, esame obiettivo e visita ginecologica ogni 3-4 mesi nei primi tre anni dal trattamento radicale e ogni 6 mesi nei successivi due anni. Questo permette di monitorare la comparsa di sintomi, e in caso di sospetto di recidiva, indirizzare la paziente agli adeguati esami diagnostici di secondo livello [33].

Dalla revisione della letteratura e dal consenso degli esperti, non emerge, invece, l'esistenza di un'associazione tra l'anticipazione diagnostica della recidiva, in fase asintomatica, e un beneficio in termini di sopravvivenza a lungo termine [33]. Inoltre, i vari metodi che possono essere utilizzati per tale scopo non si sono rivelati essere sufficientemente sensibili, se usati routinariamente[33]:

- L'esame citologico, valutato in quanto gran parte delle recidive si localizza a livello della cupola vaginale, individua la ripresa di malattia solo nello 0-6.8% dei casi asintomatici, con un rapporto costo-beneficio discutibile.
- La possibilità di utilizzare il marcatore CA125 nel carcinoma endometriale è molto incerta ed è stata indagata solo da uno studio pubblicato nel 1994.

- L'ecografia pelvica, se usata di routine in follow-up, ha un'accuratezza diagnostica del 4-31%, non significativa per essere raccomandata dalle linee guida.
- L'esecuzione periodica di CT addome-pelvi ha un tasso di riscontro di recidiva variabile tra il 5-21%, e non sembra essere associata ad un aumento dei tassi di sopravvivenza rispetto all'utilizzo del solo esame obiettivo.
- L'uso della radiografia del torace per valutare la presenza di malattia a distanza ha un'accuratezza compresa tra lo 0-20% in pazienti asintomatiche.
- La PET-CT ha, invece, sensibilità del 95.8% e specificità del 92.5%, ma essendo un esame di terzo livello deve essere utilizzata solo in caso di sospetto di recidiva.

Attualmente non esistono, pertanto, livelli di raccomandazione significativi per l'esecuzione di routine di tali indagini diagnostiche. Esse rimangono però indispensabili in caso di sospetto di recidiva, valutato per giudizio clinico o comparsa di sintomi indicativi [33].

## CAPITOLO 2: SCOPO DELLO STUDIO

Dal 2013, con la pubblicazione della classificazione molecolare del carcinoma endometriale da parte del TGCA, sono nati numerosi studi finalizzati ad analizzare il ruolo prognostico dei gruppi molecolari e i loro rapporti con i tradizionali fattori prognostici clinico-patologici. Negli ultimi anni la caratterizzazione molecolare del tumore endometriale è entrata nell'algoritmo decisionale del trattamento adiuvante. Questo studio intende indagare la relazione esistente tra fattori prognostici classici e sottogruppi molecolari in una casistica monocentrica, indagata retrospettivamente. Sono stati valutati, inoltre, gli indici di outcome, valutando la *progression free survival* (PFS) e l'*overall survival* (OS) dell'intera popolazione campione.

Abbiamo, inoltre, indagato il ruolo prognostico dell'espressione tumorale dei recettori ormonali ER/PR nel gruppo NSMP.

Infine, sono state esaminate la migrazione di stadio, da FIGO 2018 a FIGO 2023, e la migrazione di classe di rischio alla diagnosi tenendo conto del dato molecolare oltre a quelli clinico-patologici noti.

I risultati ottenuti sono stati confrontati con i dati presenti in letteratura.

# CAPITOLO 3: MATERIALI E METODI

## 1. PAZIENTI

Per individuare la popolazione campione, sono state revisionate retrospettivamente le cartelle cliniche informatizzate di 216 pazienti prese in carico presso la UOC Oncologia 2 dell'Istituto Oncologico Veneto di Padova e la Clinica Ginecologica Azienda Ospedale – Università di Padova nel periodo intercorso tra gennaio 2021 e maggio 2024. Sono state selezionate 150 pazienti con caratterizzazione molecolare completa. Dalle loro cartelle cliniche sono stati estrapolati ed inseriti in un database dedicato i seguenti dati: età alla diagnosi, BMI, istotipo, *grading*, LVSI, IM, parametri TNM, stadio FIGO 2018 e FIGO 2023, trattamento chirurgico e medico effettuato, gruppo molecolare (determinato dall'analisi mutazionale di POLE, MMR, p53 tramite NGS e IHC), riscontro di sindrome di Lynch, eventuale recidiva e sede della stessa, data dell'ultimo follow-up (FUP) o della morte. Sono state, poi, analizzate la *progression free survival* e l'*overall survival* come intervallo di tempo diagnosi-recidiva/morte o diagnosi-ultimoFUP/morte, rispettivamente. Infine, sono state identificate le classi di rischio clinico-patologico senza e con l'inclusione del dato molecolare di ciascuna paziente sulla base delle linee guida ESGO/ESTRO/ESP 2020.

## 2. ANALISI STATISTICA

Le variabili categoriche sono state espresse come frequenze assolute e percentuali; le variabili quantitative continue sono state descritte attraverso il loro valore mediano associato al range interquartile. Tra queste, la variabile “età” è stata dicotomizzata sulla base del suo valore mediano nelle categorie  $\leq 65$  anni e  $> 65$  anni.

L'analisi di associazione tra i gruppi molecolari e le altre variabili categoriche (i fattori clinico-patologici) è stata svolta attraverso il test del chi-quadrato di Pearson. Per le variabili non dicotomiche ordinali (come lo stadio FIGO) è stata utilizzata una variante del chi-quadrato, il test “per il trend” di Cochran-Armitage. La significatività statistica è stata calcolata con un errore I ( $\alpha$ ) pari a 0.05.

Sono stata analizzate la sopravvivenza libera da malattia e la sopravvivenza globale della popolazione campione. Gli indici PFS e OS, indicati in mesi, sono stati

descritti attraverso il loro valore mediano e i range interquartile. I dati sono stati, poi, plottati creando delle curve Kaplan-Meier.

Le migrazioni di stadio e di classe di rischio sono state espresse come percentuale di pazienti migrate sul totale.

L'analisi statistica è stata effettuata attraverso il software STaTa ®.



# CAPITOLO 4: RISULTATI

## 1. CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE CAMPIONE

La popolazione studiata è composta da 150 donne con diagnosi di EC e caratterizzazione molecolare completa di malattia, prese in carico presso l'Istituto Oncologico Veneto e la Clinica Ginecologica Azienda Ospedale – Università di Padova nel periodo intercorrente tra gennaio 2021 e maggio 2024.

Le caratteristiche clinico-patologiche della popolazione globale prese in esame sono illustrate nella **Tabella VI**.

Le pazienti studiate presentavano un'età compresa tra i 34 e i 90 anni: l'età mediana è di 65 anni (IQR 56-74). 77 pazienti avevano età  $\leq 65$  anni (51.3%) e 73 età  $> 65$  anni (48.7%).

Il BMI è stato categorizzato in tre classi:  $\leq 24.99$  kg/m<sup>2</sup> (pazienti normopeso), 25-29.99 kg/m<sup>2</sup> (pazienti sovrappeso),  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> (pazienti obese). Tra le pazienti con dati biometrici noti, la maggior parte era normopeso oppure obesa, mentre una quota minore è risultata sovrappeso.

I tre quarti della popolazione presentava istotipo endometrioidale, seguito da sieroso e indifferenziato. 12 casi presentavano istotipo raro (7 casi di istotipo a chiare cellule, 2 casi di carcinoma endometriale misto, 2 casi di istotipo simil-mesonefrico e 1 carcinosarcoma).

Quasi il 60% della popolazione presentava malattia di basso grado secondo la classificazione FIGO; inoltre, in più del 60% della popolazione l'invasione linfovaskolare (LVSI) è risultata assente. L'infiltrazione miometriale è stata definita profonda ( $\geq 50\%$ ) nella maggior parte della popolazione e circa il 70% di essa ha presentato stato linfonodale negativo. La diagnosi di malattia è avvenuta in stadio precoce (IA-IB-II) in quasi il 70% della popolazione, sia considerando la stadiazione FIGO 2018 che FIGO 2023. Utilizzando la stadiazione FIGO 2023 il 22% dei tumori ha avuto un aumento dello stadio: l'inclusione del dato molecolare ha, infatti, modificato lo stadio da IA-IB a II in questi casi. La percentuale di EC localmente avanzati o metastatici (III-IVA e IVB) è risultata sempre del 30% circa, in entrambe le stadiazioni.

