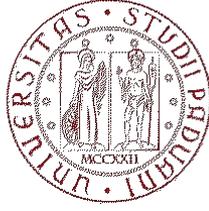


1222·2022
800
ANNI



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO

Direttore: Prof. Giorgio Perilongo

CLINICA GINECOLOGICA E OSTETRICA

Direttore: Prof. Roberto Tozzi

TESI DI LAUREA:

**IL RUOLO DELLA NUOVA CLASSIFICAZIONE MOLECOLARE NEL
CARCINOMA DELL'ENDOMETRIO:
LA PIANIFICAZIONE PRE-CHIRURGICA NELL'ERA DELLA
MEDICINA DI PRECISIONE.**

RELATORE: Prof. Carlo Saccardi

CORRELATRICE: Dott.ssa Giulia Spagnol

LAUREANDA: Arianna Raicich

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

*Dedicato a Voi,
che siete per me
punto di riferimento,
amore incondizionato,
esempio di vita.*

“La tecnologia passerà,
la fama passerà,
avere cura degli ammalati non passerà mai.”
(Dott.ssa Gaya Spolverato)

INDICE

INTRODUZIONE	1
EPIDEMIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO	1
CLASSIFICAZIONE ISTOLOGICA	3
<i>Immunohistochimica</i>	<i>4</i>
DIAGNOSI CLINICA E VALUTAZIONE RADIOLOGICA	10
STADIAZIONE FIGO	12
TRATTAMENTO CHIRURGICO	14
TERAPIA ADIUVANTE	17
<i>Basso rischio</i>	<i>17</i>
<i>Rischio intermedio</i>	<i>17</i>
<i>Rischio intermedio-alto</i>	<i>18</i>
<i>Alto rischio</i>	<i>18</i>
<i>Stadio avanzato e metastatico</i>	<i>19</i>
SCOPO DELLO STUDIO	21
MATERIALI E METODI	23
RISULTATI	27
DISCUSSIONE	31
CONCLUSIONI	35
BIBLIOGRAFIA	37

RIASSUNTO

Background: Il cancro dell'endometrio è il tumore ginecologico più comune nei Paesi sviluppati e la sua incidenza è in aumento.

La Società Europea di Oncologia Ginecologica (ESGO), la Società Europea di Radioterapia e Oncologia (ESTRO) e la Società Europea di Patologia (ESP) hanno redatto congiuntamente e pubblicato nel gennaio 2021 le nuove linee guida per la gestione delle pazienti affette da carcinoma endometriale.

L'approccio terapeutico primario al tumore dell'endometrio è la chirurgia laparoscopica che prevede un'isterectomia totale ed annessiectomia bilaterale, mentre l'esecuzione dell'escissione linfonodale come chirurgia standard in tutte le pazienti è oggetto di discussione.

Le nuove linee guida ESGO-ESTRO-ESP raccomandano lo studio immunohistochimico (IHC) e molecolare e la classificazione in gruppi di rischio prognostici in tutte le pazienti affette da tumore endometriale, al fine di impostare correttamente la terapia adiuvante.

Scopo dello studio: Lo studio si propone di valutare se in donne affette da carcinoma dell'endometrio, l'esecuzione dell'analisi IHC e molecolare nella biopsia diagnostica possa contribuire alla personalizzazione del trattamento chirurgico.

Materiali e metodi: Lo studio condotto è uno studio osservazionale prospettico. Sono state incluse pazienti con diagnosi istologica di carcinoma dell'endometrio mediante l'esecuzione di una biopsia isteroscopica e con caratterizzazione IHC e molecolare almeno sul pezzo operatorio. Per tutte le pazienti sono stati raccolti i dati clinici (BMI e età all'intervento), i dati relativi all'analisi IHC e molecolare sulla biopsia diagnostica (quando disponibili) e sulla biopsia del pezzo operatorio, i dati radiologici ed operatori. In base alle informazioni a disposizione ogni paziente è stata assegnata ad un gruppo di rischio prognostico pre-chirurgico e post-chirurgico. Infine, con riferimento alle classi di rischio prognostiche ESGO-ESTRO-ESP 2021, è stata proposta una chirurgia personalizzata.

Risultati: Lo studio ha incluso 49 pazienti. Tredici (26,5%) pazienti potrebbero beneficiare di un approccio chirurgico modificato basato sull'analisi IHC e molecolare della biopsia diagnostica. La concordanza registrata tra analisi IHC e molecolare sulla biopsia diagnostica e la diagnosi istologica definitiva è stata del 100%.

Conclusioni: L'analisi IHC e molecolare sulla biopsia diagnostica con stratificazione delle pazienti nei gruppi di rischio prognostico già in fase preoperatoria potrebbe consentire una gestione personalizzata della terapia chirurgica del carcinoma dell'endometrio.

ABSTRACT

Background: Endometrial carcinoma is the most common gynaecological cancer in developed countries and its incidence is increasing.

The European Society of Gynaecological Oncology (ESGO), the European Society of Radiotherapy and Oncology (ESTRO) and the European Society of Pathology (ESP) jointly drafted and published new guidelines for the management of patients with endometrial cancer in January 2021.

The primary therapeutic approach to endometrial cancer is laparoscopic surgery involving total hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy, while the performance of lymph node excision as standard surgery in all patients is under discussion.

The new ESGO-ESTRO-ESP guidelines recommend immunohistochemical (IHC) and molecular study and classification into prognostic risk groups in all patients with endometrial cancer in order to correctly design adjuvant therapy.

Aim: The aim of the study is to evaluate whether in women with endometrial cancer, the performance of IHC and molecular analysis in diagnostic biopsy can contribute to the personalisation of surgical treatment.

Materials and methods: The study conducted is a prospective observational study. Patients with histological diagnosis of endometrial carcinoma by performing an endometrial biopsy through hysteroscopic and with IHC and molecular characterization at least on the surgical specimen were included. For all patients, clinical data (BMI and age at surgery), IHC and molecular analysis data on the diagnostic biopsy (when available) and on the biopsy of the operative piece, radiological and operative data were collected. Based on the available information, each patient was assigned to a pre-surgical and post-surgical prognostic risk group. Finally, with reference to the ESGO-ESTRO-ESP 2021 prognostic risk classes, customised surgery was proposed.

Results: The study included 49 patients. Thirteen (26.5%) patients could benefit from a modified surgical approach based on IHC and molecular analysis of the

diagnostic biopsy. The concordance recorded between IHC and molecular analysis on the diagnostic biopsy and the final histological diagnosis was 100%.

Conclusions: IHC and molecular analysis on the diagnostic biopsy with stratification of patients into prognostic risk groups already at the preoperative stage could allow personalised management of endometrial cancer surgical therapy.

INTRODUZIONE

EPIDEMIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO

In Italia, il carcinoma endometriale rappresenta il terzo tumore ginecologico per frequenza nelle donne tra i 50 e i 69 anni, complessivamente il 4.6 % di tutti i tumori diagnosticati, con circa 8.300 nuovi casi per anno [1].

Nel Mondo, nel 2020, sono stati registrati 417.367 nuovi casi e 97.370 decessi, posizionando così il tumore dell'endometrio al sesto posto per incidenza nel sesso femminile [2].

Si stima che i tassi di incidenza differiscano di ben dieci volte tra le regioni del mondo con tassi più alti osservati in Nord America, Europa, Micronesia/Polinesia e Australia/Nuova Zelanda e tassi di incidenza più bassi nella maggior parte delle regioni africane e nell'Asia centro-meridionale [2].

L'importante variabilità di incidenza osservata tra regioni geografiche distinte potrebbe essere parzialmente attribuibile ai fattori di rischio correlati allo sviluppo del carcinoma endometriale.

Tra i principali fattori di rischio troviamo: obesità (Body Mass Index > 30 incrementa il rischio da tre a quattro volte), esposizione cronica endogena o esogena ad uno stato di iperestrogenismo, ovaio policistico, terapia con tamoxifene, cicli anovulatori e diabete mellito [3].

Oltre ad una particolare predisposizione genetica al solo carcinoma endometriale, si riscontrano casi in cui è presente una predisposizione familiare a sviluppare tumori maligni in diversi organi, come nella sindrome di Lynch di tipo II, dove si può avere interessamento concomitante di endometrio, mammella, colon ed ovaio [3]. Nelle donne affette da sindrome di Lynch il rischio correlato all'insorgenza di tumori maligni è del 40-80% per il carcinoma del colon, 40-60% per il carcinoma dell'endometrio e 10-12% per il carcinoma ovarico [3]. Il riscontro di una neoplasia endometriale in una giovane donna può essere considerato premonitore di una sindrome di Lynch ed è bene iniziare un percorso diagnostico per sospetto tumore eredofamiliare [3].

Infine, è appurato che l'uso di contraccettivi orali combinati riduca il rischio di neoplasia endometriale in particolare nelle donne in pre-menopausa e perimenopausa [3].

Sulla presenza o meno dei fattori di rischio conosciuti all'epoca Bokhman nel 1983 basò la sua storica classificazione. Bokhman condusse uno studio prospettico in cui vennero arruolate 366 pazienti con carcinoma endometriale al termine del quale postulò la presenza di due diversi tipi di carcinoma [4].

Il primo tipo patogenetico era tipico di donne affette da obesità, iperlipidemia e segni di iperestrogenismo (sanguinamento uterino anovulatorio, infertilità, insorgenza tardiva della menopausa e iperplasia dello stroma delle ovaie e dell'endometrio) ed era associato ad una prognosi più favorevole in quanto frequentemente diagnosticato in stadi iniziali [4].

Il secondo tipo patogenetico della malattia, invece, era indipendente dalla presenza dei fattori di rischio sopra elencati ed includeva carcinomi scarsamente differenziati con evoluzione clinica più rapida e sfavorevole [4].

La frequenza del primo tipo patogenetico nel gruppo di donne studiato era del 65%, mentre la frequenza del secondo tipo era del 35% [4].

Ad oggi è chiaro che questa classificazione, anche se facilmente applicabile, non è sufficiente per descrivere l'eterogeneità istologica e molecolare che contraddistingue il carcinoma endometriale, specialmente nel caso in cui si tratti di una malattia di alto grado [5].

La classificazione istologica è oggi considerata il gold standard per la stratificazione delle pazienti [6]. Anche gli studi molecolari hanno ottenuto risultati promettenti per fornire informazioni importanti per la prognosi e per prevedere la risposta alle nuove terapie [6]. L'integrazione tra la caratterizzazione istologica e molecolare risulta quindi cruciale per una classificazione diagnostica e prognostica ottimale [6].

CLASSIFICAZIONE ISTOLOGICA

Secondo la classificazione istologica attuale esistono sette istotipi di carcinoma dell'endometrio che presentano diversa frequenza [7] (Tabella I).

