

ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής : Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

Διευθυντής: Καθηγητής ΓΕΩΡΓΙΟΣ Κ. ΚΟΥΚΟΥΛΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

Διευθυντής ΠΜΣ : Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Μελέτη της συχνότητας των μεταλλάξεων της DNA πολυμεράσης ε (POLE) σε γυναίκες με καρκίνο ενδομητρίου»

ΔΡΑΓΟΥΜΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ
ΕΙΔΙΚΕΥΟΜΕΝΟΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ-ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης

ΛΑΡΙΣΑ

Οκτώβριος 2018

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής:

- 1^{ος} Εξεταστής
Επιβλέπων** Μαρία Σαμαρά,
Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής
Ανατομικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 2^{ος} Εξεταστής
Σύμβουλος** Αλέξανδρος Δαπόντε,
Καθηγητής Μαιευτικής και
Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 3^{ος} Εξεταστής
Μέλος** Μαρία Σάτρα,
ΕΔΙΠ Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Παθολογικής ανατομικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας υπό την επίβλεψη της κ. Μαρίας Σαμαρά, Επίκουρης Καθηγήτριας Παθολογικής Ανατομικής με έμφαση στη Μοριακή Ιστοπαθολογία. Θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα της διπλωματικής μου εργασίας και μέλος της τριμελούς επιτροπής κ. Μαρία Σαμαρά, για την ανάθεση της παρούσας εργασίας, την καθοδήγηση και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον διευθυντή του μεταπτυχιακού προγράμματος και σύμβουλο της τριμελούς επιτροπής Καθηγητή κ. Αλέξανδρο Δαπόντε, για τη βοήθειά του στα πλαίσια της διπλωματικής εργασίας και την καθοδήγησή του συνολικά κατά τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω και το τρίτο μέλος της εξεταστικής επιτροπής την κ. Μαρία Σάτρα, ΕΔΙΠ Βιολογίας, Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για τις συμβουλές και τη βοήθειά της κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής κύριο Γεώργιο Κουκούλη, που με δέχτηκε στο εργαστήριό του, καθώς και τις υποψήφιες διδάκτορες του εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής, κυρίες Μαρία Παπαθανασίου και Αικατερίνη Χατζούλη και τη μεταπτυχιακή φοιτήτρια Ελένη Αβδουλά για την πολύτιμη βοήθειά τους, την καθοδήγηση που μου προσέφεραν όλο αυτό το διάστημα και την άμογη συνεργασία μας που συνέβαλλε καθοριστικά στην ολοκλήρωση της συγκεκριμένης εργασίας.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την συμπαράσταση τους, τους δύο γιους μου, και τη γυναίκα μου που ακόμη γελάει με τα αστεία μου...

ΔΡΑΓΟΥΜΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

Λάρισα, 2018

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

Προσωπικά στοιχεία

ΟΝΟΜΑ / ΕΠΩΝΥΜΟ ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΔΡΑΓΟΥΜΗΣ
EMAIL Dragoumisgeorge@gmail.com

Εργασιακή πείρα

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΕΣ 12/2010-12/2011
ΘΕΣΗ Κ.Υ. Αλμυρού
ΑΡΜΟΔΙΟΤΗΤΕΣ Αγροτικός Ιατρός στο περιφερειακό ιατρείο
Βρύναινας και εφημερεύων στο Κ.Υ Αλμυρού

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΕΣ 7/2012-8/2013
ΘΕΣΗ Γενικό νοσοκομείο Λάρισας ,Χειρουργική Κλινική
ΑΡΜΟΔΙΟΤΗΤΕΣ Ειδικευόμενος ιατρός Γενικής χειρουργικής

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΕΣ 9/2013-12/2015
ΘΕΣΗ Γενικό Νοσοκομείο Βόλου .Μαιευτική και
Γυναικολογική Κλινική
ΑΡΜΟΔΙΟΤΗΤΕΣ Ειδικευόμενος Ιατρός Μαιευτικής και
Γυναικολογίας.

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΕΣ 7/2016-2/2017
ΘΕΣΗ YORK Teaching Hospital NHS Foundation
ΑΡΜΟΔΙΟΤΗΤΕΣ Trust grade doctor St1-2(SHO)

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΕΣ 4/2017-σήμερα
ΘΕΣΗ Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο
Λάρισας, Μαιευτική
και Γυναικολογική Κλινική
ΑΡΜΟΔΙΟΤΗΤΕΣ Ειδικευόμενος Ιατρός Μαιευτικής και
Γυναικολογίας

Εκπαίδευση

**ΤΙΤΛΟΣ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΣΧΟΛΗ**

**ΠΤΥΧΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

ΓΛΩΣΣΕΣ

ΑΓΓΛΙΚΑ,ΓΑΛΛΙΚΑ

**ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΕΜΠΕΙΡΙΑ
ΧΡΗΣΗΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΗ**

ΑΡΙΣΤΗ

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

ΚΑΤΟΧΟΣ ATLS (2012),ALSO (2016).

**«Μελέτη της συχνότητας των μεταλλάξεων της DNA πολυμεράσης ε
(POLE) σε γυναίκες με καρκίνο ενδομητρίου»**

ΔΡΑΓΟΥΜΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, 2018

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων: Μαρία Σαμαρά,
Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής
Ανατομικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Σύμβουλος : Αλέξανδρος Δαπόντε,
Καθηγητής Μαιευτικής και
Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μέλος : Μαρία Σάτρα,
ΕΔΙΠ Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Περίληψη

Ο καρκίνος του ενδομητρίου αποτελεί το συχνότερο γυναικολογικό καρκίνο στις ανεπτυγμένες χώρες. Πρόκειται για τον μοναδικό καρκίνο που παρουσιάζει αυξανόμενη συχνότητα εμφάνισης και θνησιμότητας. Στην ιστολογική ταξινόμηση κατά FIGO, προστίθεται πλέον η μοριακή ταξινόμηση που κατηγοριοποιεί τους καρκίνους του ενδομητρίου σε τέσσερις κύριες ομάδες βάσει του υψηλού αριθμού ή χαμηλού αριθμού αντιγράφων, της μικροδορυφορικής αστάθειας και των μεταλλάξεων του γονιδίου της πολυμεράσης ε (POLE), που σχετίζονται παράλληλα με υψηλό φορτίο μεταλλάξεων.

Μελετήσαμε 36 γυναίκες με καρκίνο του ενδομητρίου ηλικίας 46 έως 82 ετών με διάμεση τιμή τα 61 έτη. Η πλειοψηφία τους εμφάνισε ενδομητριοειδή τύπο καρκινώματος. Οι κλινικοιστολογικές παράμετροι που συσχετίστηκαν με την παρουσία μεταλλάξεων στα εξόνια 9, 13 και 14 στο γονίδιο της πολυμεράσης ε ήταν η παρουσία/απουσία αγγειακής διήθησης, ο βαθμός διήθησης και το βάθος διήθησης του ενδομητρίου. 1/36 ασθενείς (2.8%) φέρει μια μη νοηματική μετάλλαξη στο γονίδιο της πολυμεράσης ε και συγκεκριμένα τη νουκλεοτιδική αλλαγή c.1355C>A, που οδηγεί στην αμινοξική αλλαγή p.P452H στο εξόνιο 13. Η ασθενής που έφερε τη συγκεκριμένη μετάλλαξη είχε ορώδους τύπου καρκίνο του ενδομητρίου, βαθμού κακοηθείας III και με διήθηση μικρότερη από 50%.