Considerando l'espressione dei recettori ormonali, la maggior parte delle pazienti presentava espressione ER+/PR+, seguita da ER-/PR-. Invece, solo una minima parte della popolazione presentava espressione ER-/PR+ o ER+/PR-.

Osservando la classificazione molecolare, valutata sulla base della ricerca di mutazioni del dominio esonucleasico di POLE tramite NGS e sulla valutazione immunohistochimica di MMR e p53, si è riscontrato che il 7.3% della popolazione (11 pazienti) era affetta da un EC POLE-mut, il 31.3% (47) da un EC MMRd, il 16.7% (25) da un EC p53abn e il 44.7% (67) da un EC NSMP.

Alla data cut-off di follow-up (02/07/2024), il follow-up mediano è stato di 15 mesi (IQR 7-26). 28 pazienti (18.7%) hanno manifestato recidiva di malattia. In ordine di frequenza, le sedi di recidiva più comuni sono state: polmonare ed epatica (39.2%), linfonodale (25%), vaginale (10.7%), peritoneale (14.3%). In tre pazienti la recidiva è stata diagnosticata in zone diverse da quelle appena citate: muscolo ileopsoas, cute ipogastrica, mammella ed encefalo. Tra i 28 casi di recidiva, il 78.6% era multipla. Nel caso di recidiva singola (occorsa nel 21.4% delle pazienti) le sedi interessate erano più spesso i linfonodi o la cupola vaginale.

Variabili	Frequenza n [%]
<b>Età (anni)</b>	
≤65	77 [51.3%]
>65	73 [48.7%]
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	
≤24.99	24 [16%]
25 – 29.99	12 [8%]
≥30	20 [13.3%]
NN*	94 [62.7%]
<b>Istologia</b>	
Endometriode	114 [76%]
Sieroso	16 [10.7%]
Indifferenziato	8 [5.3%]
Altro	12 [8%]
<b>Grading</b>	
Basso	88 [58.7%]
Alto	62 [41.3%]
<b>LVSI</b>	
Assente	99 [66%]
Presente	50 [33.3%]
NN*	1 [0.7%]

<b>IM</b>		
<50%	64	[42.7%]
≥50%	84	[56%]
NN*	2	[1.3%]
<b>N</b>		
N-	104	[69.4%]
N+	20	[13.3%]
NN*	26	[17.3%]
<b>FIGO 2018</b>		
IA	55	[36.7%]
IB	36	[24%]
II	12	[8%]
III-IVA	36	[24%]
IVB	11	[7.3%]
<b>FIGO 2023</b>		
IA	40	[26.7%]
IB	21	[14%]
II	41	[27.3%]
III-IVA	37	[24.7%]
IVB-IVC	11	[7.3%]
<b>HR</b>		
NN*	50	[33.3%]
ER+/PR+	71	[47.3%]
ER-/PR+	4	[2.7%]
ER+/PR-	4	[2.7%]
ER-/PR-	21	[14%]
<b>Gruppo molecolare</b>		
POLE-mut	11	[7.3%]
MMRd	47	[31.3%]
P53abn	25	[16.7%]
NSMP	67	[44.7%]
<b>Recidiva</b>		
No	122	[81.3%]
Si	28	[18.7%]

**Tabella VI:** Caratteristiche clinico-patologiche della popolazione (\*Non Noto).

## 2. STUDIO DI ASSOCIAZIONE TRA GRUPPI MOLECOLARI E CARATTERISTICHE CLINICO-PATOLOGICHE

La distribuzione delle variabili clinico-patologiche tradizionali nella popolazione è stata studiata attraverso la stratificazione delle pazienti nei quattro gruppi molecolari per valutare se l'associazione tra fattori clinico-patologici e fenotipo molecolare fosse statisticamente significativa. I risultati ottenuti sono riportati in **Tabella VII**.

Per ricapitolare, i quattro gruppi in cui è stata suddivisa la popolazione sono:

- Il gruppo POLE-mut, 11 pazienti (7.3%).
- Il gruppo MMRd, 47 (31.3%).
- Il gruppo p53abn, 25 (16.7%).
- Il gruppo NSMP, 67 (44.7%).

Rispetto all'età mediana alla diagnosi, quella del gruppo POLE-mut è risultata minore (mediana 58 anni, IQR 52-65), mentre nel gruppo MMRd è maggiore (mediana 72 anni, IQR 56-80). Per i gruppi p53abn e NSMP i valori sono simili a quelli della popolazione generale. Andando a dicotomizzare la variabile "età", l'associazione tra questa e il dato molecolare non è risultata statisticamente significativa ( $p=0.053$ ). La distribuzione dei valori conferma, comunque, quanto già osservato: la maggior parte delle pazienti POLE-mut (81.82%) presentava un'età  $\leq 65$  anni, mentre la maggior parte delle pazienti MMRd (61.70%) aveva un'età  $>65$  anni.

Anche l'associazione con le categorie BMI non è risultata significativa ( $p=0.245$ ). Questo può essere dovuto al fatto che per più del 50% delle pazienti il dato biometrico non fosse noto. È interessante, però, notare che il 50% delle pazienti POLE-mut e il 40% delle pazienti p53abn, con dato noto, era normopeso. Invece, il 60% delle pazienti MMRd con dato noto era sovrappeso o obesa.

Tra le pazienti POLE-mut, abbiamo osservato un'associazione significativa con l'istotipo ( $p<0.05$ ): 9 (81.8%) presentavano istotipo endometrioidale, le restanti 2 (18.2%) istotipo indifferenziato. Non si è riscontrata, invece, un'associazione significativa per una determinata categoria di *grading* in questo sottotipo molecolare: 6 EC (54.5%) presentavano basso grado e 5 (45.5%) alto grado. L'istotipo endometrioidale è stato il più frequente anche nei gruppi MMRd e NSMP, rispettivamente con 41 casi (87.2%) e 60 casi (89.6%). In questi gruppi, la

maggioranza degli EC presentavano basso grado (66% e 74.6%). Si giunge a conclusioni differenti osservando i dati relativi ai tumori p53abn. Tra i 25 EC facenti parte di questo gruppo, 15 (60%) erano caratterizzati da istotipo sieroso, 2 (8%) indifferenziato e 4 (16%) da altro istotipo. Solo 4 EC p53abn (16%) presentavano istotipo endometrioidale e, comunque, in questi casi il *grading* era alto. Non è stata osservata, invece, un'associazione significativa tra fenotipo molecolare e LVSI ( $p=0.123$ ). Il LVSI era presente in 6 casi (54.6%) di EC POLE-mut e in 11 (44%) di EC p53abn. Invece, nei gruppi MMRd e NSMP era più frequente l'assenza della variabile in oggetto.

L'associazione con l'infiltrazione miometriale è risultata, invece, statisticamente significativa ( $p<0.05$ ). La maggior parte degli EC di tipo MMRd, p53abn e NSMP infiltravano fino alla metà esterna del miometrio, invece, tra gli EC POLE-mut, la maggior parte rimaneva confinata alla metà interna del miometrio.

Osservando lo stato linfonodale, si può notare come tutti gli EC POLE-mut presentassero linfonodi esenti da malattia. Anche la maggioranza di EC MMRd e NSMP (il 68.1% e il 77.6%) presentavano uno stato linfonodale negativo. Invece, tra i 15 EC p53abn di cui è noto lo stato linfonodale, 6 (40%) erano N+. La relazione tra queste variabili è risultata significativa ( $p<0.05$ ).

Anche le associazioni con la stadiazione FIGO 2018 e FIGO 2023 sono risultate significative ( $p<0.05$ ). Gli EC POLE-mut sono stati diagnosticati tipicamente in stadio precoce, soprattutto in stadio IA: 8 casi (72.7%) se si considera la stadiazione 2018, 10 (90.9%) considerando la versione del 2023. Gli EC p53abn sono stati, invece, diagnosticati principalmente in stadio avanzato o metastatico, sia utilizzando la stadiazione 2018 che quella 2023 (18 casi – 72%). Gli EC appartenenti ai gruppi MMRd e NSMP sono stati diagnosticati principalmente in stadio I e II, nonostante si siano verificate anche diverse diagnosi in stadio avanzato. In questi gruppi, con la stadiazione 2023 sono aumentati i casi in stadio II, rispetto a quelli in stadio IA-IB, mentre quelli in stadio avanzato sono rimasti invariati.