Tabella I. Istotipi del carcinoma endometriale e frequenza.

Istotipo	Percentuale
Adenocarcinoma endometriode	75-80%
Adenocarcinoma sieroso-papillare	< 10%
Adenocarcinoma a cellule chiare	2-4%
Adenocarcinoma mucinoso	1%
Adenocarcinoma squamoso	< 1%
Adenocarcinoma misto	< 1%
Adenocarcinoma indifferenziato	< 1%

L'adenocarcinoma endometriode è l'istotipo più frequente ed è estrogeno-dipendente [7]. Si presenta puro e, in alcuni casi, misto con una componente maggiore del 10% di carcinoma non endometriode [7]. Si suddivide in basso grado (G1-G2) e alto grado (G3) a seconda della percentuale di aree solide non squamose (G1 se <5%, G2 dal 6% al 50%, G3 > 50%) [7].

L'adenocarcinoma sieroso-papillare rappresenta l'istotipo non endometriode più comune [7]. Va sospettato in donne con più di 70 anni o con anamnesi positiva per irradiazione pelvica, terapia prolungata con tamoxifene e cancro della mammella [7]. Nel 75% dei casi si presenta in stadi avanzati, III e IV, con invasione miometriale, vascolare e linfatica (linfonodi pelvici e para-aortici) [7]. Ha quindi una prognosi peggiore dell'adenocarcinoma endometriode [7].

Anche l'adenocarcinoma a cellule chiare ha prognosi sfavorevole. Può presentarsi in due forme: tipico ed atipico [7]. La forma atipica rappresenta sino ai due terzi dei carcinomi a cellule chiare e ha caratteristiche analoghe ai carcinomi sierosi [7].

I carcinomi endometrioidi G3, i carcinomi sierosi ed i carcinomi a cellule chiare vengono considerati carcinomi di alto grado [8].

Gli adenocarcinomi di tipo mucinoso e squamoso sono poco frequenti ed in entrambi i casi è necessario contraddistinguerli dai rispettivi sottotipi che possono insorgere a livello della cervice dell'utero e diffondersi poi all'endometrio [7].

Per "adenocarcinomi misti" si fa riferimento ai tumori le cui diverse componenti superano ciascuna il 10% del totale, mentre gli "adenocarcinomi indifferenziati" sono tutte quelle masse solide composte da cellule indifferenziate associate o meno a una componente tumorale endometriode o, più raramente, a cellule chiare [7].

Di recente è stato descritto un sottotipo di carcinoma indifferenziato denominato "carcinoma dedifferenziato" composto dall'associazione di un adenocarcinoma G1 o G2 e di cellule indifferenziate uniformi, ovoidali o tondeggianti, dotate di grandi nuclei con cromatina vescicolare e nucleoli prominenti [9]. Il carcinoma dedifferenziato è tipicamente associato alla sindrome di Lynch [9].

Il grado di un carcinoma correla con la sua diffusione. Tumori a basso grado, G1 o G2, tendono a limitarsi all'endometrio, mentre tumori ad alto grado, G3, presentano una maggiore percentuale di interessamento miometriale [3].

L'istotipo insieme al grado istologico, al grado di interessamento miometriale e cervicale, al livello di invasione degli spazi linfo-vascolari rappresentano i maggiori indicatori del rischio di sviluppo di metastasi a distanza [3].

Immunoistochimica

Le colorazioni immunoistochimiche sono spesso considerate tecniche ancillari all'esame istopatologico. Nell'ambito del carcinoma dell'endometrio, invece, ricoprono un ruolo sempre più dirimente per la conferma della diagnosi e per fornire informazioni aggiuntive essenziali per la prognosi e la scelta della terapia adeguata rispetto alla sola indagine istopatologica.

Il cancro endometriale è una malattia eterogenea dal punto di vista clinico e tale eterogeneità è strettamente correlata alle diverse alterazioni molecolari emerse grazie agli studi immunoistochimici [10].

Nel 2013, The Cancer Genome Atlas (TCGA) Research Network pubblicò un brillante studio basato sulla caratterizzazione genomica, trascrittomica e proteomica integrata di 373 campioni di carcinoma endometriale grazie al quale vennero identificati quattro nuovi sottotipi molecolari: dominio esonucleasico della polimerasi Epsilon mutato (POLE EDM), deficit di riparazione del mismatch

(MMRd), p53-mutato/copy-number-high (p53 abn) e p53 wild-type/copy-number-low (p53 wt) [11] (Tabella II).

La polimerasi Epsilon (POLE) è il principale enzima implicato nella sintesi del filamento guida del DNA, oltre ad intervenire nei meccanismi di riparazione per escissione dei nucleotidi del DNA [12]. In particolare, POLE è dotata di un dominio esonucleasico *proofreading* che può risultare mutato in alcuni tipi di cancro: circa il 3% dei tumori colon-rettali e il 7% dei tumori endometriali presentano alterazioni a livello del dominio esonucleasico *proofreading* di POLE [12].

I tumori POLE EDM sono caratterizzati da una elevata mutagenicità e si riscontrano più comunemente in donne giovani con un BMI più basso [13]. Pur essendo stati classificati come di alto grado, la prognosi per queste pazienti è eccellente in quanto i tumori POLE EDM si presentano per lo più in stadi precoci con un esordio immediato dei sintomi [13].

Il deficit di riparazione del mismatch (MMRd) con conseguente instabilità dei microsatelliti (MSI) è coinvolto nella genesi molecolare di numerose tipologie tumorali, tra cui il cancro endometriale, ovarico, gastrico, colon-rettale, prostatico e il glioblastoma [14].

In particolare, mutazioni germinali nei geni chiave MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 sono coinvolte nella genesi della sindrome di Lynch (LS) [15]. La LS fu una delle prime sindromi ereditarie a rischio di sviluppo tumorale ad essere riconosciuta e è, ad oggi, la più diffusa; viene definita come predisposizione ad uno spettro di tumori, principalmente del colon-retto e dell'endometrio, che mostrano un'attività MMR alterata [15].

Il gruppo di MMRd rappresenta il 23-36% dei tumori endometriali e, all'interno di questo gruppo, il 10% è associato alla sindrome di Lynch [13]. I tumori correlati al MMRd presentano notevole mutagenicità, anche se non così elevata come quella che caratterizza il gruppo POLE EDM, i tre geni maggiormente coinvolti da mutazioni sono PTEN, PIK3CA e PIK3R1 oltre a quelli sopra menzionati correlati alla LS [10]. Tale gruppo di tumori interessa più frequentemente pazienti con elevato BMI e la prognosi, pur non essendo eccellente, non è nemmeno considerata totalmente sfavorevole [10].

La proteina p53 viene soprannominata “il guardiano del genoma” ed opera regolando la trascrizione di numerosi geni bersaglio coinvolti nell'arresto del ciclo cellulare, nell'apoptosi, nella riparazione del DNA, nella senescenza e nel

metabolismo cellulare [16]. P53 può inoltre essere direttamente reclutata a livello mitocondriale dove induce l'apoptosi indipendentemente dal suo ruolo di fattore di trascrizione [17]. In condizioni fisiologiche la concentrazione intracellulare di p53 viene mantenuta bassa in quanto degradata dalle ubiquitine ligasi E3, MDM2, Pirh2 e COP1 [17]. Nel momento in cui la cellula viene esposta a stimoli genotossici, p53 viene fosforilata ed acetilata post-trascrizionalmente e dunque stabilizzata ed attivata agendo così come soppressore tumorale [17]. È stato constatato che oltre il 50% dei tumori umani presenta una mutazione nel gene p53, ribadendo il ruolo chiave di tale fattore trascrizionale nella soppressione dello sviluppo neoplastico [17].

La maggior parte delle mutazioni di TP53 nelle cellule tumorali endometriali comportano la stabilizzazione della proteina e la sua sovraespressione, in altri casi si verificano mutazioni missenso che generano un fenotipo nullo con conseguente completa assenza della proteina stessa [18]. Il gruppo di p53 abn rappresenta l'8-24% dei tumori endometriali, comprende la maggior parte dei tipi istologici sierosi e misti, si presenta a stadi più avanzati (G3) e ha una prognosi sfavorevole rispetto a tutti gli altri sottotipi molecolari [13].

In fine, il sottogruppo molecolare p53 wt o NSMP (nessun profilo molecolare specifico) rappresenta ben il 30-60% dei carcinomi endometriali e ingloba tutte quelle neoplasie che non presentano le caratteristiche molecolari precedentemente descritte [13]. Tranne poche eccezioni, i carcinomi p53 wt esprimono i recettori degli estrogeni e del progesterone e si presentano prevalentemente come sottotipo endometrioidale [13]. La prognosi è variabile in base alle caratteristiche molecolari specifiche [13].

Tabella II. Caratteristiche dei quattro sottotipi molecolari [10].

	POLE-Mutant POLE EDM	MMRd MSI	p53 Abn CN High	p53 wt, MSS, CN Low NSMP
Mutational frequency	>100 mutations/Mb	100–10 mutations/Mb	<10 mutations/Mb	<10 mutations/Mb
Somatic copy-number alterations	Very low	Low	High	Low

Top five recurrent gene mutations (%)	POLE (100%) DMD (100%) CSMD1 (100%) FAT4 (100%) PTEN (94%)	PTEN (88%) PIK3CA (54%) PIK3R1 (42%) RPL22 (37%) ARID1A (37%)	TP53 (92%) PIK3CA (47%) FBXW7 (22%) PPP2R1A (22%) PTEN (10%)	PTEN (77%) PIK3CA (53%) CTNNB1 (52%) ARID1A (42%) PIK3R1 (33%)
Associated histological features	Endometrioid Grade 3 Ambiguous morphology Broad front invasion TILs, peri-tumoral Lymphocytes Giant tumoral cells	Endometrioid Grade 3 LVSI Substantial MELF-type invasion TILs, Crohn's-like peri-tumoral reaction Lower uterine segment involvement	Serous Grade 3 LVSI Destructive invasion High cytonuclear atypia Giant tumoral cells Hobnailing, Slit-like spaces	Endometrioid Grade 1-2 Squamous differentiation ER/PR expression
Associated clinical features	Lower BMI Early Stage (IA/IB) Early onset	Higher BMI Lynch Syndrome	Lower BMI Advanced stage Late onset	Higher BMI
Prognosis in early stage (I-II)	Excellent	Intermediate	Poor	Excellent/intermediate/poor
Diagnostic test	Sanger/NGS Tumor mutation burden	MMR-IHC (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) MSI assay Tumor mutation burden	p53-IHC NGS Somatic copy-number aberrations	
Suggested treatment options in recurrent/metastatic disease	Checkpoint inhibitors	Checkpoint inhibitors	Small molecule activators of p53 PARPi	Hormonal therapy mTOR inhibitors