Στις πρόσφατες μελέτες τα ποσοστά των μεταλλάξεων του γονιδίου της πολυμεράσης ε που έχουν καταγραφεί κυμαίνονται σε χαμηλά επίπεδα της τάξης του 10% και παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις. Οι καρκίνοι του ενδομητρίου, που φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο της πολυμεράσης ε, φαίνεται να παρουσιάζουν μορφολογική ετερογένεια, είναι πλούσιοι σε λεμφοκύτταρα που διηθούν τον όγκο καθώς και σε περινεοπλασματικά λεμφοκύτταρα. Οι όγκοι αυτοί έχουν ενισχυμένη ανοσογονικότητα, γεγονός που εξηγεί την καλή έκβαση των όγκων αυτών και εγκαθιστά το γονίδιο της πολυμεράσης ε ως πιθανό βιοδείκτη και θεραπευτικό στόχο στα πλαίσια της ανοσοθεραπείας. Ωστόσο, καθώς οι ενδείξεις αφορούν σε μικρό αριθμό μελετών και ως επί το πλείστον χρειάζεται περαιτέρω μελέτη σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών με καρκίνο του ενδομητρίου.

Summary

Endometrial cancer is the most common gynecological cancer of the Western World, and the only cancer with increased incidence and prevalence. Except FIGO histological classification a molecular classification has also been added, categorizing endometrial cancers in four major groups, according to high or low gene copy numbers, microsatellite instability and polymerase ϵ (POLE) mutations, also correlating to high mutation burden.

We examined 36 women with endometrial cancer, aged 46-82 years old, with median age 61 years old. The vast majority of the patients developed endometrioid cancer. Clinicohistological parameters that correlated with the presence of exon 9, 13 and 14 mutations of POLE was presence/absence of blood vessel invasion, extend and percentage of endometrial invasion. 1/36 patients (2.8%) carries a missense mutation in POLE exon 13, the c.1355C>A nucleotide change, leading to the p.P452H amino acid alteration. The patient who carried the mutation suffered from serous type endometrioid carcinoma of grade III, with <50% invasion.

In recent studies, POLE mutation rates remain in low levels, about 10%, with a wide range across samples. Endometrial cancers with POLE mutations seem to be highly heterogeneous, but also rich in tumor-infiltrating lymphocytes, as well as perineoplastic lymphocytes. These tumors show increased immunogenicity, which explains the favorable outcomes of these tumors and sets the POLE gene as a potential biomarker and therapeutic target for immunotherapy. Though, indications are limited due to a small number of studies, with the need of further research in a larger endometrial cancer patient sample.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Περίληψη	σελ 07
	Abstract	σελ 08
Μέρος 1ο	Εισαγωγή	σελ 11
Κεφάλαιο 1	Επιδημιολογία, ταξινόμηση και προδιαθεσικοί παράγοντες του καρκίνου του ενδομητρίου	σελ 12
1.1	Επιδημιολογία	σελ 12
1.2	Προδιαθεσικοί παράγοντες και παθοφυσιολογία του καρκίνου του ενδομητρίου	σελ 14
1.3	Μορφολογία του ενδομητρίου	σελ 19
1.4	Το φυσιολογικό ενδομήτριο	σελ 20
1.5	Καρκίνος του ενδομητρίου	σελ 20
1.5.1	Ιστολογική ταξινόμηση του καρκίνου του ενδομητρίου	σελ 21
1.5.2	Ταξινόμηση κατά FIGO	σελ 27
1.6	Μοριακή ταξινόμηση και γονίδια που εμπλέκονται στην καρκινογένεση του ενδομητρίου	σελ 29
1.7	Ενδοκυττάρια μονοπάτια σηματοδότησης και καρκινογένεση στο ενδομήτριο	σελ 33
Κεφάλαιο 2	Διάγνωση, πρόγνωση και θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου του ενδομητρίου	σελ 35
2.1	Διάγνωση-κλινική συμπτωματολογία	σελ 35
2.2	Πρόγνωση	σελ 38
2.3	Θεραπεία	σελ 39
Μέρος 2 ^ο	Ειδικό μέρος	σελ 44
2	Σκοπός της μελέτης	σελ 45
2.1	Υλικά και μέθοδος	σελ 46
2.2	Απομόνωση DNA	σελ 46
2.3	Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός DNA	σελ 48
2.3.1	Φωτομέτρηση	σελ 48
2.3.2	Ηλεκτροφόρηση νουκλειικών οξέων	σελ 49
2.3.3	Παρασκευή πηκτώματος αγαρόζης	σελ 49
2.3.4	Διαδικασία ηλεκτροφόρησης	σελ 49

2.4	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR)	σελ 51
2.5	Καθαρισμός PCR προϊόντων από πήκτωμα αγαρόζης (QIAquick Gel extraction)	σελ 54
2.6	Αλληλούχιση του PCR προϊόντος	σελ 57
2.7	Αποτελέσματα	σελ 58
2.8	Συζήτηση	σελ 64
2.9	Βιβλιογραφία	σελ 68

Μέρος 1^ο
Γενικό Μέρος - Εισαγωγή

Κεφάλαιο 1

Επιδημιολογία, ταξινόμηση και προδιαθεσικοί παράγοντες του καρκίνου του ενδομητρίου.

1.1 Επιδημιολογία

Ο καρκίνος του ενδομητρίου αναπτύσσεται στο ενδοθήλιο του εσωτερικού του σώματος της μήτρας και αποτελεί τον πλέον συχνότερο γυναικολογικό καρκίνο (Cook LS et al, 2006). Είναι ο μοναδικός γυναικολογικός καρκίνος με αυξανόμενη συχνότητα εμφάνισης και θνησιμότητα (Longoria and Eskander, 2015). Περίπου το 53% των νέων περιπτώσεων καρκίνου του ενδομητρίου παρατηρείται στις ανεπτυγμένες χώρες με συχνότητα 12.9 ανά 100.000 γυναίκες και ποσοστό θνησιμότητας 2.4 ανά 100.000 γυναίκες (Jemal A et al, 2011).

Ο αριθμός νέων περιστατικών εκτιμάται σε 319.500 κάθε χρόνο και σε 76.000 θανάτους από καρκίνο του ενδομητρίου παγκοσμίως (Ferlay J et al, 2013). Στις Η.Π.Α και στην Ευρώπη αποτελεί τον τέταρτο συχνότερο καρκίνο του γυναικείου πληθυσμού μετά τον καρκίνο του μαστού, του πνεύμονα και του παχέος εντέρου (American Cancer Society, 2017). Εκτιμάται ότι ποσοστό περίπου 2-3% των γυναικών θα αναπτύξουν καρκίνο του ενδομητρίου κατά την διάρκεια της ζωής τους. Το αυξανόμενο ποσοστό των γυναικών τρίτης ηλικίας στις ανεπτυγμένες χώρες και ο μοντέρνος τρόπος ζωής εκτιμώνται ότι θα συμβάλλουν στην ανάπτυξη νέων περιστατικών καρκίνου του ενδομητρίου στα επόμενα χρόνια (Rahib L et al, 2014; Sheikh MA et al, 2014).

Ο καρκίνος του ενδομητρίου διαγιγνώσκεται στο 90% των περιπτώσεων σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες ηλικίας άνω των 50 ετών, με μέση ηλικία τα 63 έτη (American Cancer Society, 2005). Αν και η πλειονότητα των καρκίνων του ενδομητρίου εμφανίζονται μετά την εμμηνόπαυση, μπορούν να προσβληθούν και προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σε ποσοστό που φτάνει το 25%.