Esaminando l'espressione dei recettori ormonali, è stata trovata una significatività nell'associazione con il fenotipo molecolare ( $p<0.05$ ). Questo dato deve essere interpretato con cautela, dal momento che il numero di pazienti nelle varie celle della tabella di contingenza è esiguo: questo è ancora una volta dovuto al fatto che in più del 50% dei casi l'informazione non era nota. Si può osservare, comunque, che l'80.3% (57) dei tumori con espressione ER+/PR+ erano EC appartenenti ai

gruppi molecolari MMRd e NSMP. Invece, il fenotipo ER-/PR- nel 76.2% (16) dei casi è stato riscontrato in EC NSMP e p53abn.

Variabili	POLE-mut	MMRd	P53abn	NSMP	I(α)
<b>Età (anni)</b>					
≤65	9 [81.8%]	18 [38.3%]	13 [52%]	37 [55.2%]	p=0.053
>65	2 [18.2%]	29 [61.7%]	12 [48%]	30 [44.8%]	
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>					
≤24.99	2 [18.2%]	8 [17%]	6 [24%]	8 [11.9%]	p=0.245
25 – 29.99	0 [-]	2 [4.3%]	5 [20%]	5 [7.5%]	
≥30	2 [18.2%]	7 [14.9%]	4 [16%]	7 [10.4%]	
NN*	7 [63.6%]	30 [63.8%]	10 [40%]	47 [70.2%]	
<b>Istologia</b>					
Endometrioide	9 [81.8%]	41 [87.2%]	4 [16%]	60 [89.6%]	<b>p=0.000</b>
Sieroso	0 [-]	1 [2.1%]	15 [60%]	0 [-]	
Indifferenziato	2 [18.2%]	4 [8.6%]	2 [8%]	0 [-]	
Altro	0 [-]	1 [2.1%]	4 [16%]	7 [10.4%]	
<b>Grading</b>					
Basso	6 [54.5%]	31 [66%]	1 [4%]	50 [74.6%]	<b>p=0.000</b>
Alto	5 [45.5%]	16 [34%]	24 [96%]	17 [25.4%]	
<b>LVSI</b>					
Assente	5 [45.5%]	28 [59.6%]	14 [56%]	52 [77.6%]	p=0.123
Presente	6 [54.5%]	18 [38.3%]	11 [44%]	15 [22.4%]	
NN*	0 [%]	1 [2.1%]	0 [-]	0 [-]	
<b>IM</b>					
<50%	8 [72.7%]	21 [44.7%]	7 [28%]	28 [41.8%]	<b>p=0.016</b>
≥50%	3 [27.3%]	26 [55.3%]	16 [64%]	39 [58.2%]	
NN*	0 [-]	0 [-]	2 [8%]	0 [-]	
<b>N</b>					
N-	11 [100%]	32 [68.1%]	9 [36%]	52 [77.6%]	<b>p=0.002</b>
N+	0 [-]	7 [14.9%]	6 [24%]	7 [10.4%]	
NN*	0 [-]	8 [17%]	10 [40%]	8 [12%]	
<b>FIGO 2018</b>					
IA	8 [72.7%]	18 [38.3%]	5 [20%]	24 [35.8%]	<b>p=0.000</b>
IB	1 [9.1%]	12 [25.5%]	2 [8%]	21 [31.3%]	
II	1 [9.1%]	4 [8.5%]	0 [-]	7 [10.5%]	
III-IVA	1 [9.1%]	11 [23.4%]	11 [44%]	13 [19.4%]	
IVB	0 [-]	2 [4.3%]	7 [28%]	2 [3%]	
<b>FIGO 2023</b>					
IA	10 [90.9%]	11 [23.4%]	0 [-]	19 [28.4%]	<b>p=0.000</b>
IB	0 [-]	6 [12.7%]	0 [-]	15 [22.4%]	
II	0 [-]	17 [36.2%]	7 [28%]	17 [25.4%]	
III-IVA	1 [9.1%]	11 [23.4%]	11 [44%]	14 [20.8%]	
IVB-IVC	0 [-]	2 [4.3%]	7 [28%]	2 [3%]	
<b>HR</b>					
NN*	3 [27.3%]	14 [29.7%]	5 [20%]	28 [41.8%]	<b>p=0.040</b>
ER+/PR+	5 [45.4%]	28 [59.6%]	9 [36%]	29 [43.3%]	
ER-/PR+	0 [-]	2 [4.3%]	2 [8%]	0 [-]	
ER+/PR-	0 [-]	1 [2.1%]	1 [4%]	2 [3%]	
ER-/PR-	3 [27.3%]	2 [4.3%]	8 [32%]	8 [11.9%]	

**Tabella VII:** Caratteristiche clinico-patologiche associate a ciascun sottogruppo molecolare, riportate in frequenze assolute (\*Non Noto).

### 3. MIGRAZIONE DELLA CLASSE DI RISCHIO

Nel 2020, secondo le linee guida ESGO/ESTRO/ESP, nella definizione di classe di rischio è stata integrata la classificazione molecolare. In questo studio si è voluto valutare, quindi, la migrazione di classe di rischio dovuta all'integrazione del dato molecolare ai dati clinico-patologici noti: i risultati sono riportati nelle **Tabelle VIII e IX**.

Su 150 pazienti prese in esame, è stata osservata una migrazione di classe di rischio nel 4% della popolazione campione (n=6). In particolare, si è assistito ad un *downstaging* nel 3.3% dei casi (5 pazienti). Infatti, è avvenuto un passaggio dalle classi di rischio *Intermediate* e *High-Intermediate* alla classe di rischio *Low* per la presenza di POLE mutato. Nella sesta paziente è stato osservato, invece, un *upstaging* dalla classe *Intermediate-risk* alla classe *High-risk* per la presenza di p53 mutata.

Classe di rischio	Pazienti	POLE-mut	MMRd	P53abn	NSMP
Low	34 [22.7%]	<b>5</b>	11	0	18
Intermediate	38 [25.3%]	<b>1</b>	12	<b>5</b>	20
High-intermediate	27 [18%]	<b>4</b>	10	0	13
High	40 [26.7%]	1	12	<b>13</b>	14
Advanced/metastatic	11 [7.3%]	0	2	7	2
Totale	150 [100%]	11	47	25	67

**Tabella VIII:** Rischio clinico-patologico (ESGO/ESTRO/ESP 2020 senza dato molecolare). Sono evidenziate in rosso le classi di rischio in cui è avvenuta una migrazione.

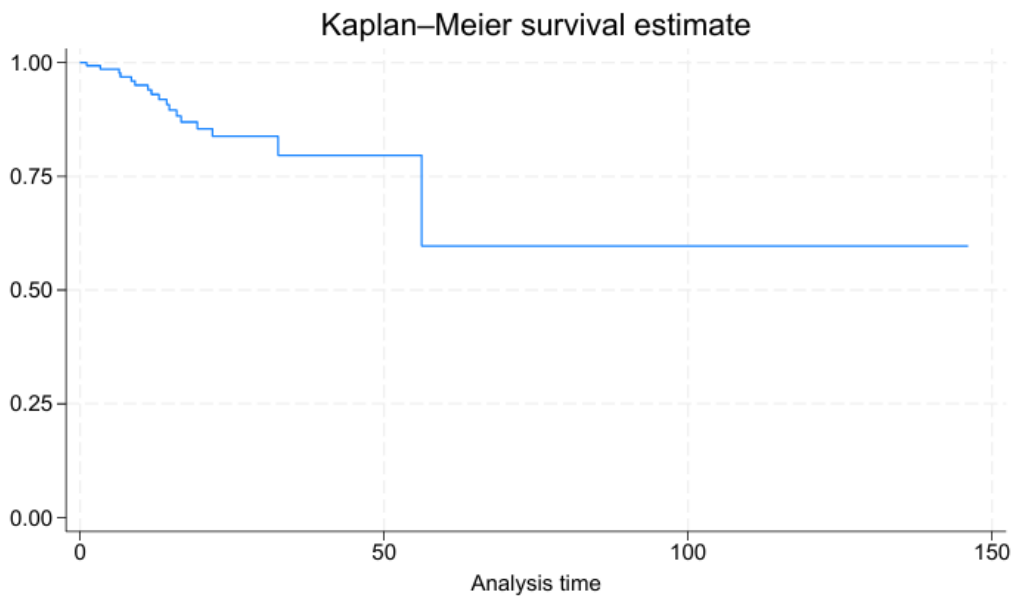
Classe di rischio	Pazienti	POLE-mut	MMRd	P53abn	NSMP
Low	39 [26%]	<b>10</b>	11	0	18
Intermediate	36 [24%]	<b>0</b>	12	<b>4</b>	20
High-intermediate	23 [15.3%]	<b>0</b>	10	0	13
High	41 [27.4%]	1	12	<b>14</b>	14
Advanced/metastatic	11 [7.3%]	0	2	7	2
Totale	150 [100%]	11	47	25	67

**Tabella IX:** Rischio clinico-patologico (ESGO/ESTRO/ESP 2020 con dato molecolare). Sono evidenziate in rosso le classi di rischio in cui è avvenuta una migrazione.