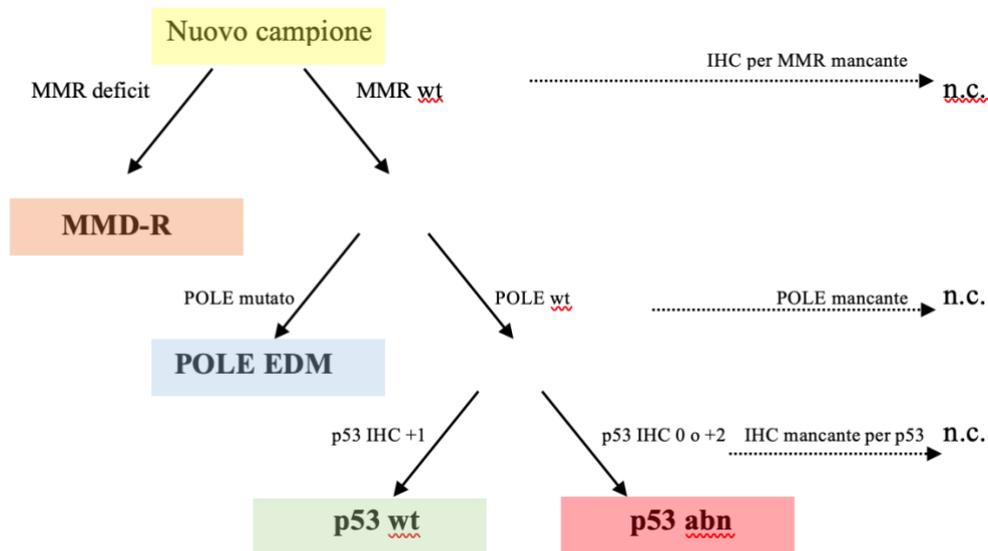
Microsatellite instability (MSI), microsatellite stable (MSS), no specific molecular profile (NSMP), copy-number (CN), tumor-infiltrating lymphocytes (TILs), immunohistochemistry (IHC), next-generation sequencing (NGS).

A partire dai dati pubblicati nel 2013 dal gruppo di ricerca TCGA, Talhouk et al. [19] svilupparono un algoritmo soprannominato Proactive Molecular Risk Classifier for Endometrial Cancer (ProMisE) per l'identificazione dei quattro sottogruppi usando i dati immunohistochimici (IHC) e l'analisi delle mutazioni invece dei dati genomici.

L'algoritmo è semplice (Figura 1): in primo luogo, mediante IHC, viene testato il deficit di mismatch-repair (MMR) ricercando le proteine MSH 6 e PMS2. In secondo luogo, se MSH 6 e PMS2 risultano essere wt, si passa alla ricerca del dominio esonucleasico della polimerasi Epsilon (POLE) tramite il sequenziamento degli esoni 9-14. Infine, si esegue l'IHC per p53 per differenziare i pazienti con espressione normale di p53 (punteggio IHC 1+) rispetto a quelli con perdita

completa/nulla della proteina (punteggio IHC 0) o accumulo (punteggio IHC 2+) [19].

Figura 1. Algoritmo ProMisE



Le Linee guida ESGO-ESTRO-ESP per la gestione delle pazienti con carcinoma endometriale pubblicate nel 2021 raccomandano l'utilizzo della classificazione molecolare in tutti i carcinomi endometriali, specialmente in quelli di alto grado e/o alto rischio, data l'importante validità prognostica di tale strumento [20]. Inoltre, viene evidenziata la necessità di eseguire tutti i test molecolari disponibili in quanto nel 5% dei casi la positività al test è data dalla loro combinazione [20]. Studi minori hanno poi dimostrato che la classificazione molecolare è applicabile anche ai tumori non endometrioidi, compresi i carcinomi sierosi, a cellule chiare, indifferenziati e i carcinosarcomi uterini [20].

Tuttavia, non sempre la classificazione molecolare è nota. Nonostante ciò, conoscendo il tipo istopatologico, il grado, l'invasione miometriale e l'invasione dello spazio linfovaskolare (LVSI) è possibile definire dei gruppi di rischio prognostico [20]. Nella Tabella III viene presentata la definizione dei gruppi di rischio prognostico sia nel caso in cui la classificazione molecolare sia sconosciuta che nel caso in cui sia nota [20].

Tabella III. Definizione dei gruppi prognostici [20].

Gruppo di rischio	Classificazione molecolare non nota	Classificazione molecolare nota
Basso	<ul style="list-style-type: none"> • Stadio IA endometrioidi, grado 1-2, LVSI negativo o focale 	<ul style="list-style-type: none"> • Carcinoma endometriale stadio I-II POLE EDM, senza malattia residua • Stadio IA MMRd/p53 wt carcinoma endometrioidi + basso grado + LVSI negativo o focale
Intermedio	<ul style="list-style-type: none"> • Stadio IB endometrioidi, grado 1-2, LVSI negativo o focale • Stadio IA endometrioidi, grado 3, LVSI negativo o focale • Stadio IA non endometrioidi (sieroso, a cellule chiare, carcinoma indifferenziato, carcinosarcoma, misto) senza invasione miometriale 	<ul style="list-style-type: none"> • Stadio IB MMRd/p53 wt carcinoma endometrioidi + basso grado + LVSI negativo o focale • Stadio IA MMRd/p53 wt carcinoma endometrioidi + alto grado + LVSI negativo o focale • Stadio IA p53 abn e/o non endometrioidi senza invasione miometriale
Alto-intermedio	<ul style="list-style-type: none"> • Stadio I endometrioidi, LVSI sostanziale, indipendentemente dal grado e dalla profondità di invasione • Stadio IB endometrioidi, grado 3, indipendentemente dallo stato LVSI • Stadio II 	<ul style="list-style-type: none"> • Stadio I MMRd/p53 wt carcinoma endometrioidi + LVSI sostanziale indipendentemente dal grado e dalla profondità di invasione • Stadio IB MMRd/p53 wt carcinoma endometrioidi di alto grado indipendentemente dallo stato di LVSI • Stadio II MMRd/p53 wt carcinoma endometrioidi
Alto	<ul style="list-style-type: none"> • Stadio III-IVA senza malattia residua • Stadio I-IVA non endometrioidi (sieroso, a cellule chiare, carcinoma indifferenziato, carcinosarcoma, misto) con invasione miometriale, e senza malattia residua 	<ul style="list-style-type: none"> • Stadio III-IVA MMRd/p53 wt carcinoma endometrioidi senza malattia residua • Stadio I-IVA p53abn carcinoma endometriale con invasione miometriale, senza malattia residua • Stadio I-IVA p53 wt/MMRd sieroso, carcinoma indifferenziato, carcinosarcoma con invasione miometriale, senza malattia residua
Avanzato	<ul style="list-style-type: none"> • Stadio III-IVA con malattia residua 	<ul style="list-style-type: none"> • Stadio III-IVA con malattia residua di qualsiasi tipo molecolare
Metastatico	<ul style="list-style-type: none"> • Stadio IVB 	<ul style="list-style-type: none"> • Stadio IVB di qualsiasi tipo molecolare

DIAGNOSI CLINICA E VALUTAZIONE RADIOLOGICA

Fortunatamente, solo in rari casi il carcinoma endometriale decorre in maniera asintomatica: l'esordio clinico è rappresentato da sanguinamenti vaginali anomali in menopausa o, in età fertile, da perdite ematiche vaginali inattese rispetto al normale flusso mestruale [3]. In stadi più avanzati la paziente può lamentare anche dolore e leucoxantorrea legati a fenomeni necrotico-colliquativi, edema agli arti inferiori e al pube, se c'è interessamento linfonodale e dolori addominali, pelvici lombrosacrali e glutei, sindromi sub-occlusive, dolori ossei e dispnea in caso di metastasi [3].

Tuttavia, la clinica, se pur utile inizialmente, non è sufficiente a far diagnosi. In ogni donna che presenti sanguinamenti anomali il primo esame strumentale da eseguire è l'ecografia trans-vaginale grazie alla quale è possibile valutare lo spessore endometriale (sospetto se $> 5\text{mm}$ in postmenopausa, tra 1 e 14 mm in base al periodo mestruale se in età fertile) oltre all'eventuale presenza di inspessimenti focali [3]. Si può inoltre sfruttare la metodica del color e power Doppler per acquisire informazioni aggiuntive sulla perfusione ematica dell'endometrio [3].

Questo primo livello di indagine indirizza la successiva esecuzione di prelievi biotipici mirati mediante isteroscopia diagnostica (gold standard diagnostico), e, a seconda del rischio clinico e patologico, di ulteriori indagini di imaging imprescindibili per la valutazione metastatica [20].

Le tecniche radiodiagnostiche pre-chirurgiche più utilizzate sono l'ecografia transvaginale (TVUS), la risonanza magnetica (MRI), la tomografia ad emissione di positroni con F-Fluorodeossiglucosio (FDG-PET) e la tomografia assiale computerizzata (TAC).

Ad oggi, la ricerca scientifica si sta focalizzando sulla valutazione di una metodica collaudata, ma rinnovata e implementata nelle sue potenzialità come l'ecografia tridimensionale (3D-TVS).

Nel cancro dell'endometrio, la tecnica di imaging in assoluto più comunemente utilizzata per la valutazione dell'invasione miometriale profonda (MI), anche se non particolarmente accurata (accuratezza diagnostica: 69-74%), è la TVUS [12].

La MRI può raggiungere un livello di accuratezza maggiore (66-90%) nella valutazione dell'invasione miometriale profonda e del coinvolgimento stromale

cervicale rispetto alla TVUS tradizionale [21]. Mediante MRI ,inoltre, è possibile valutare il grado di infiltrazione della vagina, del setto vescico uterino e retto vaginale e l'interessamento linfonodale.

Da recenti metanalisi emerge come la 3D-TVS sembra essere una tecnica appropriata per la valutazione dell'MI, in particolare per gli stadi più precoci, oltre ad avere un vantaggio sia dal punto di vista della praticità di utilizzo, sia dal punto di vista economico [21].

In pazienti con carcinoma endometriale la PET ha una specificità eccellente, del 100%, per la valutazione preoperatoria delle metastasi linfonodali, in particolare a livello para-aortico, e una sensibilità scarsa, del 50%, probabilmente dovuta alla necessità di un numero sufficientemente cospicuo di cellule neoplastiche per indurre l'ipermetabolismo del 18F-fluoro-2-deossi-D-glucosio [22]. Tuttavia, grazie alla sua importante specificità, rimane un'ottima metodica radiologica per valutare l'interessamento linfonodale e indirizzare il medico verso una corretta pianificazione terapeutica [22].