Τα υψηλότερα ποσοστά εμφάνισης της νόσου παρατηρούνται σε γυναίκες λευκής φυλής της Βόρειας Αμερικής και της Ευρώπης, ενώ αντίθετα χαμηλότερα ποσοστά παρουσιάζονται σε γυναίκες της Αφρικής και της Ασίας (Siegel R et al, 2011). Στις

αναπτυσσόμενες χώρες, ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι η δεύτερη συχνότερη κακοήθης νόσος στις γυναίκες μετά τον καρκίνο του τραχήλου, με συχνότητα 5.9 ανά 100.000 γυναίκες και ποσοστό θνησιμότητας 1.7 ανά 100.000 γυναίκες (Jemal A, 2011).

Το συνολικό ποσοστό 5-ετούς επιβίωσης είναι σχετικά υψηλό, κυρίως σε χώρες υψηλού βιοτικού επιπέδου. Για παράδειγμα, στις ΗΠΑ, το σχετικό ποσοστό 5-ετούς επιβίωσης για όλες τις περιπτώσεις καρκίνου του ενδομητρίου είναι περίπου 82%. Επίσης, οι περισσότερες περιπτώσεις ασθενών που έχουν διαγνωσθεί σε πρώιμο στάδιο, έχουν ποσοστό 5-ετούς επιβίωσης άνω του 90% (**Πίνακας 1**) (American Cancer Society, 2017).

Η πλειονότητα των γυναικών εμφανίζουν ανώμαλη κολπική αιμόρροια με αποτέλεσμα την έγκαιρη διάγνωση της νόσου (S. G. O., 2014). Η αντιμετώπιση, ανάλογα με το στάδιο της νόσου, συμπεριλαμβάνει ολική υστερεκτομή μετά των εξαρτημάτων, πυελικό και παρααορτικό λεμφαδενικό καθαρισμό, ακτινοθεραπεία, βραχυθεραπεία και χημειοθεραπεία (S. G. O., 2014).

	Όλα τα στάδια (%)	Εντοπισμένα (%)	Τοπικά (%)	Απομακρυσμένα (%)
Σύνολο περιπτώσεων	81.5	95.2	68.2	25.0
Ενδομητριοειδές	91.5	97.6	79.9	43.4
Βλεννώδεις	91.8	98.7	71.2	9.6
Αδενοκαρκίνωμα	81.1	95.9	63.9	14.7
Διαυγοκυτταρικό	60.2	86.8	58.3	23.2
Ορώδεις	48.4	82.1	47.6	17.0

Πίνακας 1. Ποσοστά 5-ετούς επιβίωσης γυναικών με καρκίνο του ενδομητρίου ανάλογα τον ιστολογικό τύπο και το στάδιο της νόσου στις ΗΠΑ 2004-2011. Πηγή: Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program (www.seer.cancer.gov)

1.2. Προδιαθεσικοί παράγοντες και παθοφυσιολογία του καρκίνου του ενδομητρίου

Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι κατεξοχήν ορμονοεξαρτώμενος όγκος. Τα οιστρογόνα θεωρούνται διεγερτικός παράγοντας για την ανάπτυξη καρκίνου, ενώ η προγεστερόνη εξουδετερώνει τη διεγερτική επίδραση των οιστρογόνων στο ενδομήτριο, ελαττώνοντας τη σύνθεση DNA και τη μιτωτική δραστηριότητα.

Η πλειοψηφία των προδιαθεσικών παραγόντων κινδύνου του καρκίνου του ενδομητρίου σχετίζονται με παρατεταμένη μη-αντιρροπούμενη επίδραση ενδογενών και εξωγενών οιστρογόνων στο ενδομήτριο (Parazzini F et al, 1991). Η παχυσαρκία, η αρτηριακή υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, η καθυστερημένη εμμηνόπαυση και η χρήση σκευασμάτων οιστρογόνων ευθύνονται σε σημαντικό βαθμό για την ανάπτυξη κυρίως τύπου I καρκίνου του ενδομητρίου (**Πίνακας 2**).

Παράγοντες κινδύνου
Παχυσαρκία
Σακχαρώδης Διαβήτης
Αρτηριακή Υπέρταση
Ατοκία-Υπογονιμότητα
Πρώιμη εμμηναρχή
Όψιμη εμμηνόπαυση
Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS)
Λήψη Ταμοξιφαίνης
Θεραπεία Ορμονικής υποκατάστασης
Σύνδρομο κληρονομικού μη πολυποδιασικού κολοορθικού καρκίνου (HNPCC)
Οιστρογονοπαραγωγοί όγκοι
Προηγηθείσα ακτινοθεραπεία για κακοήθεις νόσους της πυέλου.

Πίνακας 2. Ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου ενδομητρίου.

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αυξημένη συχνότητα εμφάνισης του καρκίνου του ενδομητρίου σε μικρότερες ηλικίες, πιθανώς λόγω διαφόρων εξωγενών

παραγόντων, όπως η αύξηση της παχυσαρκίας, του μεταβολικού συνδρόμου, της υπογονιμότητας, ή της ευρείας χρήσης θεραπειών ορμονικής υποκατάστασης με οιστρογόνα που οδηγούν ταχύτατα σε άτυπη υπερπλασία του ενδομητρίου. Ωστόσο, ο καρκίνος του ενδομητρίου και γενικότερα τα κακοήγη νεοπλασμάτα του σώματος της μήτρας διαγιγνώσκονται γενικά σε γυναίκες μεγαλύτερες κατά μία δεκαετία τουλάχιστον σε σχέση με τις γυναίκες που αναπτύσσουν καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

Παχυσαρκία

Η παχυσαρκία στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες ευθύνεται για ανάπτυξη καρκίνου του ενδομητρίου σε ποσοστό της τάξης του 5% των περιπτώσεων. Αποτελεί ένα ολοένα και αυξανόμενο πρόβλημα στις αναπτυγμένες χώρες. Η παθοφυσιολογία είναι σχετικά απλή, καθώς τα αυξημένα ποσοστά λίπους αυξάνουν την έκθεση του ενδομητρίου στα οιστρογόνα. Έτσι τα μη-αντιρροπούμενα οιστρογόνα κατά την εμμηνόπαυση διεγείρουν το ενδομήτριο προκαλώντας υπερπλασία και καρκινογένεση (Genazzani AR et al, 2001). Η πενταπλάσια αύξηση του ποσοστού της μετατροπής των προδρόμων μορφών των οιστρογόνων σε περιφερικές θέσεις σε ενεργή μορφή, η αυξημένη 16α-υδροξυλίωση της οιστρόνης και η αύξηση των επιπέδων του ορού του ελεύθερου οιστρογόνου, λόγω μειωμένων επιπέδων της SHBG συντελούν στην ανάπτυξη καρκίνου (Siiteri P.K., 1981; Hershcopf R.J. and Bradlow H.L., 1987).

Οι παχύσαρκες γυναίκες βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν καρκίνο του ενδομητρίου αφού το σωματικό βάρος είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης για τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου (Swanson C.A., et al., 1993; Weiderpass E. et al., 2000). Επίσης, ο κίνδυνος για ανάπτυξη καρκίνου του ενδομητρίου υπάρχει σε όλες τις ομάδες ηλικιών γυναικών, προ- και εμμηνοπαυσιακές, με αυξημένο δείκτη σωματικής μάζας (Anderson B et al, 1996).

Σύμφωνα με μελέτες, η παχυσαρκία σχετίζεται με καρκινώματα που εμφανίζουν μεγαλύτερη θνησιμότητα και επιπλοκές (von Gruenigen VE et al, 2006). Κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ηλικίας συνοδεύεται και με άλλα προβλήματα όπως ανωοθυλακιορρηξία και διαταραχές του κύκλου. Τακτική άσκηση, δίαιτα και μείωση του σωματικού βάρους μειώνουν την πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου του ενδομητρίου.