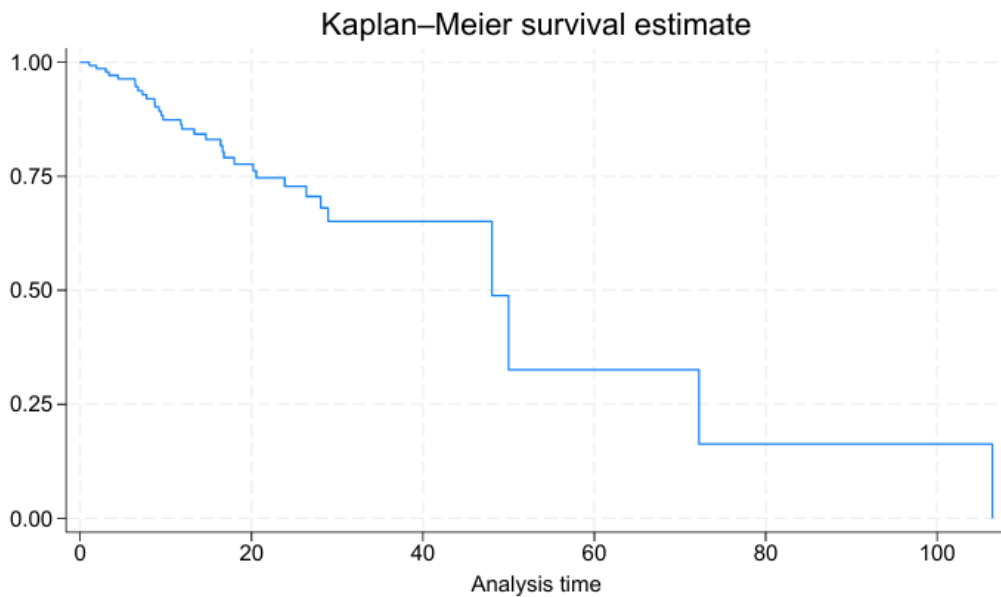
### 4. ANALISI DI SOPRAVVIVENZA

Lo studio è stato condotto in maniera retrospettiva, analizzando le pazienti prese in carico presso l'Istituto in un intervallo di tempo totale di 42 mesi, con un follow-up mediano di 15 mesi (IQR 7-26). Nell'arco di questo periodo si sono verificati 17 decessi tra le pazienti selezionate. La mortalità nella popolazione globale è stata, quindi, dell'11.3%.

L'*overall survival* è stata calcolata come intervallo di tempo diagnosi-ultimoFUP/morte. L'OS mediana della popolazione globale è 15 mesi (IQR 7-26). La distribuzione dei valori è, però, molto ampia: la sopravvivenza minima è 1 mese, la massima 147 mesi (oltre i 12 anni). La *progression free survival* è stata calcolata, invece, come intervallo di tempo diagnosi-ricidiva/morte. La PFS mediana della popolazione globale è 14 mesi (IQR 6-24). Anche in questo caso la distribuzione è molto ampia, con un range da 1 mese a 106 mesi (quasi 9 anni). Le curve Kaplan-Meier riguardanti PFS e OS della popolazione globale sono raffigurate in **Figura 7 e 8**.



**Figura 7:** OS della popolazione globale.



**Figura 8:** PFS della popolazione globale.



Analizzando gli eventi di recidiva e/o morte nei singoli gruppi molecolari, abbiamo osservato:

- **Recidiva:** nel 40% (10) delle pazienti p53abn, nel 21.3% (10) delle pazienti MMRd, nel 18.2% (2) delle pazienti POLE-mut e nel 9% (6) delle pazienti NSMP.
- **Morte:** il 32% (8) delle pazienti p53abn è deceduta, così come il 12.8% (6) delle pazienti appartenenti al gruppo MMRd, il 9.1% (1) delle pazienti POLE-mut e il 3% (2) di quelle NSMP.

La maggior parte dei decessi (11 – 64.7%) è avvenuto in seguito a recidiva. Nei restanti 6 casi (35.3%) la malattia era stata definita metastatica già alla diagnosi: in particolare, questo è avvenuto in 3 pazienti MMRd e 3 pazienti p53abn.

## 5. ESPRESSIONE RECETTORIALE NEL GRUPPO NSMP

In letteratura è stata proposta una sottostratificazione degli EC NSMP sulla base dell'espressione dei recettori ormonali ER e PR. Per tale motivo, in questo studio è stato valutato l'impatto dell'espressione recettoriale sulla PFS mediana nel gruppo NSMP. I risultati dell'analisi sono riportati nella **Tabella X**.

La numerosità di questo gruppo di pazienti è esigua; inoltre, per 28 pazienti (il 41.8% degli EC NSMP) questo dato non era disponibile. Questi elementi limitano il potere statistico dell'analisi.

È, però, possibile notare che gli EC esprimenti il recettore estrogenico (ER+/PR+ e ER+/PR-) presentano una PFS mediana nettamente superiore a quella associata agli EC non esprimenti HR, e in generale superiore alla PFS mediana della popolazione globale. In particolare, negli EC con espressione ER+/PR+ la PFS mediana è di 26 mesi, con ER+/PR- è di 28 mesi, mentre negli EC con assenza di espressione (ER-/PR-) la PFS mediana è di 16 mesi.

Espressione recettoriale	Casi osservati	PFS mediana (mesi)
NN*	28 [41.8%]	9
ER+/PR+	29 [43.3%]	27
ER-/PR+	0	-
ER+/PR-	2 [3.0%]	28
ER-/PR-	8 [11.9%]	16

**Tabella X:** Associazione tra livelli di espressione di HR e PFS mediana nel gruppo NSMP (\* Non Noto).

## CAPITOLO 5: DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Questo studio si è posto l'obiettivo di analizzare l'associazione tra fattori clinico-patologici e fenotipo molecolare in una casistica *real life* di pazienti affette da carcinoma endometriale, per poi confrontare i risultati ottenuti con i dati noti in letteratura.

Nella popolazione campione l'età mediana alla diagnosi è risultata essere 65 anni. Il 10° percentile corrisponde a 51 anni: il 90% della popolazione campione ha un'età  $\geq 51$  anni. Questi dati coincidono con quanto riportato nelle linee guida ESMO pubblicate nel 2013, in cui si afferma che il 90% delle diagnosi di EC avviene in pazienti con età  $\geq 50$  anni e che l'età mediana alla diagnosi corrisponde a 63 anni [2].

La distribuzione della popolazione per istologia e per gruppo molecolare si allinea con quanto riportato in letteratura. L'istotipo riscontrato maggiormente è l'endometriode (76%), mentre la numerosità dei vari gruppi molecolari ricalca all'incirca quella riscontrata nell'analisi del TGCA (POLE-mut 7%, MMRd 28%, p53abn 26%, NSMP 39%) [16,20].

L'evidenza che le caratteristiche della popolazione campione collimino con i dati presenti in letteratura conferma la rappresentatività della popolazione selezionata.

Dai risultati dello studio è emerso che i tumori appartenenti al gruppo POLE-mut sono più tipicamente endometrioidi, spesso di alto grado, e con LVSI sostanziale. Sono stati diagnosticati nel 90% dei casi in stadio IA, e non hanno mai presentato coinvolgimento linfonodale. Le donne appartenenti a questo gruppo presentano un'età mediana minore rispetto a quella degli altri gruppi e spesso sono normopeso. Tutti questi dati sono in linea con quanto riportato in letteratura. Ad esempio, lo studio canadese condotto da Jamieson A e McAlpine JN ha dimostrato che la maggior parte degli EC POLE-mut sono diagnosticati in stadio I, in pazienti giovani e con BMI inferiore rispetto a quello degli altri gruppi [21]. Lo studio italiano di Zannoni GF, inoltre, conferma che i tumori POLE-mut sono tipicamente endometrioidi, di alto grado, con LVSI sostanziale [20].