Infine, la TAC preoperatoria, come la MRI, aiuta nella valutazione dell'infiltrazione del miometrio, della cervice, della vagina, del setto vescico uterino e retto vaginale e dell'interessamento linfonodale. Per quanto riguarda la rilevazione delle metastasi linfonodali, pur avendo un ruolo limitato rispetto alla PET, in caso di tumore di alto grado si è visto che migliora la pianificazione chirurgica, aiuta il triage delle pazienti verso i centri di riferimento e facilita l'identificazione della malattia metastatica nella cavità peritoneale o nell'area para-aortica e della malattia retroperitoneale grave [23].

STADIAZIONE FIGO

La diagnosi pre-chirurgica prevede quindi la valutazione clinica della paziente, l'esecuzione di un primo istologico in cui vengono ricercate, mediante immunohistochemica, le tre mutazioni molecolari chiave (POLE, p53abn, MSI) ed uno studio radiologico effettuato attraverso diverse metodiche (TVUS, 3D-TVS, MRI, TAC, PET) che garantiscono un quadro completo dell'entità della malattia. Dalla diagnosi pre-chirurgica dipenderà il tipo di intervento chirurgico a cui la paziente verrà sottoposta.

La diagnosi definitiva del tumore dell'endometrio si basa su una valutazione di tipo chirurgico ed anatomo-patologico dal momento che i sistemi di stadiazione clinici, come quello FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) antecedente al 1988, tendono ad una sottoclassificazione nel 13-14% dei casi [24]. Ad oggi disponiamo di ben due classificazioni chirurgiche: la stadiazione AJCC (American Joint Committee on Cancer) e la recente stadiazione FIGO approvata nel settembre 2008 [24]. Quest'ultima è senza alcun dubbio quella più utilizzata e consta di quattro stadi, suddivisi a loro volta in sottostadi, in base al grado di diffusione locale, regionale e a distanza del tumore (Tabella IV) [25].

Tabella IV. Stadiazione FIGO carcinoma endometriale [25].

Stadio I	Tumore limitato al corpo dell'utero
IA	Nessuna infiltrazione o < ½ del miometrio
IB	Infiltrazione ≥ ½ del miometrio
Stadio II	Tumore esteso allo stroma cervicale, ma non al di fuori dell'utero
Stadio III	Estensione locale o regionale
IIIA	Estensione alla sierosa uterina o alle ovaie
IIIB	Estensione alla vagina o ai parametri
IIIC	Estensione ai linfonodi pelvici o lombo-aortici
	IIIC1 Linfonodi pelvici positivi
	IIIC2 Linfonodi lombo-aortici positivi, indipendentemente da quelli pelvici
Stadio IV	Estensione alla mucosa vescicale o intestinale o metastasi a distanza
IVA	Estensione alla mucosa vescicale o intestinale
IVB	Metastasi a distanza

L'obiettivo del sistema di stadiazione FIGO è quindi quello di dare indicazioni accurate sul miglior trattamento post-chirurgico e sulla prognosi e, da solo, viene ancora considerato il fattore di maggior importanza [26]. Il futuro sta nel connubio delle informazioni ottenute dai metodi di stadiazione tradizionali e dai metodi di recente introduzione: integrando lo stadio FIGO con il tipo istologico, il grado, lo stato LVSI e le regole di classificazione definite da ESGO-ESTRO-ESP 2021 si può ottenere una buona stratificazione in gruppi di rischio aumentando la precisione diagnostica pre-chirurgica, post-chirurgica e prognostica [27]. Seguendo questo filone di pensiero, Raffone et al. hanno condotto una metanalisi sulle caratteristiche cliniche di ciascuno dei sottogruppi molecolari relazionandoli con lo stadio FIGO I [27]. In particolare, è stato osservato che lo stadio FIGO I si riscontra più frequentemente nel gruppo POLE (93,7%) e meno frequentemente nel gruppo p53abn (50,8%) [27].

TRATTAMENTO CHIRURGICO

L'intervento chirurgico è il primo passo per ottenere una stadiazione tumorale definitiva. Nella maggior parte dei casi si procede con una isterectomia totale e una salpingo-ovariectomia bilaterale con o senza linfadenectomia, in altri casi, invece, è necessario ricorrere ad una chirurgia estensiva che prevede omentectomia, biopsie peritoneali e lavaggi peritoneali, al fine di rilevare zone di micrometastasi.

L'esecuzione di un tipo di chirurgia piuttosto che l'altro dipende, come accennato nel paragrafo precedente, dalla stadiazione preoperatoria basata su anamnesi, clinica, tecniche radiologiche e sulla analisi istologica e molecolare del pezzo biptico.

L'approccio chirurgico standard per il trattamento del carcinoma dell'endometrio in stadio I prevede l'isterectomia e l'annessiectomia bilaterale senza resezione della cuffia vaginale, con o senza linfadenectomia [3]. L'omentectomia infracolica per la rilevazione di micrometastasi dovrebbe essere eseguita in pazienti con tumore endometriale in stadio I, se portatrici di istotipo sieroso dell'endometrio, carcinosarcoma e del carcinoma indifferenziato, mentre, può essere omessa, se portatrici di istotipo a cellule chiare ed endometrioidi [20].

La chirurgia mininvasiva è la tecnica di scelta, anche per le pazienti con carcinoma endometriale ad alto rischio (livello di evidenza: I, grado di raccomandazione: A) [20]. Uno studio prospettico randomizzato su 760 pazienti seguite in follow-up per 4.5 anni ha confrontato la chirurgia mininvasiva con quella laparotomica: a termine dello studio è stato dimostrato che le due tecniche garantiscono una sopravvivenza simile, ma l'approccio mininvasivo offre un recupero più rapido [28]. Durante l'atto chirurgico è da evitare qualsiasi fuoriuscita intra-peritoneale del tumore, compresa la rottura dell'utero e la morcellazione del tessuto malato: se mediante estrazione vaginale si prevede una possibile rottura bisogna adottare altre strategie chirurgiche [20].

Nelle pazienti con carcinoma dell'endometrio in stadio I il ruolo della linfadenectomia è stato oggetto di discussione. Ad oggi, le linee guida ESGO-ESTRO-ESP raccomandano l'esecuzione della linfadenectomia sistemica con dissezione dei linfonodi pelvici e para-aortici infrarenali a fini stadiativi in pazienti con malattia a rischio alto e intermedio/alto (stadio IA G3 e IB, FIGO 2009), mentre in pazienti con malattia a rischio basso ed intermedio la biopsia del linfonodo

sentinella è da preferire [20]. Per l'individuazione del linfonodo sentinella, secondo un recente studio controllato randomizzato, l'uso del verde indocianina con iniezione cervicale è una tecnica di rilevazione più accurata rispetto all'impiego del tradizionale blu di metilene [29, 30]. Se la biopsia viene eseguita secondo i principi dello stato dell'arte, in pazienti allo stadio iniziale, essa garantisce un'ottima sensibilità (94%) e un valore predittivo negativo (VPN) pari al 100%: dunque, un linfonodo sentinella negativo confermerà l'assenza di diffusione linfonodale della malattia (pN0) [30]. Inoltre, è possibile eseguire un'"ultra-stadiazione" che permetterebbe di individuare micrometastasi tumorali/cellule tumorali isolate, spesso non diagnosticate, mediante esame istologico convenzionale [20]. Infine, oltre ad essere una metodica molto affidabile, la biopsia del linfonodo sentinella senza la dissezione dei linfonodi pelvici, è associata ad un rischio inferiore di complicanze intra e post-operatorie ed a un rischio minore di sviluppo di linfedema degli arti inferiori [31].

Il trattamento chirurgico standard del carcinoma endometriale in apparente stadio I rappresenta, purtroppo, una soluzione terapeutica che preclude la fertilità. Tuttavia, in pazienti in premenopausa di età <45 anni, che esprimono il desiderio di una gravidanza, con carcinoma endometrioide a basso grado in stadio IA e nessuna malattia ovarica o extra-uterina evidente è possibile la conservazione ovarica [20]. D'altro canto, la conservazione delle ovaie non è raccomandata in pazienti con una storia familiare tumorale correlata ad un aumento del rischio di sviluppo di tumore ovarico (es. mutazione BRCA, sindrome di Lynch, ecc.) o in pazienti con istotipo sieroso [3].

L'approccio chirurgico di scelta in pazienti con carcinoma endometriale in apparente stadio II prevede l'isterectomia totale con salpingo-ovariectomia bilaterale e stadiazione dei linfonodi [20]. Procedure più estese dovrebbero essere eseguite solo se necessarie per ottenere margini chirurgici liberi [20].

Nell'ambito del carcinoma endometriale in stadio III e IV, incluso il carcinosarcoma, il debulking chirurgico completo del tumore macroscopico e dei linfonodi ingrossati dovrebbe essere considerato solamente nel caso in cui tale approccio garantisca un profilo accettabile di morbidità e qualità della vita [20]. Tuttavia, qualora possa essere condotta in modo ottimale, la chirurgia citoreducente ha dimostrato una sopravvivenza libera da progressione e una sopravvivenza globale significativamente migliori [32]. Prima del trattamento chirurgico è necessario

eseguire una stadiazione completa preoperatoria e una discussione da parte di un'equipe multidisciplinare [20]. È da evitare una linfadenectomia pelvica e para-aortica completa dei linfonodi non sospetti in quanto non presenta alcun vantaggio terapeutico, mentre è necessario resecare i linfonodi ingrossati [20].

TERAPIA ADIUVANTE

Con l'avvento della classificazione molecolare nell'ambito del carcinoma dell'endometrio anche l'impostazione della terapia adiuvante è stata rivoluzionata: la scelta riguardante il miglior trattamento adiuvante per la paziente è strettamente legata al suo gruppo di rischio (Tabella III), garantendo quindi un piano terapeutico personalizzato e cucito *ad hoc*.

Basso rischio

Per le pazienti con malattia a basso rischio non è prevista l'esecuzione di alcun trattamento adiuvante: il rischio di recidiva è inferiore al 5% e nel 75% delle volte la malattia si ripresenta solo a livello vaginale [3]. In caso di recidiva esclusivamente vaginale, la radioterapia pelvica e la brachiterapia endovaginale garantiscono la remissione completa nell'89% delle pazienti [3].

Ove disponibile l'immunoistochimica per POLE, se si riscontra una mutazione patogena, in tumori endometriali in stadio I e II l'omissione del trattamento adiuvante dovrebbe essere considerata data la bassissima percentuale di recidive, mentre per tumori in stadio III e IVA la questione è tuttora dibattuta [20].

Rischio intermedio

In caso di malattia a rischio intermedio la brachiterapia adiuvante è la terapia di scelta in quanto garantisce un eccellente controllo delle recidive vaginali e presenta alti tassi di sopravvivenza [33, 34].