Ορμονική θεραπεία υποκατάστασης

Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι κυρίως ορμονοεξαρτώμενος καρκίνος (τύπος I, ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα, 70-80%). Η παθοφυσιολογία του τύπου I καρκίνου οφείλεται κυρίως στη μη αντιρροπούμενη από τη προγεστερόνη ελεύθερη κυκλοφορία ενδογενών ή εξωγενών οιστρογόνων. Η θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης με οιστρογόνα μόνο, σε γυναίκες που έχουν διατηρήσει τη μήτρα τους, αποτελεί μια τέτοια περίπτωση.

Ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει αποδείξει επανειλημμένως την υψηλή συσχέτιση μεταξύ της ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης με οιστρογόνα, σε γυναίκες που αναζητούν ανακούφιση από τα συμπτώματα της εμμηνόπαυσης και του καρκίνου του ενδομητρίου (Grady D. et al., 1995; Weiderpass E. et al., 1999). Σύμφωνα με μελέτες, ο κίνδυνος φαίνεται να αυξάνει έως και 40% μετά από μόνο ένα χρόνο χρήσης (Grady, D. et al., 1995). Αξίζει να σημειωθεί ότι η πιθανότητα εμφάνισης της νόσου αυξάνεται με την αύξηση της δόσης οιστρογόνων (Hulka, B.S. et al., 1980).

Όσον αφορά στο χρόνο που χρειάζεται μετά τη διακοπή της θεραπείας για να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου σε φυσιολογικά για την ηλικία επίπεδα οι απόψεις των συγγραφέων δίστανται (Weiderpass E. et al. 1999; Hulka B.S. et al., 1980; Shapiro S. et al., 1980). Τα καρκινώματα που αναπτύσσονται σε γυναίκες που λαμβάνουν οιστρογόνα έχουν συνήθως καλή διαφοροποίηση με υψηλό ποσοστό πενταετούς επιβίωσης (Silverberg S.G. et al., 1980).

Σακχαρώδης διαβήτης

Η αυξημένη συχνότητα εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη σε γυναίκες με καρκίνο του ενδομητρίου έχει τεκμηριωθεί σε αρκετές μελέτες (Kessler I.I., 1971; Anderson K.E. et al., 2001; Shoff S.M. and Newcomb P.A., 1998). Έχει εκδηλωθεί έντονο ενδιαφέρον για τη συσχέτιση του καρκίνου του ενδομητρίου με την αντίσταση στην ινσουλίνη (Burzawa J.K. et al., 2011; Berstein L.M. et al., 2004; Soliman P.T. et al., 2006). Δεδομένα προηγούμενων μελετών καταδεικνύουν ότι σε ένα υψηλό ποσοστό ασθενών (35-66%) προϋπήρχε αντίσταση στην ινσουλίνη.

Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών

Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) αποτελεί μια από τις συχνότερες ενδοκρινοπάθειες της αναπαραγωγικής ηλικίας, καθώς προσβάλλει 5-10% των γυναικών (Palioura E & Diamanti-Kandarakis E, 2015). Τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου είναι αραιομηνόρροια, ανωοθυλακιορρηξία, υπογονιμότητα, υπερανδρογοναιμία με ανάλογα συμπτώματα (έντονη τριχοφυΐα, ακμή, λιπαρότητα δέρματος) και πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών στον υπερηχογραφικό έλεγχο. Σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας με PCOS έχει παρατηρηθεί αυξημένη συχνότητα υπερπλασίας του ενδομητρίου που οφείλεται στον αυξημένο ρυθμό παραγωγής οιστρονής και ανδροστενδιόνης.

Η στενή συσχέτιση του PCOS και του καρκίνου του ενδομητρίου έχει αποδειχθεί σε αρκετές μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία (Purdie DM and Green AC., 2001). Οι δύο νοσολογικές οντότητες μοιράζονται κοινούς προδιαθεσικούς παράγοντες κινδύνου, όπως η παχυσαρκία, η υπερινσουλιναιμία και η υπερανδρογοναιμία. Τα αυξημένα ποσοστά ενδογενών οιστρογόνων σε συνδυασμό με τα αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου. Μέσω της αρνητικής ρύθμισης των επιπέδων του ινσουλινοειδούς αυξητικού παράγοντα (insulin-like growth factor-1, IGF-1) και τη συνακόλουθη αύξηση των κυκλοφορούντων οιστρογόνων, διεγείρεται το ενδομήτριο και αυξάνεται η μιτωτική δραστηριότητα των κυττάρων του. Τα αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης συμβάλλουν επίσης στην αυξημένη παραγωγή ανδρογόνων από τις ωοθήκες, με επακόλουθο τις χρόνιες μορφές ανωοθυλακιορρηξίας και ελάττωση της προγεστερόνης. Ταυτόχρονα, παρατηρείται μείωση της ηπατικής σύνθεσης της φυλοδεσμευτικής σφαιρίνης του ορού (SHBG), με αποτέλεσμα αυξημένα επίπεδα των κυκλοφορούντων οιστρογόνων.

Ατοκία-Υπογονιμότητα

Η ατοκία, είτε ως εκδήλωση της υπογονιμότητας, είτε ως ανεξάρτητη οντότητα έχει αποδειχθεί επανειλημμένως ότι αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου (Parazzini F et al, 1991).

Σύμφωνα με μελέτες, οι άτοκες-υπογόνιμες γυναίκες παρουσιάζουν 3-4 φορές περισσότερες πιθανότητες να αναπτύξουν καρκίνου του ενδομητρίου, ενώ ο κίνδυνος

μειώνεται για κάθε παιδί που αποκτά η γυναίκα (Bevier M. et al, 2011; Henderson B.E. et al., 1983).

Ταμοξιφαίνη

Η ταμοξιφαίνη αποτελεί ένα αποτελεσματικό φάρμακο κατά του καρκίνου του μαστού. Ωστόσο η οιστρογονική της επίδραση σε άλλους ιστούς όπως το ενδομήτριο έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη υπερπλασίας του ενδομητρίου στο 40% των γυναικών που κάνουν χρόνια χρήση ταμοξιφαίνης (EBCT Collaborative Group, 1998; Fisher B et al, 1994). Επιπλέον, ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του ενδομητρίου αυξάνεται με την διάρκεια χρήσης της ταμοξιφαίνης και την αθροιστική δόση του φαρμάκου (Mignotte H. et al., 1998). Οι γυναίκες που λαμβάνουν θεραπεία με ταμοξιφαίνη πρέπει να παρακολουθούνται στενά για πιθανά συμπτώματα υπερπλασίας ή καρκίνου του ενδομητρίου (ACOG, 2006).

Ηλικία, φυλετικά και γεωγραφικά χαρακτηριστικά

Ο καρκίνος του ενδομητρίου παρουσιάζει υψηλό επιπολασμό στις αναπτυγμένες χώρες, κυρίως στις εμμηνόπαυσιακές γυναίκες. Η μέση ηλικία διάγνωσης είναι τα 61 έτη. Οι γυναίκες της Καυκάσιας φυλής τείνουν να νοσούν συχνότερα σε σχέση με τις γυναίκες από την Ασία, την Αφρική και τη Λατινική Αμερική (Purdie DM and Green AC, 2001). Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη καρκίνου του ενδομητρίου μεταξύ των πληθυσμών.