Riguardo al gruppo MMRd, l'età mediana alla diagnosi è risultata maggiore rispetto a quella degli altri gruppi, anche se non esiste evidenza in letteratura che questo gruppo molecolare si associ ad età maggiori alla diagnosi. Come è già stato sottolineato, però, l'associazione in questo caso non è risultata statisticamente significativa. Il 10.6% delle pazienti MMRd è risultata affetta da Sindrome di Lynch, coerentemente con quanto noto in letteratura, ovvero che il 10-14% degli EC MMRd è dovuto a LS [26]. Come evidenziato in letteratura, anche in questo studio gli EC MMRd sono risultati essere più frequentemente endometrioidi (87.2%), con LVSI sostanziale (38.3%) e IM profonda (55.3%) [20,21].

I carcinomi endometriali p53abn nel nostro campione presentano più frequentemente istologia non endometriode (84%), alto grado di differenziazione (96%), LVSI sostanziale (44%), IM profonda (64%) e positività linfonodale (40% tra le pazienti con dato noto). Inoltre, sono stati diagnosticati nel 72% dei casi in stadio avanzato (III-IVA o IVB) e spesso in pazienti normopeso. Tali caratteristiche riflettono quanto evidenziato dalle raccolte dati presenti in letteratura. Diverso è, invece, per il dato anagrafico: l'età mediana alla diagnosi per questo gruppo è 65 anni, mentre in letteratura è noto che le pazienti p53abn sono tipicamente più anziane rispetto a quelle degli altri gruppi [20,21].

Infine, anche le caratteristiche clinico-patologiche del gruppo NSMP ricalcano i dati presenti in letteratura: abbiamo, infatti, osservato un arricchimento per istologia endometriode, di basso grado, con elevato tasso di espressione di entrambi i recettori ormonali ed elevata prevalenza di stato di sovrappeso o obesità.

Valutando la migrazione di stadio da FIGO 2018 a FIGO 2023, è stata riscontrata una variazione nel 22% delle pazienti. Questo appare consistente con quanto riscontrato in uno studio giapponese del 2023 in cui il 23.4% delle pazienti aveva subito una migrazione di stadio con l'introduzione della caratteristica molecolare. Anche le motivazioni coincidono: 2 pazienti sono state sottostadiate da stadio IB/II a IA per la presenza di POLE mutato, 7 pazienti sono state sovrastadiate da stadio IA/IB a II per la presenza di p53 mutata. All'interno dei gruppi MMRd e NSMP, 11 e 13 pazienti, rispettivamente, sono state sovrastadiate da stadio IA/IB a II a causa dell'istotipo aggressivo o della presenza di LVSI sostanziale [35].

Considerando, invece, la migrazione di classe di rischio, il 4% delle pazienti ha subito una variazione. Questo dato risulta in linea con i dati generati da altre casistiche, come quella di Betella I in cui il 6.8% delle pazienti è stata soggetta ad

una migrazione di classe: il 4.6% verso classi di rischio maggiore perché caratterizzate da p53 mutata, il 2.2% verso la classe *low-risk* perché appartenenti al gruppo POLE-mut [51]. La maggior parte delle migrazioni (3.3%) del nostro studio è dovuta alla presenza di POLE mutato, anche se la bassa numerosità campionaria può aver inficiato il risultato.

La mutazione di POLE ha permesso uno spostamento dalle classi *Intermediate* e *High-intermediate-risk* alla classe *Low-risk*. Infatti, secondo le linee guida ESGO/ESTRO/ESP 2020 gli EC POLE-mut devono essere considerati a basso rischio anche se in stadio II, indipendentemente dall'istotipo o dallo stato LVSI. La sesta paziente è migrata, invece, per la presenza di p53 mutata: questo ha determinato lo slittamento da rischio intermedio a rischio alto. Infatti, anche tumori in stadio I, confinati all'utero, con LVSI assente o con istotipo endometrioidale, che presentano invasione miometriale e mutazione di p53, vengono definiti ad alto rischio, sempre secondo le linee guida ESGO/ESTRO/ESP 2020 [27]. Per riassumere, le migrazioni di stadio e di classe di rischio avvengono per la presenza di POLE mutato, caratteristica molecolare che, come evidenziato dagli studi PORTEC3 e TGCA, conferisce una prognosi ottima alla paziente, oppure per la presenza di p53 mutata, conferente prognosi sfavorevole [52,53].

La valutazione retrospettiva delle pazienti durante un arco di tempo totale di 42 mesi, con un follow-up mediano di 15 mesi, ha permesso di riscontrare un tasso di recidiva del 18.7% ed una mortalità dell'11.3%. Dati paragonabili sono stati riscontrati nella casistica del TGCA, in cui si è osservato un tasso di recidiva del 21% e una mortalità dell'11%. Questi risultati sono stati ottenuti, però, con un follow-up mediano di 32 mesi, lungo circa il doppio rispetto a quello del nostro studio [52].

L'OS mediana corrisponde a 15 mesi, mentre la PFS mediana è risultata di 14 mesi: nel caso di recidiva, quindi, questa è avvenuta entro poco più di un anno nella maggior parte dei casi. Inoltre, il 95° percentile corrisponde a 38 mesi: nel 95% dei casi, se la malattia ha recidivato, l'ha fatto entro i 3 anni. Infatti, come sottolineano le linee guida AIOM 2023, la maggior parte delle recidive di carcinoma endometriale avvengono entro i primi 2-3 anni di follow-up [33].

La sopravvivenza globale della nostra casistica è risultata dell'88.7%. Analizzando la curva Kaplan-Meier rappresentante l'*overall survival* si può dedurre anche che il valore dell'OS a 5 anni (60 mesi) nella popolazione oggetto di studio è circa del 60-

65%. Questa percentuale rappresenta, però, una stima approssimativa, dal momento che il follow-up mediano del nostro studio corrisponde a 15 mesi e solamente per 4 pazienti su 150 il follow-up è risultato superiore ai 4 anni. Le linee guida AIOM 2023 indicano che la sopravvivenza globale dell'EC a 5 anni è del 79% [3].

L'outcome dei diversi gruppi molecolari è stato descritto attraverso i tassi di recidiva e mortalità associati a ciascun gruppo, i quali sono stati poi confrontati con i risultati dello studio di Lindemann K del 2024 e con le analisi prognostiche dei trial PORTEC3 e TGCA [23,52,53].

Per tre dei quattro gruppi molecolari i risultati ottenuti collimano con i dati presenti in letteratura. In particolare, il gruppo p53abn ha presentato l'outcome peggiore con un tasso di recidiva del 40% ed una mortalità del 32%, a paragone di quanto osservato nella casistica di Lindemann (32.4% e 29.4% rispettivamente). Quindi, la sopravvivenza globale di questo gruppo molecolare è del 68%, ben inferiore rispetto a quella degli altri gruppi. Infatti, il fenotipo p53abn si associa tipicamente a prognosi infausta: l'OS a 5 anni calcolata nel trial PORTEC3 è stata del 54% [23,53].

Entrambi i gruppi MMRd e NSMP hanno presentato outcome intermedi, ma comunque migliori nel secondo gruppo: il tasso di recidiva è risultato rispettivamente del 21.3% e 9%, mentre la mortalità del 12.8% e 3%. La sopravvivenza globale è stata, rispettivamente, dell'87.2% e del 97%. La prognosi di questi due gruppi molecolari è, infatti, definita come intermedia: sia nella casistica TGCA che in quella PORTEC3 l'OS a 5 anni è all'incirca dell'80%, con valori sempre leggermente maggiori nel gruppo NSMP [23,52,53].

Sono presenti alcune discordanze con la letteratura, invece, per quanto riguarda il fenotipo molecolare POLE-mut. In questo gruppo si è assistito alla comparsa di recidiva nel 18.2% dei casi, mentre il decesso è avvenuto nel 9.1% dei casi. Questi dati non appaiono del tutto allineati con ciò che è stato evidenziato dallo studio di Lindemann (recidiva nel 3.5% dei casi, morte nello 0% dei casi) e con l'evidenza, ottenuta dagli studi PORTEC3 e TGCA, che questo gruppo molecolare si associa ad una prognosi eccellente: secondo i risultati di PORTEC3, questo gruppo presenta, infatti, una PFS e una OS a 5 anni entrambe del 98% [23,52,53]. Nel nostro studio, invece, la sopravvivenza libera da malattia è risultata dell'81.8%. La comparsa di recidiva, però, è avvenuta in sedi aggredibili radicalmente tramite chirurgia o radioterapia. Questo ha permesso alla sopravvivenza globale di rimanere elevata (90.1%). L'unica paziente deceduta presentava recidiva encefalica: la sede

encefalica rappresenta un fattore prognostico sfavorevole nelle patologie tumorali. È necessario sottolineare, inoltre, che l'esiguità numerica di questo gruppo molecolare può aver limitato la significatività dei risultati ottenuti.