Numerosi studi hanno confrontato l'efficacia di diverse modalità di trattamento, tra cui l'utilizzo della radioterapia pelvica a fasci esterni (ERBT), della brachiterapia vaginale (VBT) e nessun trattamento. La VBT da sola è efficace quanto la EBRT+VBT nel garantire il controllo loco-regionale, inoltre raggiunge gli stessi tassi di sopravvivenza, ma con meno effetti tossici per le pazienti in stadio I a rischio intermedio e alto [33, 34]. L'omissione della terapia adiuvante può essere presa in considerazione in donne con meno di 60 anni per il minor rischio di recidiva [20]. Bisogna tuttavia considerare che la maggior parte degli studi eseguiti nell'ambito dell'applicazione della terapia adiuvante ai carcinomi endometriali a rischio intermedio non hanno incluso i carcinomi non endometrioidi e/o p53abn senza

invasione miometriale: è quindi necessario discutere caso per caso, anche alla luce dell'immunoistochimica, fino a quando non saranno disponibili studi adeguati [20].

Rischio intermedio-alto

Per le pazienti in stadio IA e IB con sostanziale LVSI, stadio IB G3, stadio II G1 con sostanziale LVSI e stadio II G2-3 (MMRd e NSMP) la terapia adiuvante di elezione è ERBT, in quanto garantisce un miglior controllo delle recidive a livello vaginale, ma soprattutto a livello pelvico rispetto alla sola VBT [3, 34]. La sola VBT sulla cupola vaginale può, tuttavia, essere considerata nelle pazienti con neoplasia endometriale endometriode in stadio I G3 o stadio II G1, LVSI negative. In rari casi selezionati in pazienti con malattia a rischio intermedio-alto, tipo endometriode IA e assenza di diffusione linfonodale (N0), è possibile considerare di omettere il trattamento adiuvante garantendo tuttavia un follow-up stretto [3]. Infine, grazie allo studio PORTEC-3, è emerso che specialmente nelle pazienti con malattia di grado 3 e/o LVSI sostanziale, l'aggiunta di chemioterapia concomitante e/o sequenziale alla terapia radioterapica potrebbe essere considerata in quanto aumenta la sopravvivenza libera da malattia pur non migliorando la sopravvivenza complessiva a 5 anni [35].

Alto rischio

Negli ultimi anni sono stati condotti numerosi studi, tra cui PORTEC-3 e GOG-258, per valutare se l'utilizzo della combinazione tra chemioterapia e radioterapia adiuvante fosse superiore, in termini sopravvivenza libera da malattia e sopravvivenza globale, alla sola radioterapia o alla sola chemioterapia (CHT) con paclitaxel e carboplatino in pazienti ad alto rischio. Ciò che ha reso ancora più interessanti e innovativi questi studi è stato l'utilizzo della classificazione molecolare per affinare la scelta terapeutica all'interno della stessa categoria di rischio. L'analisi dei dati ha mostrato che pazienti con p53 aberrante, le quali presentano la peggior prognosi indipendentemente dal tipo istologico e dallo stadio, hanno tratto un importante beneficio dal trattamento combinato (ERBT + CHT - 2 x cisplatino seguita da 4 x paclitaxel e carboplatino -), mentre pazienti con POLEmut hanno presentato un'eccellente sopravvivenza in entrambi i bracci di trattamento (ERBT vs trattamento combinato) con quasi il 100% di sopravvivenza libera da recidiva [36]. Infine, le pazienti con MMRd non hanno avuto maggiori

benefici nell'utilizzo della terapia combinata rispetto alla sola radioterapia e le pazienti classificate come NSMP hanno mostrato tendenza a beneficiare della radiochemioterapia [36].

La classificazione molecolare fornisce, senza ombra di dubbio, un valido modello prognostico dal momento che ha dimostrato di poter prevedere la risposta alla radiochemioterapia oltre a permettere l'efficace impiego, in un imminente futuro, degli *immune checkpoint inhibitors* in particolari classi molecolari: pazienti con tumori endometriali MSI sembrano rispondere in maniera eccellente agli inibitori di PARP, mentre in pazienti con p53 aberrante la terapia con anticorpi che limitano la sovraespressione di HER2 mostra promettenti risultati [36].

Stadio avanzato e metastatico

Per pazienti in stadio III e IV o con carcinosarcoma, il debulking chirurgico del tumore deve essere considerato dopo un'attenta valutazione del caso all'interno di un team multidisciplinare nel momento in cui è compatibile con una qualità di vita soddisfacente [20]. Se ciò non fosse possibile, la terapia sistemica primaria dovrebbe essere valutata ed in caso di buona risposta, si può prendere in considerazione il trattamento chirurgico differito [20]. In ogni caso la linfoadenectomia sistemica non è raccomandata e solamente i linfonodi evidentemente interessati da malattia dovrebbero essere resecati [20].

Tabella V. Trattamento adiuvante in base alle classi di rischio [3].

Classi di rischio	FIGO	Grado	LVSI	Terapia Adiuvante
Basso	IA endometrioide	G 1-2 (low grade secondo FIGO)	Assente o focale	Follow-up (FU)
Intermedio	IB endometrioide	G 1-2 (low grade secondo FIGO)	Assente o focale	Brachiterapia FU opzione in pazienti < 60 anni
	IA endometrioide	G3	Assente o focale	Brachiterapia/FU
	IA non-endometrioide (sieroso, cellule chiare, indifferenziato, carcinosarcoma) senza invasione miometriale	N/A	N/A	Brachiterapia/FU
Intermedio/alto N0	IA endometrioide	Qualsiasi G	Sostanziale	Brachiterapia <i>Opzione:</i> FU solo nei IA endometrioidi dopo discussione con la paziente e con stretto Follow up Radioterapia a fasci esterni +/- aggiunta chemioterapia nei G3 e/o LVSI sostanziale + Brachi nei II
	IB endometrioide	G3	Qualsiasi	
	II	Qualsiasi G	Qualsiasi	
Intermedio/alto NX	IA endometrioide	Qualsiasi G	Sostanziale	Radioterapia a fasci esterni (+ brachiterapia nei II) <i>Opzione:</i> +/- aggiunta chemioterapia nei G3 e/o LVSI sostanziale
	IB endometrioide	G3	Qualsiasi	
	II	Qualsiasi G	Qualsiasi	
Alto	III-IV I-IV non endometrioide con invasione miometriale	Qualsiasi G	Qualsiasi	Radioterapia a fasci esterni + chemioterapia secondo la schedula Portec3 + brachiterapia in caso di infiltrazione stromale della cervice <i>Opzioni</i> chemioterapia sequenziale sola chemioterapia Sola radioterapia a fasci esterni in IA Istotipi speciali

SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo del nostro studio è valutare se la classificazione immunohistochimica e molecolare del carcinoma dell'endometrio proposta dallo studio ProMisE possa essere utilizzata nella personalizzazione del trattamento chirurgico qualora la classificazione fosse disponibile nella biopsia diagnostica.

Obiettivo primario

Il nostro obiettivo primario è valutare in quante pazienti si sarebbe modificato l'approccio chirurgico, avendo a disposizione la caratterizzazione ProMisE in fase pre-operatoria.

Obiettivi secondari

Altri obiettivi presi in considerazione dallo studio sono:

- valutare la concordanza tra classi di rischio prognostiche senza classificazione molecolare e classi di rischio prognostiche con classificazione molecolare nota nella nostra popolazione;
- valutare quale sottogruppo immunohistochimico e molecolare potrebbe beneficiare maggiormente di un planning pre-chirurgico personalizzato basato sulla categorizzazione immuno-istopatologica;
- valutare la concordanza tra caratterizzazione immunohistochimica eseguita sulla biopsia diagnostica e sulla diagnosi istologica definitiva post-intervento chirurgico.

MATERIALI E METODI

DISEGNO E LUOGO DELLO STUDIO

Lo studio condotto è uno studio osservazionale prospettico. Le pazienti sono state arruolate presso l'ambulatorio di Ginecologia Oncologica della Clinica Ginecologica ed Ostetrica del Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino dell'Azienda Ospedale - Università di Padova, da dicembre 2019 a marzo 2022.

CARATTERISTICHE DEL CAMPIONE

Lo studio è stato condotto su donne con diagnosi istologica di carcinoma dell'endometrio mediante l'esecuzione di una biopsia isteroscopica e sottoposte a trattamento chirurgico presso il nostro centro. I dati clinici sono stati raccolti dalle cartelle cliniche elettroniche delle pazienti, previo ottenimento del consenso informato per il trattamento dei dati personali a fini scientifici.

I criteri di inclusione scelti sono stati:

- diagnosi istologica di carcinoma dell'endometrio;
- esecuzione della caratterizzazione ProMisE, almeno sul pezzo operatorio;
- pazienti in follow-up clinico presso l'ambulatorio di ginecologia-oncologica della Clinica Ginecologica.

Mentre, sono state escluse dal campione le pazienti che:

- hanno proseguito le cure in un'altra struttura;
- rientrano in un gruppo di rischio "avanzato" o "metastatico".

RACCOLTA DATI

Per ogni paziente sono stati raccolti dalla cartella clinica elettronica i seguenti dati pre-chirurgici:

- dati clinici: Body Mass Index (ottenuto dividendo in peso, in chilogrammi, per il quadrato dell'altezza, in metri), parità ed età al momento dell'intervento;
- diagnosi istologica sulla biopsia diagnostica: istotipo, grading, e, quando possibile, analisi immunoistochimica (geni POLE, p53, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2). La diagnosi istologica del pezzo biotico è stata eseguita da

parte dell'U.O.C di Anatomia e Istologia Patologica dell'Azienda Ospedale - Università di Padova;

- dati radiologici di RMN pelvi con Mdc e/o TC addome con Mdc per la valutazione di infiltrazione del miometrio, della cervice, linfonodi patologici e malattia a distanza. Le indagini radiologiche sono state eseguite presso l'U.O.C Radiologica dell'Azienda Ospedale - Università di Padova.

In base ai dati radiologici ed istologici, ogni paziente è stata sottoposta ad intervento chirurgico secondo le linee guida ESGO-ESTRO-ESP [20] e stadiata secondo la classificazione FIGO approvata nel settembre 2018.

Successivamente all'intervento, per ogni paziente sono stati raccolti dalla cartella clinica elettronica i seguenti dati:

- dati operatori: tipologia e durata (in minuti) dell'intervento, perdite ematiche (in cc) e complicanze intra-operatorie e post-operatorie, classificate secondo la classificazione Clavien-Dindo;
- diagnosi istologica sul pezzo operatorio: istotipo, grading, analisi immunoistochimica con particolare attenzione alla mutazione dei geni POLE, p53, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, presenza di invasione linfovascolare, di infiltrazione del miometrio e della cervice. La diagnosi istologica del pezzo operatorio è stata eseguita da parte dell'U.O.C di Anatomia e Istologia Patologica dell'Azienda Ospedale - Università di Padova;

In base all'analisi dei dati ricavati dall'esame istologico eseguito sul pezzo operatorio, ogni paziente è stata assegnata ad un gruppo di rischio prognostico post-chirurgico secondo la classificazione ESGO-ESTRO-ESP 2021 senza immunoistochimica e biologia molecolare e con immunoistochimica e biologia molecolare nota.