Ιστορικό έμμηνου ρύσεως

Η πρόωγη εμμηναρχή καθώς επίσης και η καθυστερημένη εμμηνόπαυση έχουν αναφερθεί ως παράγοντες κινδύνου από πολλούς ερευνητές (Wynder E.L. et al, 1966; Way S., 1954; McPherson C.P. et al., 1996).

Οικογενειακό ιστορικό

Το σύνδρομο του κληρονομικού μη πολυποδισιακού καρκίνου του παχέος εντέρου (σύνδρομο Lynch) σχετίζεται με σημαντικά αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου σε σύγκριση με το γενικό γυναικείο πληθυσμό. Αποτελεί μια νόσο με αυτοσωμικό επικρατή χαρακτήρα κληρονόμησης, που προκαλείται από μεταλλάξεις σε γονίδια επιδιόρθωσης βλαβών του DNA, κυρίως στα MLH1, MLH2 MSH2 και MSH6 (Peltomäki P and Vasen H, 2004) και συσχετίζεται με καρκίνους του παχέος εντέρου, του ορθού, των ωοθηκών, του λεπτού εντέρου, της νεφρικής πυέλου, του ουρητήρα και του ενδομητρίου.

Οι γυναίκες με σύνδρομο Lynch εμφανίζουν τη νόσο σε νεαρότερη ηλικία σε σχέση με το γενικό πληθυσμό, με μέση ηλικία τα 50 έτη (Brinton L.A. et al, 2005). Παρ' όλα αυτά το σύνολο των καρκίνων του ενδομητρίου που σχετίζεται με το σύνδρομο Lynch είναι μικρό (5% των περιπτώσεων).

Οιστρογονοπαραγωγικοί όγκοι

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι ένα ποσοστό της τάξης 6-10% των ασθενών με όγκους ωοθηκών που παράγουν οιστρογόνα έχουν αναπτύξει καρκίνο του ενδομητρίου (Diddle A.W., 1952; Larson J.A., 1954). Οι κοκκιοκυτταρικοί όγκοι των ωοθηκών αποτελούν σπάνια αιτία υπερπλασίας του ενδομητρίου και ανάπτυξης καρκινώματος.

1.3. Μορφολογία του ενδομητρίου

Ο βλεννογόνος του ενδομητρίου διακρίνεται στο ενδομήτριο του σώματος και στο ενδομήτριο του κατώτερου τμήματος της μήτρας, δηλαδή τον ισθμό. Το ενδομήτριο του ισθμού ανταποκρίνεται ασθενέστερα στα ορμονικά ερεθίσματα.

Το ενδομήτριο αποτελείται από δύο στιβάδες, τη βασική και τη λειτουργική. Η βασική στιβάδα αποτελείται από πυκνό στρώμα και μικρούς, φαινομενικά ανενεργείς κατά τη διάρκεια του κύκλου αδένες. Η λειτουργική στιβάδα αποτελεί το τμήμα του ενδομητρίου που αναπτύσσεται, διαφοροποιείται, υποστρέφει, αποπίπτει και αναγεννάται στο νέο κύκλο. Η αγγείωση του ενδομητρίου είναι πολύ ειδική και

προσαρμόζεται ανάλογα με τη φάση του κύκλου. Η αγγείωση των δύο στιβάδων του ενδομητρίου είναι διαφορετική, γεγονός που δικαιολογεί τη μη μεταβολή των βασικών αρτηριδίων κατά τη διάρκεια του κύκλου, σε αντίθεση με τα εσπειραμένα που μετέχουν ενεργητικά στις λειτουργικές μεταβολές (Sakumoto T et al, 1992; Masamoto H. et al, 2000).

1.4 Το φυσιολογικό ενδομήτριο

Ως ενδομήτριο ορίζεται ο βλεννογόνος που επενδύει την ενδομήτριο κοιλότητα και αποτελείται από το καλυπτικό επιθήλιο, τους αδένες, το στρώμα και τα αιμοφόρα αγγεία. Το επιθήλιο που καλύπτει την ενδομήτριο κοιλότητα είναι μονόστιβο με υψηλά κυλινδρικά κύτταρα. Οι αδένες του ενδομητρίου είναι απλοί σωληνώδεις, κάποιοι διακλαδίζονται, ενώ το επιθήλιο τους είναι μονόστιβο κυλινδρικό κροσσωτό και σε μερικές θέσεις χωρίς κροσσούς, εκκρίνουν βλέννη και γλυκογόνο. Το στρώμα αποτελεί μια ιδιαίτερη μορφή συνδετικού ιστού ευαίσθητο στην επίδραση των ωοθηκικών ορμονών με σημαντική αναγεννητική ικανότητα.

Το ενδομήτριο αποτελείται από τη βασική στιβάδα που επικάθεται στο μυομήτριο και τη λειτουργική στιβάδα που είναι και η παχύτερη, επικάθεται στη βασική και καλύπτει όλη την ενδομήτριο κοιλότητα. Η λειτουργική στιβάδα στο δεύτερο ήμισυ του κύκλου διαφοροποιείται σε μια επιπολής συμπαγή και σε μια υποκείμενη σπογγώδη. Επιπλέον, υφίσταται σημαντικές μεταβολές σε κάθε κύκλο και αποπίπτει με την εμμηνορρυσία, ενώ η βασική δεν αποπίπτει κατά την εμμηνορρυσία και από αυτή αναγεννάται η λειτουργική (Waugh A et al, 2010).

1.5 Καρκίνος του ενδομητρίου

Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι ιάσιμος. Για να ανιχνευτεί είναι απαραίτητη η βιοψία ενδομητρικού ιστού. Εμφανίζεται κατά κανόνα με ανώμαλη αιμορραγία (90% των περιπτώσεων). Οποιαδήποτε κολπική αιμορραγία σε μια μετεμμηνοπαυσιακή γυναίκα επιβάλλει τον έλεγχο για καρκίνο του ενδομητρίου.

Ο καρκίνος του ενδομητρίου μπορεί σπάνια να ανιχνευθεί μέσω ενός παθολογικού τεστ Παπανικολάου. Η παρουσία καλόηθων ενδομητρικών κυττάρων στο τεστ Παπανικολάου σχετίζεται με καρκίνο του ενδομητρίου σε ποσοστό 6% των ασθενών

(Wright Jr TC et al, 2002). Η εξέταση εκλογής για τη διάγνωση του καρκίνου του ενδομητρίου είναι η διαγνωστική απόξεση.

1.5.1 Ιστολογική ταξινόμηση του καρκίνου του ενδομητρίου

Με βάση τους πιθανούς παθογενετικούς μηχανισμούς καρκινογένεσης, διακρίνονται δύο τύποι καρκίνου του ενδομητρίου: ο τύπος I (70-80%) ακολουθεί το μονοπάτι της καρκινογένεσης που σχετίζεται με την επίδραση των οιστρογόνων και συνοδεύεται από πεπαχυσμένο ενδομήτριο και ο τύπος II (10-20%), που ακολουθεί το μονοπάτι της καρκινογένεσης που δε συσχετίζεται με οιστρογόνα, παρατηρείται γυναίκες σε μεγαλύτερης ηλικίας και αναπτύσσεται σε ατροφικό ενδομήτριο (Sherman ME et al, 1995; Bokhman JV, 1983). Ο τύπος II έχει χειρότερη πρόγνωση, περισσότερες πιθανότητες να διηθεί το μυομήτριο κατά τη διάγνωση και υψηλότερο μεταστατικό δυναμικό.