Dal momento che il gruppo NSMP è molto eterogeneo e comprende sia carcinomi con prognosi ottima che EC aggressivi, un obiettivo recente della comunità scientifica è quello di sottostratificare questi tumori sulla base di diverse caratteristiche.

In questo studio è stato valutato l'impatto dell'espressione dei recettori ormonali sulla prognosi degli EC NSMP. Nonostante la bassa numerosità campionaria e la non conoscenza del dato nel 42.8% dei casi, sono stati comunque evidenziati outcome migliori negli EC NSMP esprimenti il recettore estrogenico (ER+/PR+ - ER+/PR-). Questo era già stato evidenziato dallo studio ENITEC che ha proposto una classificazione specifica per questi tumori in tre gruppi di rischio: un gruppo ad alto rischio esprimente bassi livelli di HR (0-10%), associato ad outcome sfavorevole (sopravvivenza a 5 anni del 75.9-83.3%); un gruppo a rischio intermedio esprimente livelli moderati di HR (20-80%) con outcome intermedio (sopravvivenza a 5 anni del 93.0-93.9%); un gruppo a basso rischio esprimente alti livelli di HR (90-100%) con outcome favorevole (sopravvivenza a 5 anni del 97.8-100%) [20].

Un'altra possibilità di classificazione degli EC NSMP è analizzata dallo studio PORTEC-4a: questo sta valutando il valore prognostico della classificazione degli EC NSMP in alto, intermedio e basso rischio basata su LVSI, espressione di LCAM1 e mutazione di CTNNB1 [27].

Il principale punto di forza di questo studio è il fatto di andare ad analizzare l'associazione tra fattori clinico-patologici classici e classificazione molecolare in una casistica *real world*. A differenza degli studi presenti in letteratura che indagano queste relazioni in popolazioni estremamente selezionate all'interno di trial clinici volti ad individuare i trattamenti adiuvanti più efficaci, questo studio ha utilizzato una popolazione campione selezionata solo sulla base della disponibilità del dato molecolare e che, quindi, permette di rappresentare al meglio la popolazione generale.

Uno dei principali limiti dello studio è rappresentato dalla numerosità campionaria. In presenza di una popolazione campione più numerosa sarebbe stato possibile

valutare con adeguato potere statistico anche l'impatto dell'espressione recettoriale sull'outcome negli EC NSMP, oltre che l'associazione di determinate variabili con la classe molecolare. L'introduzione dell'analisi molecolare nella pratica clinica è recente e questo ha permesso l'inclusione nello studio solo delle pazienti con diagnosi più recente perché complete di dato molecolare, determinando, quindi, una riduzione della numerosità del campione rispetto alle cartelle analizzate oltre che un follow-up breve.

Un ulteriore limite è rappresentato dalla natura monocentrica dello studio. Molte pazienti sono state escluse dallo studio per mancanza di informazioni riguardo le analisi molecolari, la comparsa di recidiva ed il follow-up. Essendo lo IOV e la Clinica Ginecologica di Padova dei centri di riferimento, molte pazienti vi si sono recate solo per il trattamento chirurgico o radioterapico o per un consulto oncologico, terminando i trattamenti chemioterapici ed il follow-up in centri *spoke* sul territorio. Per questo motivo non è stato possibile reperire molte informazioni e diverse pazienti sono state escluse dal campione. Sarebbe auspicabile, quindi, utilizzare un setting multicentrico per aumentare la numerosità campionaria e allungare il follow-up per valutare al meglio gli indici di outcome.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, Jemal A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2024 May-June [consultato il 9 maggio 2024];74(3):229-63. Disponibile all'indirizzo: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38572751/>.
2. Colombo N, Preti E, Landoni F, Carinelli S, Colombo A, Marini C, Sessa C. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* [Internet]. 2013 October [consultato il 9 maggio 2024]; 24(SUPPL6):vi33-8. Disponibile all'indirizzo: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923753419315674?via%3Dihub>
3. Associazione Italiana di Oncologia Medica, Associazione Italiana dei Registri Tumori. I numeri del cancro in Italia 2023. *AIOM* [Internet]. 2023:257.
4. Associazione Italiana di Oncologia Medica, Associazione Italiana dei Registri Tumori. I numeri del cancro in Italia 2018. *AIOM* [Internet]. 2018:360.
5. Nees LK, Heublein A, Steinmacher S, Juhasz-Böss I, Brucker S, Tempfer CB, Wallwiener M. Endometrial hyperplasia as a risk factor of endometrial cancer. *Arch Gynecol Obstet* [Internet]. 2022 August [consultato il 24 maggio 2024];306(2):407-421. Disponibile all'indirizzo: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35001185/>.
6. Onstad MA, Schmandt RE, Lu KH. Addressing the Role of Obesity in Endometrial Cancer Risk, Prevention, and Treatment. *J Clin Oncol* [Internet]. 2016 December 10 [consultato il 25 maggio 2024];34(35):4225-4230. Disponibile all'indirizzo: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5455320/>.
7. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* [Internet]. 2003 April 24 [consultato il 25 maggio 2024];348(17):1625-38. Disponibile all'indirizzo: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12711737/>.
8. Raglan O, Kalliala I, Markozannes G, Cividini S, Gunter MJ, Nautiyal J, Gabra H, Paraskeva E, Martin-Hirsch P, Tsilidis KK, Kyrgiou M. Risk factors for endometrial cancer: An umbrella review of the literature. *Int J Cancer* [Internet]. 2019 October [consultato il 12 maggio 2024];145(7):1719-1730. Disponibile all'indirizzo: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30387875/>.



9. Bandera EV, Kushi LH, Moore DF, Gifkins DM, McCullough ML. Consumption of animal foods and endometrial cancer risk: a systematic literature review and meta-analysis. *Cancer Causes Control* [Internet]. 2007 November [consultato il 27 maggio 2024];18(9):967-88. Disponibile all'indirizzo: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2592095/>.
10. Wu QJ, Li YY, Tu C, Zhu J, Qian K, Feng TB, Li C, Wu L, Ma XX. Parity and endometrial cancer risk: a meta-analysis of epidemiological studies. *Sci Rep* [Internet]. 2015 September [consultato il 27 maggio 2024];16(5):142-43. Disponibile all'indirizzo: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4642705/>.
11. Chittenden BG, Fullerton G, Maheshwari A, Bhattacharya S. Polycystic ovary syndrome and the risk of gynaecological cancer: a systematic review. *Reprod Biomed Online* [Internet]. 2009 July [consultato il 24 maggio 2024];19(3):398–405. Disponibile all'indirizzo: [https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(10\)60175-7/pdf](https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(10)60175-7/pdf)
12. Emons G, Mustea A, Tempfer C. Tamoxifen and Endometrial Cancer: A Janus-Headed Drug. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2020 September [consultato il 12 maggio 2024];12(9):2535. Disponibile all'indirizzo: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32906618/>.
13. Zhao S, Chen L, Zang Y, Liu W, Liu S, Teng F, Xue F, Wang Y. Endometrial cancer in Lynch syndrome. *Int J Cancer*. 2022 January;150(1):7-17.
14. Schmeler KM, Lynch HT, Chen LM, Munsell MF, Soliman PT, Clark MB, Daniels MS, White KG, Boyd-Rogers SG, Conrad PG, Yang KY, Rubin MM, Sun CC, Slomovitz BM, Gershenson DM, Lu KH. Prophylactic surgery to reduce the risk of gynecologic cancers in the Lynch syndrome. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 January 19 [consultato il 24 maggio 2024];354(3):261-9. Disponibile all'indirizzo: [https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa052627?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%200www.ncbi.nlm.nih.gov](https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa052627?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200www.ncbi.nlm.nih.gov)
15. Dörk T, Hillemanns P, Tempfer C, Breu J, Fleisch MC. Genetic Susceptibility to endometrial Cancer: Risk Factors and Clinical Management. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2020 August [consultato il 24 maggio 2024];12(9):2407. Disponibile all'indirizzo: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32854222/>.
16. Mutter GL, Prat J. The Female Reproductive System and Peritoneum. In: Rubin R, Strayer DS, Rubin E, a cura di. *Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine*. 7. Baltimore: Wolters Kluwer Health; 2015. p. 1011-68.

17. Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Limbergen E, Vergote I. Endometrial Cancer. *The Lancet* [Internet]. 2005 August [consultato il 12 luglio 2024];366(9484):491-505. Disponibile all'indirizzo: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673605670638#sec10>
18. Masood M, Singh N. Endometrial carcinoma: changes to classification (WHO 2020). *Diagnostic Histopathology* [Internet]. 2021 December [consultato il 12 luglio 2027];27(12):493-9. Disponibile all'indirizzo: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756231721001407#sec8>
19. León-Castillo A. Update in the molecular classification of endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2023 January;33:333-42.
20. Zannoni GF, Bragantini E, Castiglione F, Fassan M, Troncone G, Inzani F, Pesci A, Santoro A, Fraggetta F. Current Prognostic and Predictive Biomarkers for Endometrial Cancer in Clinical Practice: Recommendations/Proposal from the Italian Study Group. *Front Oncol*. 2022 April;12:805613.
21. Jamieson A, McAlpine JN. Molecular Profiling of Endometrial Cancer From TCGA to Clinical Practice. *J Natl Compr Canc Netw*. 2023 February;21(2):210-6.
22. Dagher C, Liu YL, Mueller JJ, Weigelt B. Moving into the modern era of molecular classification for endometrial cancer. *J Surg Oncol*. 2023 November;129:120-5.
23. Lindemann K, Kildal W, Kleppe A, Tobin KAR, Pradhan M, Isaksen MX, Vlatkovic L, Danielsen HE, Kristensen GB, Askautrud HA. Impact of molecular profile on prognosis and relapse pattern in low and intermediate risk endometrial cancer. *European Journal of Cancer*. 2024 February;200(113584).
24. Temko D, Van Gool IC, Rayner E, Glaire M, Makino S, Brown M, Chegwidan L, Palles C, Depreeuw J, Beggs A, Stathopoulou C, Mason J, Baker AM, Williams M, Cerundolo V, Rei M, Taylor JC, Schuh A, Ahmed A, Amant F, Lambrechts D, Smit V, Bosse T, Graham TA, Church DN, Tomlinson I. Somatic POLE exonuclease domain mutations are early events in sporadic endometrial and colorectal carcinogenesis, determining driver mutational landscape, clonal neoantigen burden and immune response. *J Pathol* [Internet]. 2018 July [consultato il 19 maggio 2024];245(3):283-96. Disponibile all'indirizzo: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6032922/>.
25. Ratnakaran N, Nair IR, Rajanbabu A, Patel V, Ariyannur PS, Kamalasanan S. Association of molecular subgroups with pathological parameters in endometrial carcinomas. *Indian Journal of Cancer*. 2021;XX:XX-XX.

26. Nero C, Ciccarone F, Pietragalla A, Duranti S, Daniele G, Scambia G, Lorusso D. Adjuvant Treatment Recommendations in Early-Stage Endometrial Cancer: What Changes With the Introduction of The Integrated Molecular-Based Risk Assessment. *Front Oncol.* 2021 September;11:612450.
27. Alexa M, Hasenburg A, Battista MJ. The TCGA Molecular Classification of Endometrial Cancer and Its Possible Impact on Adjuvant Treatment Decisions. *Cancers.* 2021 March;13:1478.
28. Onoprienko A, Hofstetter G, Muellauer L, Dorittke T, Polterauer S, Grimm C, Bartl T. Prognostic role of transcription factor ARID1A in patients with endometrial cancer of no specific molecular profile (NSMP) subtype. *Int J Gynecol Cancer.* 2024 March;34:840-6.
29. Ruscelli M, Maloberti T, Corradini AG, Rosini F, Querzoli G, Grillini M, Altimari A, Gruppioni E, Sanza V, Costantino A, Ciudino R, Errani M, Papapietro A, Coluccelli S, Turchetti D, Ferioli M, Giunghi S, Dondi G, Tesei M, Ravegnini G, Abbati F, Rubino D, Zamagni C, D'Angelo E, De Iaco P, Santini D, Ceccarelli C, Perrone AM, Tallini G, De Biase D, De Leo A. Prognostic Impact of Pathologic Features in Molecular Subgroups of Endometrial Carcinoma. *J Pers Med.* 2023 April;13:723.
30. De Vitis LA, Schivardi G, Caruso G, Fumagalli C, Vacirca D, Achilarré MT, Aloisi A, Garbi A, Zanagnolo V, Aletti G, Guerini-Rocco E, Mariani A, Maggioni A, Barberis M, Bogani G, Colombo N, Multinu F, Betella I. Clinicopathological characteristics of multiple-classifier endometrial cancers: a cohort study and systematic review. *Int J Gynecol Cancer.* 2024;34:229-38.
31. Luzarraga Aznar A, Bebia V, López-Gil C, Villafranca-Magdalena B, Salazar-Huayna L, Castellvi J, Colàs E, Gil-Moreno A, Cabrera S. Molecular profile is a strong predictor of the pattern of recurrence in patients with endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2024 February;34:659-66.
32. Braun MM, Overbeek-Wager EA, Grumbo RJ. Diagnosis and Management of Endometrial Cancer. *Am Fam Physician [Internet].* 2016 March [consultato l'8 agosto 2024];93(6):468-74. Disponibile all'indirizzo: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2016/0315/p468.html>
33. Associazione Italiana Oncologia Medica. Linee guida neoplasie dell'utero: Endometrio e Cervice. AIOM [Internet]. 2023.
34. Berek JS, Matias-Guiu X, Creutzberg C, Fotopoulou C, Gaffney D, Kehoe S, Lindemann K, Mutch D, Concin N, Endometrial Cancer Staging Subcommittee, FIGO Women's Cancer Committee. FIGO staging of endometrial cancer: 2023. *Int J Gynecol Obstet.* 2023;162:383-94.

35. Kobayashi-Kato M, Fujii E, Asami Y, Ahiko Y, Hiranuma K, Terao Y, Matsumoto K, Ishikawa M, Kohno T, Kato T, Shiraishi K, Yoshida H. Utility of the revised FIGO2023 staging with molecular classification in endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*. 2023;178:36-43.
36. Han KH, Park N, Lee M, Lee C, Kim H. The new 2023 FIGO staging system for endometrial cancer: what is different from the previous 2009 FIGO staging system? *J Gynecol Oncol*. 2024;35(5):e59.
37. Oberndorfer F, Moling S, Hagelkruys LA, Grimm C, Polteraue S, Sturdza A, Aust S, Reinthaller A, Müllauer L, Schwameis R. Risk Reclassification of Patients with Endometrial Cancer Based on Tumor Molecular Profiling: First Real World Data. *J. Pers. Med*. 2021 January;11,48.
38. Cusimano MC, Vicus D, Pulman K, Maganti M, Bernardini MQ, Bouchard-Fortier G, Laframboise S, Taymaa M, Hogen LF, Covens AL, Gien LT, Kupets R, Rouzbahman M, Clarke BA, Mirkovic J, Cesari M, Turashvili G, Zia A, Ene GE, Ferguson SE. Assessment of Sentinel Lymph Node Biopsy vs Lymphadenectomy for Intermediate- and High-Grade Endometrial Cancer Staging. *JAMA Surg* [Internet]. 2021 February [consultato il 13 agosto 2024];156(2):157-64. Disponibile all'indirizzo: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7658802/>.
39. Terada S, Tanaka T, Murakami H, Tsuchihashi H, Toji A, Daimon A, Miyamoto S, Nishie R, Ueda S, Hashida S, Morita N, Marouka H, Konishi H, Kogata Y, Taniguchi K, Komura K, Ohmichi M. Lymphatic Complications Following Sentinel Node Biopsy or Pelvic Lymphadenectomy for Endometrial Cancer. *J Clin Med* [Internet]. 2023 July [consultato il 13 agosto 2024];12(13):4540. Disponibile all'indirizzo: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10342261/>.
40. Oaknin A, Bosse TJ, Creutzberg CL, Ledermann JA, Colombo N. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* [Internet]. 2022 June [consultato il 13 agosto 2024];33(9):860-77. Disponibile all'indirizzo: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(22\)01207-8/fulltext#secsectitle0035](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(22)01207-8/fulltext#secsectitle0035)
41. De Boer SM, Powell ME, Mileskin L, Katsaros D, Bessette P, Haie-Meder C, Ottevanger PB, Ledermann JA, Khaw P, D'amico R, Fyles A, Baron MH, Jürgenliemk-Schulz IM, Kitchener HC, Nijman HW, Wilson G, Brooks S, Gribaudo S, Provencher D, Hanzen C, Kruitwagen RF, Smit VT, Singh N, Do V, Lissoni A, Nout RA, Feeney A, Verhoeven-Adema KW, Putter H, Creutzberg CL, PORTEC Atudy Group. Adjuvant chemoradiotherapy versus radiotherapy alone in women with high-risk endometrial cancer (PORTEC-3): pattern of recurrence and post-hoc survival analysis of a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* [Internet]. 2019 September [consultato il 13 agosto 2024];20(9):1273-85. Disponibile all'indirizzo: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6722042/>.