Le due classi di rischio sono state messe a confronto per calcolare la percentuale di variazione.

È stata inoltre messa a confronto la caratterizzazione immunoistochimica eseguita sulla biopsia diagnostica e sul pezzo operatorio.

Successivamente, secondo le classi di rischio prognostiche ESGO-ESTRO-ESP 2021 basate sull'immunoistochimica e sulla biologia molecolare, sono state individuate le pazienti che avrebbero potuto eseguire una chirurgia personalizzata

se l'analisi immunohistochimica e la biologia molecolare fossero state rese note dallo studio della biopsia diagnostica.

Infine, è stato eseguito un confronto tra chirurgia effettuata e chirurgia personalizzata proposta ed è stata calcolata la percentuale di pazienti che avrebbero potuto usufruire una chirurgia personalizzata.

ANALISI STATISTICA

L'analisi statistica dei dati è stata eseguita mediante software SPSS per Windows, versione 28.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois).

I dati sono stati espressi come frequenza e percentuale per le variabili categoriche, media \pm deviazione standard [intervallo di confidenza 95 percentile] per le variabili numeriche continue.

RISULTATI

Le pazienti incluse nello studio sono state 49, tutte hanno ricevuto diagnosi istologica di carcinoma dell'endometrio mediante esecuzione di una biopsia isteroscopica e sono state sottoposte ad intervento chirurgico tra dicembre 2019 e marzo 2022.

Il BMI medio delle nostre pazienti è di $26,8 \pm 6,2$ e il 67.3% ha avuto almeno un figlio, mentre il 32,7% è risultata nullipara.

L'età media delle nostre pazienti all'intervento era di $67,8 \pm 10,8$ anni.

I dati relativi alla diagnosi istologica pre-intervento, eseguita su biopsia isteroscopica, sono riportati in Tabella VI.

L'analisi immunoistochimica completa con la ricerca di POLE-mut, p53abn e MSI è stata eseguita su 11 pazienti, mentre in 27 di loro è stata ricercata solamente la mutazione per i geni POLE e p53 (Tabella VI).

Tabella VI. Dati diagnosi istologica isteroscopica.

Variabile	Frequenza	Percentuale
Istotipo		
Endometriode	38	77,6
Non endometriode	10	20,4
Carcinosarcoma	1	2
Grading		
Basso	28	57,1
Alto	21	42,9
POLE		
POLE-mut	1	3,7
POLE-wt	26	96,3
p53		
p53-abn	7	25,9
p53-wt	20	74,1
MSI		
MSI presente	4	36,4
MSI assente	7	63,6

In 11 (22,4%) pazienti è stata eseguita un'isterectomia con annessiectomia bilaterale, mentre 26 (53,1%) pazienti sono state sottoposte ad isterectomia con annessiectomia bilaterale e linfadenectomia pelvica bilaterale e 12 (24,5%) ad isterectomia, annessiectomia bilaterale e linfadenectomia pelvica bilaterale e lomboaortica ed omentectomia.

La durata media dell'intervento è stata di $196,4 \pm 70,1$ minuti e le perdite ematiche medie sono state di $97,9 \pm 153,9$ cc.

Le complicanze intra e post-operatorie sono state 5 (10,2%): 2 (4,1%) pazienti sono andate incontro a linfocele degli arti inferiori e pelvico, 2 (4,1%) ad ascesso post-chirurgico e 2 (2%) a danno ureterale.

I dati relativi alla diagnosi istologica definitiva sono riportati in Tabella VII.

Tabella VII. Dati diagnosi istologica sul pezzo operatorio.

Variabile	Frequenza	Percentuale
Istotipo		
Endometrioide	35	71,5
Non endometrioide	11	22,4
Indifferenziato	2	4,1
Carcinosarcoma	1	2
Grading		
Basso	26	53,1
Alto	23	46,9
POLE		
POLE-mut	1	2
POLE-wt	48	98
p53		
p53-abn	10	20,4
p53-wt	39	79,6
MSI		
MSI presente	15	30,6
MSI assente	34	69,4
LVSI		
LVSI presente	15	30,6
LVSI assente	34	69,9

Undici pazienti hanno eseguito la caratterizzazione immunoistochimica con la ricerca di POLE-mut, p53abn e MSI sia sulla biopsia isteroscopica che sulla biopsia istologica post-chirurgia: nella totalità dei casi (100%) è stata riscontrata concordanza tra gli esiti dei due esami.

In base ai dati ricavati dalla diagnosi istologica sul pezzo operatorio le pazienti sono state stadiate secondo la stadiazione FIGO approvata nel settembre 2018: 24 (49%) pazienti sono rientrate nel gruppo FIGO IA, 12 (24,5%) IB, 4 (8,2%) II e 9 (18,4%) III-IV.

Ogni paziente è stata inoltre assegnata ad un gruppo di rischio prognostico post-chirurgico secondo la classificazione ESGO-ESTRO-ESP 2021 senza immunoistochimica e biologia molecolare e con immunoistochimica e biologia molecolare nota. Tre (6,1%) pazienti, sulla base della classificazione molecolare, sono passate da una classe di rischio prognostico più bassa ad una più alta: in particolare 2 (4,1%) pazienti sono passate dalla classe di rischio bassa a quella intermedia ed 1 (2%) da quella intermedia a quella alto-intermedia.

Nessuna paziente è passata da una classe di rischio prognostico più alta ad una più bassa.

La distribuzione nei singoli gruppi di rischio è riportata in Tabella VIII.

Tabella VIII. Distribuzione nei gruppi di rischio con classificazione molecolare non nota e nota.

Variabile - Gruppo di rischio	Classificazione molecolare non nota		Classificazione molecolare nota	
	Frequenza	Percentuale	Frequenza	Percentuale
Basso	16	32,7	14	28,6
Intermedio	12	24,5	13	26,5
Alto-intermedio	10	20,4	11	22,4
Alto	10	20,4	10	20,4
Avanzato o metastatico	1	2,0	1	2,0

Sulla base della nuova classificazione di rischio prognostico con biologia molecolare nota, nella nostra popolazione 13 (26,5%) pazienti rientravano in queste categorie immunohistochimiche che potrebbero beneficiare di una chirurgia personalizzata:

- 10 pazienti appartenenti al sottogruppo p53abn carcinoma endometriale in stadio FIGO I-IVA con invasione miometriale, senza malattia residua;
- 3 pazienti appartenenti al sottogruppo NSMP/MMRd a istotipo sieroso, indifferenziato, carcinosarcoma, in stadio FIGO I-IVA, con invasione miometriale, senza malattia residua.

Tutte queste pazienti sono state sottoposte ad intervento di isterectomia ed annessiectomia bilaterale con linfadenectomia. Secondo lo studio delle classi di rischio avrebbero potuto essere sottoposte ad isterectomia ed annessiectomia bilaterale senza linfadenectomia.

Inoltre, 3 (6,1%) pazienti, sono state sottoposte all'intervento di isterectomia ed annessiectomia bilaterale senza linfadenectomia, quando avrebbero dovuto eseguire un'escissione linfonodale.

Due delle tre pazienti appartenevano al sottogruppo carcinoma endometroide a basso grado, stadio IB, NSMP/MMRd con LVSI negativo o focale mentre una al sottogruppo carcinoma endometroide, stadio I, NSMP/MMRd con LVSI sostanziale indipendentemente dal grado e dalla profondità dell'invasione.

Tuttavia, la scelta dell'iter terapeutico per queste tre pazienti è stata influenzata in modo importante dall'età e dalle loro comorbidità.

Dunque, nella nostra popolazione, una percentuale significativa, il 26,5%, avrebbe potuto beneficiare di una chirurgia personalizzata.

DISCUSSIONE

Lo studio immunoistochimico (IHC) e molecolare rappresenta un cambiamento rivoluzionario nella gestione delle donne affette da carcinoma endometriale e ha permesso un riorientamento totale delle modalità di diagnosi e trattamento di queste pazienti.

Dalla recente pubblicazione dello studio ProMisE nel 2017 [19], che ha fornito un sistema di classificazione molecolare basata su i sottogruppi genomici TCGA e che è diventato una pietra miliare nell'ambito del carcinoma dell'endometrio, l'interesse per lo studio IHC e molecolare non si è placato, anzi di anno in anno la quota di articoli scientifici dedicati all'argomento è aumentata esponenzialmente. Anche le ultime linee guida ESGO-ESTRO-ESP per la gestione delle pazienti con carcinoma endometriale [20] raccomandano lo studio IHC e molecolare e la classificazione in gruppi di rischio prognostici in tutte le pazienti affette.

Nonostante il grande fermento suscitato dallo studio IHC e molecolare del carcinoma dell'endometrio in ambito scientifico e i suoi risvolti in ambito clinico, manca ancora molto da approfondire per poter trarne massimo beneficio in ambito clinico. Il ruolo determinante che riveste nella pianificazione del trattamento adiuvante è ormai noto e comprovato da numerosi trial multicentrici. Lo stesso non si può affermare per il ruolo che potrebbe assumere l'IHC nella pianificazione pre-chirurgica, per il quale ancora non ci sono dati in letteratura.

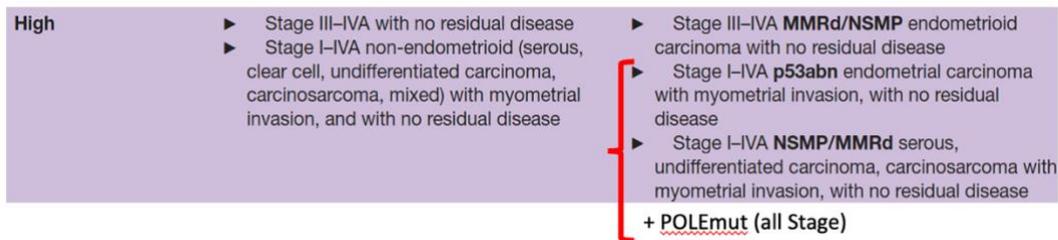
Nel presente studio è stata analizzata la possibilità di eseguire l'analisi IHC e molecolare nella biopsia diagnostica e quali potrebbero essere i risvolti nella gestione pre-chirurgica delle pazienti.

Lo studio ha evidenziato come il 26.5% delle pazienti avrebbe potuto beneficiare di una chirurgia diversa da quella a cui è stata sottoposta secondo i risultati dell'analisi IHC e molecolare eseguita sul pezzo operatorio.