Ο τύπος I του καρκίνου του ενδομητρίου αποτελείται τα οιστρογονοεξαρτώμενα ενδομητριοειδή αδενοκαρκινώματα, τα οποία αντιπροσωπεύουν το 80% των καρκίνων του ενδομητρίου, ενώ τα τύπου II οιστρογονοανεξάρτητα, μη ενδομητριοειδή καρκινώματα, με κύριους εκπροσώπους τα οροθηλώδη και τα διαυγοκυτταρικά καρκινώματα, αποτελούν μόλις το 10-15% των συνολικών καρκινωμάτων του ενδομητρίου (Lax SF, 2004; Bokhman JV, 1983).

Η ταξινόμηση αυτή αναπτύχθηκε περαιτέρω μέσα από ευρήματα μοριακών μελετών (Hecht JL and Mutter GL, 2006). Αξίζει να σημειωθεί πως υπάρχουν και μικτοί τύποι καρκινωμάτων με επικάλυψη κλινικών, ιστολογικών, ανοσοϊστοχημικών και μοριακών χαρακτηριστικών [**Πίνακας 3**] (Bansal N et al, 2009).

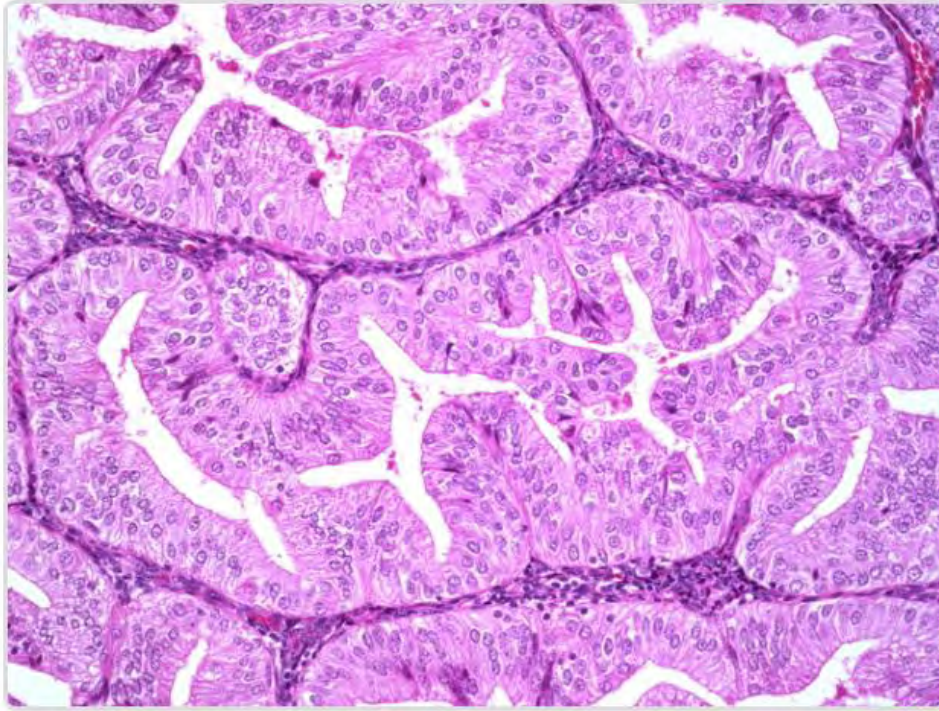
Κλινικά-ιστολογικά χαρακτηριστικά	Τύπος I	Τύπος II
Συχνότητα	80%	20%
Ηλικία	Προ-/περι-εμμηνοπαυσιακή	>60 ετών
Ιστολογία	Ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα	Ορώδες, θηλώδες, διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα
Προϋπάρχουσα	Υπερπλαστικό	Ατροφικό ενδομήτριο

αλλοίωση	ενδομήτριο	
Οιστρογονική επίδραση	(+)	(-)
Βαθμός διαφοροποίησης	Υψηλός	Χαμηλός
Κλινική πορεία	Ήπια	Επιθετική νόσος

Πίνακας 3. Κλινοπαθολογικά χαρακτηριστικά των τύπων I και II του καρκίνου του ενδομητρίου.

Ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα του ενδομητρίου (Τύπος I)

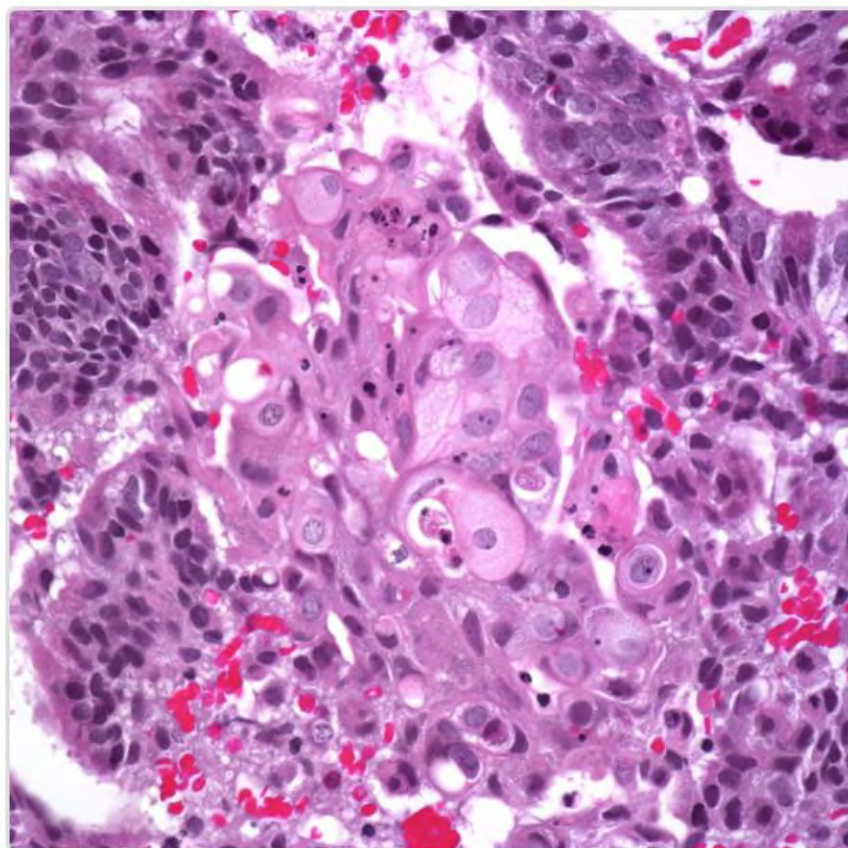
Αυτός ο τύπος καρκινώματος εμφανίζει συχνότερα υψηλή διαφοροποίηση (Azqueta A et al, 2010; Clement PB and Young RH., 2002). Το ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα του ενδομητρίου προέρχεται από τους αδένες του ενδομητρίου, των οποίων η δομή διαταράσσεται ανάλογα με το βαθμό της διαφοροποίησης (grade) του όγκου. Η διαταραχή αυτή αλλάζει τη διάταξη των αδένων, σε σχέση με το φυσιολογικό ενδομήτριο, οι οποίοι αυξάνουν σε αριθμό και βαθμό ατυπίας. Το ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα αναπτύσσεται συνήθως σε μία προϋπάρχουσα αδενωματώδη υπερπλασία με ατυπία αλλά επίσης και σε φυσιολογικό ενδομήτριο. Διακρίνεται σε υποκατηγορίες βάσει των ιστολογικών χαρακτηριστικών του (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Ενδομητριοειδούς τύπου αδενοκαρκίνωμα του ενδομητρίου σταδίου 1 κατά FIGO.
Πηγή: WebPathology.