42. McCarthy A, Balfour K, El Sayed I, Edmondson R, Wan YL. Neoadjuvant therapy or upfront surgery in advanced endometrial cancer: a systematic review protocol. *BMJ Open* [Internet]. 2021 November [consultato il 13 agosto 2024];11(11):e054004. Disponibile all'indirizzo: <https://bmjopen.bmj.com/content/11/11/e054004.long>
  
43. Huang AB, Wu J, Chen L, Albright BB, Previs RA, Moss HA, Davidson BA, Havrilesky LJ, Melamed A, Wright JD. Neoadjuvant chemotherapy for advanced stage endometrial cancer: A systematic review. *Gynecol Oncol Rep* [Internet]. 2021 November [consultato il 13 agosto 2024];38:100887. Disponibile all'indirizzo: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8601999/>.
  
44. Brodeur MN, Samouëlian V, Dabi Y, Cormier B, Beauchemin MC, Barkati M. Neoadjuvant radiotherapy and brachytherapy in endometrial cancer with gross cervical involvement: a CHIRENDO research group study. *Int J Gynecol Cancer* [Internet]. 2021 January [consultato il 13 agosto 2024];31(1):78-84. Disponibile all'indirizzo: <https://ijgc.bmj.com/content/31/1/78.long>
  
45. Miller DS, Filiaci VL, Mannel RS, Cohn DE, Matsumoto T, Tewari KS, DiSilvestro P, Pearl ML, Argenta PA, Powell MA, Zweizig SL, Warshal DP, Hanjani P, Carney ME, Huang H, Cella D, Zaino R, Fleming GF. Carboplatin and Paclitaxel for Advanced Endometrial Cancer: Final Overall Survival and Adverse Event Analysis of a Phase III Trial (NRG Oncology/GOG0209). *J Clin Oncol* [Internet]. 2020 November [consultato il 13 agosto 2024];38(33):3841-3850. Disponibile all'indirizzo: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7676887/>.
  
46. Bogani G, Monk BJ, Powell MA, Westin SN, Slomovitz B, Moore KN, Eskander RN, Raspagliesi F, Barretina-Ginesta MP, Colombo N, Mirza MR. Adding immunotherapy to first-line treatment of advanced and metastatic endometrial cancer. *Ann Oncol* [Internet]. 2024 May [consultato il 13 agosto 2024];35(5):414-428. Disponibile all'indirizzo: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(24\)00056-5/abstract](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(24)00056-5/abstract)
  
47. Makker V, Colombo N, Casado Herráez A, Monk BJ, Mackay H, Santin AD, Miller DS, Moore RG, Baron-Hay S, Ray-Coquard I, Ushijima K, Yonemori K, Kim YM, Guerra Alia EM, Sanli UA, Bird S, Orlowski R, McKenzie J, Okpara C, Barresi G, Lorusso D. Lenvatinib Plus Pembrolizumab in Previously Treated Advanced Endometrial Cancer: Updated Efficacy and Safety From the Randomized Phase III Study 309/KEYNOTE-775. *J Clin Oncol* [Internet]. 2023 June [consultato il 13 agosto 2024];41(16):2904-2910. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10414727/>.

48. Mirza MR, Chase DM, Slomovitz BM, dePont Christensen R, Novák Z, Black D, Gilbert L, Sharma S, Valabrega G, Landrum LM, Hanker LC, Stuckey A, Boere I, Gold MA, Auranen A, Pothuri B, Cibula D, McCourt C, Raspagliesi F, Shahin MS, Gill SE, Monk BJ, Buscema J, Herzog TJ, Copeland LJ, Tian M, He Z, Stevens S, Zografos E, Coleman RL, Powell MA; RUBY Investigators. Dostarlimab for Primary Advanced or Recurrent Endometrial Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2023 Jun [consultato il 21 agosto 2024];388(23):2145-2158. Disponibile all'indirizzo: [https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2216334?url\\_ver=Z39.88-2003&rft\\_id=ori:rid:crossref.org&rft\\_dat=cr\\_pub%20%200pubmed](https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2216334?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%200pubmed)
49. Colombo N, Biagioli E, Harano K, Galli F, Hudson E, Antill Y, Choi CH, Rabaglio M, Marmé F, Marth C, Parma G, Fariñas-Madrid L, Nishio S, Allan K, Lee YC, Piovano E, Pardo B, Nakagawa S, McQueen J, Zamagni C, Manso L, Takehara K, Tasca G, Ferrero A, Tognon G, Lissoni AA, Petrella M, Laudani ME, Rulli E, Uggeri S, Barretina Ginesta MP; AtTEnd study group. Atezolizumab and chemotherapy for advanced or recurrent endometrial cancer (AtTEnd): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* [Internet]. 2024 Aug [consultato il 21 agosto 2024]:S1470-2045(24)00334-6. Disponibile all'indirizzo: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1470204524003346?via%3Dihub>
50. Eskander RN, Sill MW, Beffa L, Moore RG, Hope JM, Musa FB, Mannel R, Shahin MS, Cantuaria GH, Girda E, Mathews C, Kavecansky J, Leath CA 3rd, Gien LT, Hinchcliff EM, Lele SB, Landrum LM, Backes F, O'Carbhaill RE, Al Baghdadi T, Hill EK, Thaker PH, John VS, Welch S, Fader AN, Powell MA, Aghajanian C. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Advanced Endometrial Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2023 Jun [consultato il 21 agosto 2024];388(23):2159-2170. Disponibile all'indirizzo: [https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2302312?url\\_ver=Z39.88-2003&rft\\_id=ori:rid:crossref.org&rft\\_dat=cr\\_pub%20%200pubmed](https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2302312?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%200pubmed)
51. Betella I, Fumagalli C, Rafaniello Raviele P, Schivardi G, De Vitis LA, Achilarré MT, Aloisi A, Garbi A, Maruccio M, Zanagnolo V, Aletti G, Guerini-Rocco E, Mariani A, Maggioni A, Barberis M, Colombo N, Multinu F. A novel algorithm to implement the molecular classification according to the new ESGO/ESTRO/ESP 2020 guidelines for endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* [Internet]. 2022 June [consultato il 03 settembre 2024]:ijgc-2022-003480. Disponibile all'indirizzo: <https://ijgc.bmj.com/content/32/8/993.long>
52. Cancer Genome Atlas Research Network; Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, Akbani R, Liu Y, Shen H, Robertson AG, Pashtan I, Shen R, Benz CC, Yau C, Laird PW, Ding L, Zhang W, Mills GB, Kucherlapati R, Mardis ER, Levine DA. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* [Internet]. 2013 May [consultato il 05 settembre 2024];497(7447):67-73. Disponibile all'indirizzo: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3704730/>.

53. León-Castillo A, de Boer SM, Powell ME, Mileskin LR, Mackay HJ, Leary A, Nijman HW, Singh N, Pollock PM, Bessette P, Fyles A, Haie-Meder C, Smit VTHBM, Edmondson RJ, Putter H, Kitchener HC, Crosbie EJ, de Bruyn M, Nout RA, Horeweg N, Creutzberg CL, Bosse T; TransPORTEC consortium. Molecular Classification of the PORTEC-3 Trial for High-Risk Endometrial Cancer: Impact on Prognosis and Benefit From Adjuvant Therapy. *J Clin Oncol* [Internet]. 2020 October [consultato l'11 settembre 2024];38(29):3388-3397. Disponibile all'indirizzo: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7527156/>.