In particolare, tredici pazienti avrebbero potuto evitare l'escissione linfonodale. È noto che la linfadenectomia nell'ambito del carcinoma dell'endometrio è una pratica chirurgica puramente stadiativa, non terapeutica, non scevra da complicanze, tra cui il linfedema degli arti inferiori [31].

Evitare una linfadenectomia in particolari gruppi di pazienti in cui ciò è possibile significa quindi ridurre la morbilità post-chirurgica e le possibili complicanze senza inficiare l'efficacia del trattamento.

Figura 2. Categorie molecolari che potrebbero beneficiare di una chirurgia personalizzata.



È emerso che le categorie molecolari che potrebbero beneficiare di una chirurgia personalizzata senza linfadenectomia stadiativa sono il sottogruppo carcinoma endometriale p53abn e il sottogruppo carcinoma sieroso, indifferenziato, carcinosarcoma NSMP/MMRd. Difatti la terapia adiuvante in queste pazienti varia esclusivamente tra lo stadio IA e IB, mentre nei restanti è indipendente dalla stadiazione e prevede chemioterapia e radioterapia sequenziali o concomitanti (Figura 2).

La differenziazione tra stadio IA da quello IB è data dall'isterectomia totale: le pazienti con carcinoma in stadio IA p53abn e/o non endometriale (sieroso, a cellule chiare, carcinoma indifferenziato, carcinosarcoma, misto) senza invasione miometriale o con carcinoma endometrioidale ad alto grado stadio IA NSMP/MMRd appartengono ad un gruppo a rischio intermedio con un trattamento adiuvante specifico.

Infine, il terzo sottogruppo che potrebbe beneficiare di una chirurgia senza linfadenectomia, è rappresentato dalle pazienti con mutazione del gene POLE in quanto numerosi studi hanno dimostrato l'eccellente prognosi dei carcinomi dell'endometrio POLEmut in stadio I e II [20]. Per pazienti con carcinoma endometriale POLEmut in stadio III e IVA ad oggi mancano studi in letteratura che permettano l'assegnazione ad un determinato gruppo di rischio prognostico nella classificazione molecolare.

Dunque, queste tre categorie molecolari appena descritte potrebbero essere sottoposte ad un trattamento chirurgico che preveda un'isterectomia ed

annessiectomia bilaterale senza linfadenectomia, eccezione fatta per pazienti con linfonodi bulky e positivi alla stadiazione radiologica (TC, RM, PET o ecografia) o alla visualizzazione intraoperatoria, nelle quali non è possibile prescindere dal debulking chirurgico del tumore.

In letteratura non sono disponibili dati riguardanti la pianificazione chirurgica sulla base dell'IHC nella biopsia diagnostica e in che percentuale di pazienti potrebbe modificare l'iter chirurgico. Il nostro dato non è quindi confrontabile con studi presenti in letteratura.

Nel presente studio è stata inoltre analizzata la variazione tra classi di rischio prognostiche senza classificazione molecolare e classi di rischio prognostiche con classificazione molecolare nota nella popolazione esaminata.

Nel nostro campione abbiamo registrato una variazione del 6,1%: le pazienti in cui è stato riscontrato un cambio della classe di rischio dopo caratterizzazione molecolare presentavano tutte instabilità dei microsatelliti.

Il nostro dato risulta in linea con quanto riscontrato in un recente studio di Imboden S. et al [37] ed in un secondo studio condotto da Loukovaara M. et al [38], che hanno incluso circa 600 donne ciascuno.

In uno studio con un campione di 54 pazienti, Knez J. et al [39] hanno riportato una variazione del 10%.

Tale variazione suggerisce l'importanza di poter disporre dell'analisi IHC e molecolare per una corretta assegnazione alla classe di rischio prognostico delle pazienti e per una pianificazione personalizzata del trattamento adiuvante.

Infine, a completamento dello studio, è stata indagata la concordanza tra caratterizzazione immunoistochimica eseguita sulla biopsia diagnostica e sulla diagnosi istologica definitiva post-intervento chirurgico. Bisogna sottolineare che trattandosi di dati preliminari e di una proposta di studio il campione che dispone di una biopsia diagnostica con IHC è limitato. La concordanza registrata nelle undici pazienti della nostra popolazione che disponevano dell'analisi IHC e molecolare sulla biopsia diagnostica confrontata con la diagnosi istologica definitiva è stata del 100%. Tale dato comporta due importanti implicazioni: la concordanza elevata permette di poter decidere riguardo al trattamento chirurgico

personalizzato sulla base della biopsia diagnostica in quanto espressione dell'analisi IHC e molecolare definitiva e permette l'esecuzione di un unico studio IHC e molecolare, senza la necessità di ripeterlo sul pezzo post-operatorio. Ciò porterebbe ad un vantaggio in termini economici, organizzativi e di pianificazione preoperatoria del trattamento chirurgico. L'esecuzione di un'unica analisi IHC e molecolare sulla biopsia diagnostica consentirebbe un immediato inizio della terapia adiuvante post-intervento senza attendere l'esito dell'analisi IHC e molecolare post-operatoria. Inoltre, la pianificazione di un trattamento chirurgico personalizzato porterebbe a minimizzare il rischio di sovratrattamento o sottotrattamento, in particolare nelle tre categorie molecolari sopra descritte.

Il principale punto di forza del nostro studio è la proposta di un approccio originale ed innovativo nella pianificazione del percorso terapeutico delle donne affette da carcinoma dell'endometrio che potrebbe rappresentare un'opportunità in più nella scelta della terapia chirurgica corretta.

Un limite dello studio è la scarsa numerosità del campione. Inoltre, essendo la Clinica Ginecologica ed Ostetrica del Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino dell'Azienda Ospedale - Università di Padova un punto di riferimento nella cura del carcinoma dell'endometrio, l'affluenza di pazienti in stadi avanzati è stata maggiore rispetto ai centri periferici dove vengono trattate pazienti in stadi precoci della malattia.

CONCLUSIONI

I gruppi di rischio prognostico con classificazione molecolare nota ESGO-ESTRO-ESP 2021 rappresentano un cambiamento rivoluzionario nella diagnosi clinica e nel trattamento del carcinoma endometriale.

Questo studio propone l'esecuzione dell'analisi IHC e molecolare sulla biopsia isteroscopica con stratificazione delle pazienti nei gruppi di rischio prognostico già in fase preoperatoria al fine di proporre loro una chirurgia personalizzata.

Secondo i nostri risultati, la percentuale di pazienti che avrebbe beneficiato di una chirurgia personalizzata è significativa e la corrispondenza tra IHC nella biopsia diagnostica e nell'istologia definitiva è stata totale.

Tuttavia, essendo tale studio basato su un campione esiguo, a nostro avviso, è necessario un trial clinico multicentrico randomizzato che valuti la corrispondenza tra IHC e classificazione molecolare nella biopsia diagnostica e nell'istologia definitiva dopo isterectomia e che confronti il follow up di pazienti sottoposte a chirurgia personalizzata versus pazienti sottoposte a chirurgia classica con adeguata terapia adiuvante in termini di recidiva di malattia.

L'implementazione e l'inserimento dell'analisi IHC e molecolare nella pianificazione del trattamento chirurgico e adiuvante per le donne con tumore endometriale rappresenta un cambiamento complesso che è solo all'inizio e che potrebbe rivelarsi cruciale per la definizione di una gestione personalizzata nell'era della medicina di precisione.

Bibliografia

1. Aiom-Airtum: I numeri del cancro in Italia 2020.
2. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, ; Mathieu, Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. In *CA CANCER J CLIN* (Vol. 71).
3. Aiom Linee Guida 2021: Neoplasie dell'utero: endometrio e cervice.
4. Bokhman, J. v. (1983). Two Pathogenetic Types of Endometrial Carcinoma. In *GYNECOLOGK ONCOLOGY* (Vol. 15).
5. Murali, R., Soslow, R. A., & Weigelt, B. (2014). Classification of endometrial carcinoma: More than two types. In *The Lancet Oncology* (Vol. 15, Issue 7). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70591-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70591-6).
6. Piulats, J. M., Guerra, E., Gil-Martín, M., Roman-Canal, B., Gatiús, S., Sanz-Pamplona, R., Velasco, A., Vidal, A., & Matias-Guiu, X. (2017). Molecular approaches for classifying endometrial carcinoma. In *Gynecologic Oncology* (Vol. 145, Issue 1, pp. 200–207). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2016.12.015>.
7. WHO classification of tumours editorial board. Tumours of the uterine corpus in Female Genital tumours. WHO Classification of Tumors – 5 th edition 2020.
8. Soslow, R. A., Bissonnette, J. P., Wilton, A., Ferguson, S. E., Alektiar, K. M., Duska, L. R., & Oliva, E. (2007). *Clinicopathologic Analysis of 187 High-grade Endometrial Carcinomas of Different Histologic Subtypes: Similar Outcomes Belie Distinctive Biologic Differences*.
9. Tafe, L. J., Garg, K., Chew, I., Tornos, C., & Soslow, R. A. (2010). Endometrial and ovarian carcinomas with undifferentiated components: Clinically aggressive and frequently underrecognized neoplasms. *Modern Pathology*, 23(6), 781–789. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2010.41>.
10. McAlpine, J., Leon-Castillo, A., & Bosse, T. (2018). The rise of a novel classification system for endometrial carcinoma; integration of molecular subclasses. In *Journal of Pathology* (Vol. 244, Issue 5, pp. 538–549). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/path.5034>.
11. Getz, G., Gabriel, S. B., Cibulskis, K., Lander, E., Sivachenko, A., Sougnez, C., Lawrence, M., Kandoth, C., Dooling, D., Fulton, R., Fulton, L., Kalicki-Veizer, J., McLellan, M. D., O’Laughlin, M., Schmidt, H., Wilson, R. K., Ye, K., Li, D., Ally, A., ... Levine, D. A. (2013). Integrated genomic

- characterization of endometrial carcinoma. *Nature*, 497(7447), 67–73. <https://doi.org/10.1038/nature12113>.
12. Shinbrot, E., Henninger, E. E., Weinhold, N., Covington, K. R., Göksenin, A. Y., Schultz, N., Chao, H., Doddapaneni, H. V., Muzny, D. M., Gibbs, R. A., Sander, C., Pursell, Z. F., & Wheeler, D. A. (2014). Exonuclease mutations in DNA polymerase epsilon reveal replication strand specific mutation patterns and human origins of replication. *Genome Research*, 24(11), 1740–1750. <https://doi.org/10.1101/gr.174789.114>.
 13. Alexa, M., Hasenburg, A., & Battista, M. J. (2021). The tcga molecular classification of endometrial cancer and its possible impact on adjuvant treatment decisions. In *Cancers* (Vol. 13, Issue 6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/cancers13061478>.
 14. Hause, R. J., Pritchard, C. C., Shendure, J., & Salipante, S. J. (2016). Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types. *Nature Medicine*, 22(11), 1342–1350. <https://doi.org/10.1038/nm.4191>.
 15. Lynch, H. T., Snyder, C. L., Shaw, T. G., Heinen, C. D., & Hitchins, M. P. (2015). Milestones of Lynch syndrome: 1895-2015. *Nature Reviews Cancer*, 15(3), 181–194. <https://doi.org/10.1038/nrc3878>.
 16. Rivlin, N., Koifman, G., & Rotter, V. (2015). P53 orchestrates between normal differentiation and cancer. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 32, pp. 10–17). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2013.12.006>.
 17. Parrales, A., & Iwakuma, T. (2015). Targeting oncogenic mutant p53 for cancer therapy. In *Frontiers in Oncology* (Vol. 5, Issue DEC). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00288>.
 18. Edmondson, R. J., Crosbie, E. J., Nickkho-Amiry, M., Kaufmann, A., Stelloo, E., Nijman, H. W., Leary, A., Auguste, A., Mileskin, L., Pollock, P., MacKay, H. J., Powell, M. E., Bosse, T., Creutzberg, C. L., & Kitchener, H. C. (2017). Markers of the p53 pathway further refine molecular profiling in high-risk endometrial cancer: A TransPORTEC initiative. *Gynecologic Oncology*, 146(2), 327–333. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2017.05.014>.
 19. Talhouk, A., McConechy, M. K., Leung, S., Yang, W., Lum, A., Senz, J., Boyd, N., Pike, J., Anglesio, M., Kwon, J. S., Karnezis, A. N., Huntsman, D. G., Gilks, C. B., & McAlpine, J. N. (2017). Confirmation of ProMisE: A simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer. *Cancer*, 123(5), 802–813. <https://doi.org/10.1002/cncr.30496>.
 20. Concin, N., Matias-Guiu, X., Vergote, I., Cibula, D., Mirza, M. R., Marnitz, S., Ledermann, J., Bosse, T., Chargari, C., Fagotti, A., Fotopoulou, C., Gonzalez Martin, A., Lax, S., Lorusso, D., Marth, C., Morice, P., Nout, R. A., O'Donnell, D., Querleu, D., ... Creutzberg, C. L. (2021).

- ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. In *International Journal of Gynecological Cancer* (Vol. 31, Issue 1, pp. 12–39). BMJ Publishing Group. <https://doi.org/10.1136/ijgc-2020-002230>.
21. Costas, T., Belda, R., & Alcázar, J. L. (2022). Transvaginal three-dimensional ultrasound for preoperative assessment of myometrial invasion in patients with endometrial cancer: A systematic review and meta-analysis. In *Medical Ultrasonography* (Vol. 24, Issue 1, pp. 77–84). Societatea Romana de Ultrasonografie in Medicina si Biologie. <https://doi.org/10.11152/MU-2961>.
 22. Lé On-Castillo, A., de Boer, S. M., Powell, M. E., Mileskin, L. R., Mackay, H. J., Leary, A., Nijman, H. W., Singh, N., Pollock, P. M., Bessette, P., Fyles, ; Anthony, Haie-Meder, C., Vincent, ;, Smit, T. H. B. M., Edmondson, R. J., Hein, ;, Henry, ;, Kitchener, C., Crosbie, E. J., ... Bosse, T. (2020). Molecular Classification of the PORTEC-3 Trial for High-Risk Endometrial Cancer: Impact on Prognosis and Benefit From Adjuvant Therapy. *J Clin Oncol*, *38*, 3388–3397. <https://doi.org/10.1200/JCO.20>.
 23. Bogani, G., Gostout, B. S., Dowdy, S. C., Multinu, F., Casarin, J., Cliby, W. A., Frigerio, L., Kim, B., Weaver, A. L., Glaser, G. E., & Mariani, A. (2017). Clinical utility of preoperative computed tomography in patients with endometrial cancer. *International Journal of Gynecological Cancer*, *27*(8), 1685–1693. <https://doi.org/10.1097/IGC.0000000000001076>.
 24. Reinhold, C., Ueno, Y., Akin, E. A., Bhosale, P. R., Dudiak, K. M., Jhingran, A., Kang, S. K., Kilcoyne, A., Lakhman, Y., Nicola, R., Pandharipande, P. v., Paspulati, R., Shinagare, A. B., Small, W., Vargas, H. A., Whitcomb, B. P., & Glanc, P. (2020). ACR Appropriateness Criteria® Pretreatment Evaluation and Follow-Up of Endometrial Cancer. *Journal of the American College of Radiology*, *17*(11), S472–S486. <https://doi.org/10.1016/j.jacr.2020.09.001>.
 25. Pecorelli, S. (2009). Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. In *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* (Vol. 105, Issue 2, pp. 103–104). <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2009.02.012>.
 26. Kasius, J. C., Pijnenborg, J. M. A., Lindemann, K., Forsse, D., van Zwol, J., Kristensen, G. B., Krakstad, C., Werner, H. M. J., & Amant, F. (2021). Risk stratification of endometrial cancer patients: FIGO stage, biomarkers and molecular classification. In *Cancers* (Vol. 13, Issue 22). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cancers13225848>.
 27. Raffone, A., Travaglino, A., Mascolo, M., Carotenuto, C., Guida, M., Mollo, A., Insabato, L., & Zullo, F. (2020). Histopathological characterization of ProMisE molecular groups of endometrial

- cancer. *Gynecologic Oncology*, 157(1), 252–259.
<https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.01.008>.
28. Janda, M., Gebiski, V., Davies, L. C., Forder, P., Brand, A., Hogg, R., Jobling, T. W., Land, R., Manolitsas, T., Nascimento, M., Neesham, D., Nicklin, J. L., Oehler, M. K., Otton, G., Perrin, L., Salfinger, S., Hammond, I., Leung, Y., Sykes, P., ... Obermair, A. (2017). Effect of total laparoscopic hysterectomy vs total abdominal hysterectomy on disease-free survival among women with stage i endometrial cancer: A randomized clinical trial. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 317(12), 1224–1233. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.2068>.
 29. Rozenholc, A., Samouelian, V., Warkus, T., Gauthier, P., Provencher, D., Sauthier, P., Gauthier, F., Drakopoulos, P., & Cormier, B. (2019). Green versus blue: Randomized controlled trial comparing indocyanine green with methylene blue for sentinel lymph node detection in endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*, 153(3), 500–504.
<https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2019.03.103>.
 30. How JA, O'Farrell P, Amajoud Z, Lau S, Salvador S, How E, Gotlieb WH. Sentinel lymph node mapping in endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *Minerva Ginecol*. 2018 Apr;70(2):194-214. doi: 10.23736/S0026-4784.17.04179-X. Epub 2017 Nov 28. PMID: 29185673
 31. Accorsi, G. S., Paiva, L. L., Schmidt, R., Vieira, M., Reis, R., & Andrade, C. (2020). Sentinel Lymph Node Mapping vs Systematic Lymphadenectomy for Endometrial Cancer: Surgical Morbidity and Lymphatic Complications. *Journal of Minimally Invasive Gynecology*, 27(4), 938-945.e2.
<https://doi.org/10.1016/j.jmig.2019.07.030>.
 32. Rajkumar, S., Nath, R., Lane, G., Mehra, G., Begum, S., & Sayasneh, A. (2019). Advanced stage (IIIC/IV) endometrial cancer: Role of cytoreduction and determinants of survival. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 234, 26–31.
<https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2018.11.029>.
 33. Wortman, B. G., Creutzberg, C. L., Putter, H., Jürgenliemk-Schulz, I. M., Jobsen, J. J., Lutgens, L. C. H. W., van der Steen-Banasik, E. M., Mens, J. W. M., Slot, A., Kroese, M. C. S., van Triest, B., Nijman, H. W., Stelloo, E., Bosse, T., de Boer, S. M., van Putten, W. L. J., Smit, V. T. H. B. M., & Nout, R. A. (2018). Ten-year results of the PORTEC-2 trial for high-intermediate risk endometrial carcinoma: improving patient selection for adjuvant therapy. *British Journal of Cancer*, 119(9), 1067–1074.
<https://doi.org/10.1038/s41416-018-0310-8>.
 34. Sunil, R. A., Bhavsar, D., Shruthi, M. N., Kunikullaya, U. S., Vyas, R. K., Parikh, A., Mehta, M. J., & Patel, P. N. (2018). Combined external beam radiotherapy and vaginal brachytherapy versus vaginal brachytherapy in stage I, intermediate- and high-risk cases of endometrium

- carcinoma. *Journal of Contemporary Brachytherapy*, 10(2), 105–114. <https://doi.org/10.5114/jcb.2018.75595>.
35. de Boer, S. M., Powell, M. E., Mileskin, L., Katsaros, D., Bessette, P., Haie-Meder, C., Ottevanger, P. B., Ledermann, J. A., Khaw, P., Colombo, A., Fyles, A., Baron, M. H., Jürgenliemk-Schulz, I. M., Kitchener, H. C., Nijman, H. W., Wilson, G., Brooks, S., Carinelli, S., Provencher, D., ... Tubiana-Mathieu, N. (2018). Adjuvant chemoradiotherapy versus radiotherapy alone for women with high-risk endometrial cancer (PORTEC-3): final results of an international, open-label, multicentre, randomised, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, 19(3), 295–309. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30079-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30079-2).
36. van den Heerik, A. S. V. M., Horeweg, N., de Boer, S. M., Bosse, T., & Creutzberg, C. L. (2021). Adjuvant therapy for endometrial cancer in the era of molecular classification: Radiotherapy, chemoradiation and novel targets for therapy. In *International Journal of Gynecological Cancer* (Vol. 31, Issue 4, pp. 594–604). BMJ Publishing Group. <https://doi.org/10.1136/ijgc-2020-001822>.
37. Imboden, S., Nastic, D., Ghaderi, M., Rydberg, F., Siegenthaler, F., Mueller, M. D., Rau, T. T., Epstein, E., & Carlson, J. W. (2021). Implementation of the 2021 molecular ESGO/ESTRO/ESP risk groups in endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*, 162(2), 394–400. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2021.05.026>.
38. Loukovaara, M., Pasanen, A., & Bützow, R. (2022). Clinicopathologic vs. Molecular Integrated Prognostication of Endometrial Carcinoma by European Guidelines. *Cancers*, 14(3). <https://doi.org/10.3390/cancers14030651>.
39. Knez, J., Sobocan, M., Belak, U., Kavalar, R., Zupin, M., Büdefeld, T., Potocnik, U., & Takac, I. (2021). Pre-treatment risk assessment of women with endometrial cancer: differences in outcomes of molecular and clinical classifications in the Slovenian patient cohort. *Radiology and Oncology*, 56(1), 76–82. <https://doi.org/10.2478/raon-2021-0036>.