Αδενοπλακώδες καρκίνωμα

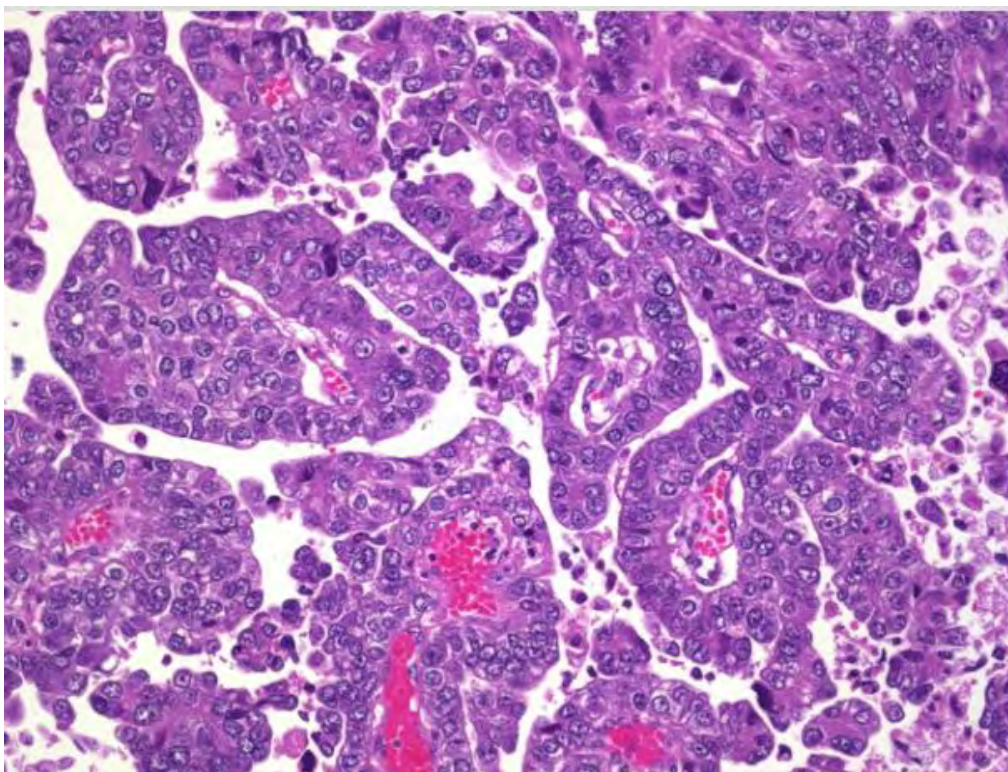
Το καρκίνωμα αυτό περιέχει κακοήθη στοιχεία αδενικών κυττάρων και πλακώδους επιθηλίου. Είναι μορφή του ενδομητριοειδούς καρκινώματος, που παρουσιάζει σε μεγάλη έκταση μεταπλασία σε ώριμο μη νεοπλασματικό πλακώδες επιθήλιο (αδενοακάνθωμα). Υπάρχει υψηλή συσχέτιση του βαθμού διαφοροποίησης μεταξύ αδενικών και πλακωδών στοιχείων και επιπλέον η πρόγνωση εξαρτάται από το βαθμό διαφοροποίησης του αδενικού στοιχείου, Χαρακτηρίζεται από αιματική και δια-σαλπγγική διασπορά του όγκου στο ήμισυ των περιπτώσεων και κατά συνέπεια από απομακρυσμένες μεταστάσεις με κακή πρόγνωση. Ο όγκος αυτός παρουσιάζει αντοχή στην ακτινοθεραπεία (Εικόνα 2) (Zaino RJ et al, 1991).



Εικόνα 2. Ενδομητριοειδούς τύπου αδενοκαρκίνωμα του ενδομητρίου με πλακώδη διαφοροποίηση, σταδίου 1 κατά FIGO. Πηγή: WebPathology.

Θηλώδες-ορώδες καρκίνωμα του ενδομητρίου (Τύπος II)

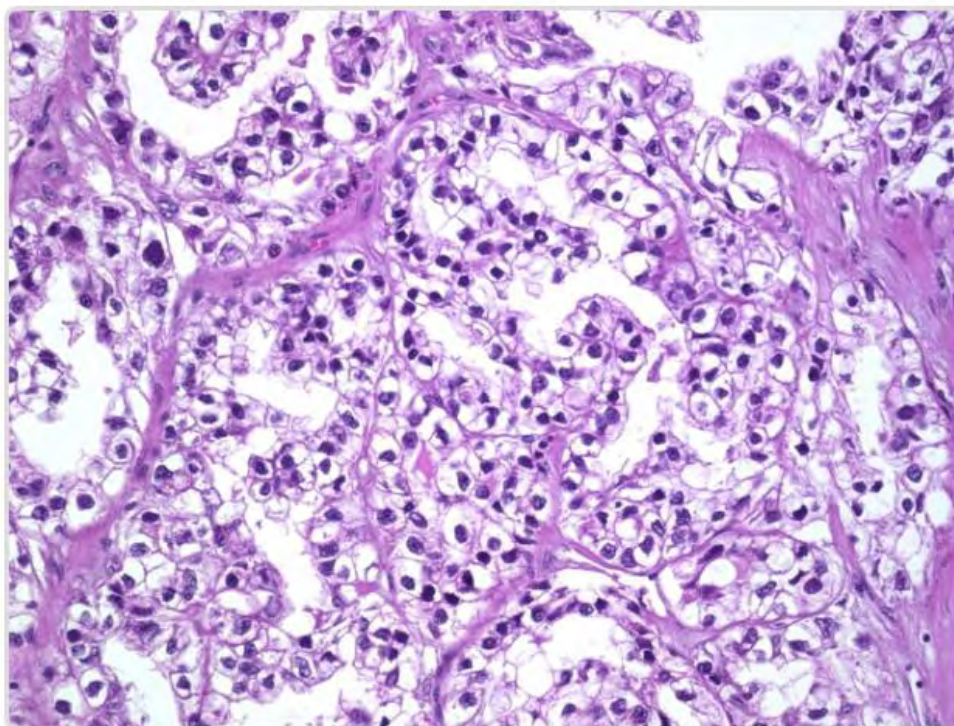
Χαρακτηρίζεται από την παρουσία συμπαγών κυτταρικών θηλωματωδών δομών χωρίς άξονες αγγειοσυνδετικού ιστού. Αποτελεί έναν επιθετικό υπότυπο του καρκίνου του ενδομητρίου, που αντιπροσωπεύει το 10% των νέων περιπτώσεων καρκίνου της μήτρας, ενώ ταυτόχρονα ευθύνεται για το 40% των θανάτων από τη νόσο (Moore KN and Fader AN., 2011). Εμφανίζει μέτρια έως χαμηλή διαφοροποίηση με τάση διήθησης του μυομητρίου μέσω λεμφικών και αιμοφόρων αγγείων με εκτεταμένα νεοπλασματικά έμβολα (Mendivil A et al, 2009). Κατά την διάγνωση παρουσιάζεται, στις περισσότερες περιπτώσεις ως προχωρημένη νόσος με εξωπυελικές μεταστατικές εστίες, οι οποίες αναγνωρίζονται μετά από πλήρη χειρουργική σταδιοποίηση της νόσου, ενώ η πρόγνωση είναι εξαιρετικά κακή (Εικόνα 3) (Del Carmen MG et al, 2012; Growdon WB et al, 2012; Fader AN et al, 2010).



Εικόνα 3. Θηλώδες-ορώδες καρκίνωμα του ενδομητρίου. Πηγή: WebPathology.

Διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα (Clear cell carcinoma)

Προέρχεται από τους πόρους του Muller. Χαρακτηρίζεται από διαυγή κύτταρα με ευδιάκριτα στρογγυλά, υαλοειδή και ηωσινόφιλα σωματίδια μέσα στο κυτταρόπλασμα. Διακρίνονται διάφορα πρότυπα ανάπτυξης, όπως το θηλωματώδες, το αδενικό, το συμπαγές κ.α. Οι όγκοι αυτοί έχουν εξαιρετικά κακή πρόγνωση (Mendivil A et al, 2009; Gadducci A et al, 2010). Το εκ των διαυγών κυττάρων και το ορώδες θηλώδες καρκίνωμα του ενδομητρίου είναι όγκοι ιστολογικά παρόμοιοι με τους αντίστοιχους όγκους στην ωοθήκη και τη σάλπιγγα, και η πρόγνωση είναι χειρότερη σε σχέση με τα ενδομητριοειδή αδenoκαρκινώματα του ενδομητρίου (Gusberg SB, 1993). Τα καρκινώματα αυτά ενώ έχουν χαμηλή συχνότητα αντιπροσωπεύουν σχεδόν το ήμισυ του συνόλου των υποτροπών της νόσου (Εικόνα 4) (Del Carmen MG et al, 2011).



Εικόνα 4. Διανογκυτταρικό καρκίνωμα του ενδομητρίου. Πηγή: WebPathology.

Βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα

Πρόκειται για αδενοκαρκίνωμα με βλεννώδη διαφοροποίηση που διαγιγνώσκεται σπάνια (1%), σε ηλικιωμένους κυρίως ασθενείς και συνδέεται με αυξημένη πιθανότητα διήθησης του μυομητρίου. Η σταδιοποίηση της νόσου και ο κίνδυνος υποτροπής ωστόσο δεν επηρεάζεται.

Πλακώδες καρκίνωμα

Αρκετά πιο σπάνιο τύπο καρκίνου του ενδομητρίου αποτελεί το πλακώδες καρκίνωμα. Υπάρχουν ελάχιστες βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με την εμφάνισή του. Για να διαγνωστεί πρωτογενές πλακώδες καρκίνωμα του ενδομητρίου, δεν πρέπει να υπάρχει άλλος πρωτοπαθής καρκίνος στο ενδομήτριο ή στον τράχηλο της μήτρας και δεν πρέπει να συνδέεται με το τραχηλικό επιθήλιο.

Μικτό ή αδιαφοροποίητο καρκίνωμα

Μικτά καρκινώματα είναι εκείνα που περιλαμβάνουν τύπου I και τύπου II καρκινικά κύτταρα, σε ποσοστό τουλάχιστον 10% του όγκου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το Müllerian καρκίνωμα, που προέρχεται από το επιθήλιο του ενδομητρίου και έχει φτωχή πρόγνωση.

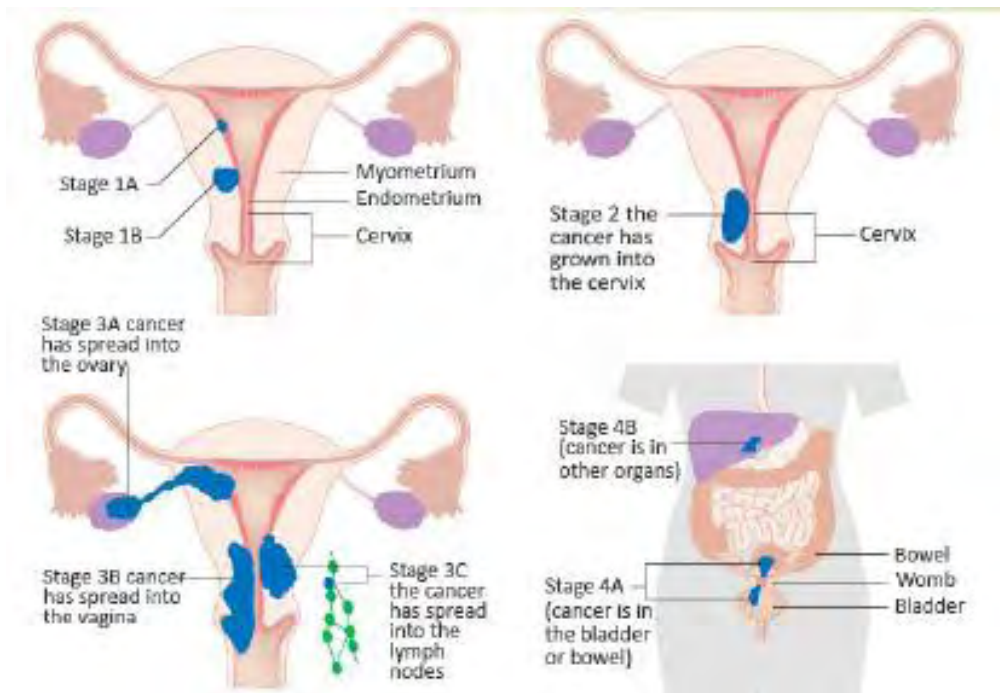
Μη διαφοροποιημένα καρκινώματα του ενδομητρίου συνιστούν λιγότερο από το 1-2% των διαγνωσμένων καρκίνων του ενδομητρίου και έχουν γενικώς κακή πρόγνωση.

1.5.2 Ταξινόμηση κατά FIGO

Η ιστολογική ταξινόμηση κατά FIGO καθορίζει το βαθμό κακοήθειας του όγκου (Grade 1-3). Τα καρκινώματα αδενικού επιθηλίου με την καλύτερη πρόγνωση είναι τα G1 που εμφανίζουν καλή διαφοροποίηση. Ο όγκος παρουσιάζει <5% συμπαγείς περιοχές, παρόμοια με την άτυπη αδενωματώδη υπερπλασία.

Τα καρκινώματα με βαθμό κακοήθειας G2 εμφανίζουν μέτρια διαφοροποίηση και παρουσιάζουν 6-50% συμπαγείς περιοχές ενώ υπάρχει διήθηση στο μυϊκό τοίχωμα.

Τέλος, οι όγκοι με βαθμό κακοήθειας G3 έχουν χαμηλή διαφοροποίηση (πλήρως αδιαφοροποίητο καρκίνωμα) και παρουσιάζουν >50% συμπαγείς περιοχές. Αποτελεί την πιο επιθετική μορφή αδενοκαρκινώματος του ενδομητρίου (Εικόνα 5, Πίνακας 4).



Εικόνα 5. Σχηματική ταξινόμηση κατά FIGO (2010).

Στάδιο	Χειρουργικά- Ιστολογικά ευρήματα
I	Ο όγκος περιορίζεται στο σώμα της μήτρας
IA	Ο όγκος έχει διηθήσει κάτω από το μισό του μυομητρίου
IB	Ο όγκος έχει διηθήσει πάνω από το μισό του μυομητρίου
II	Ο όγκος έχει διηθήσει τον τράχηλο της μήτρας (επιθήλιο ενδοτραχήλου και στρώμα του τραχήλου) αλλά δεν εντοπίζεται εκτός μήτρας.
III	Ο όγκος έχει επεκταθεί έξω από τα όρια της μήτρας αλλά περιορίζεται στη μικρή πύελο (τοπικές/ περιοχικές διηθήσεις του όγκου)
III A	Διήθηση του ορογόνου της μήτρας ή/και των εξαρτημάτων
III B	Διήθηση κόλπου/ παραμητρίων
III C1	Μετάσταση στους πυελικούς λεμφαδένες
	Μετάσταση στους πάρα-αορτικούς λεμφαδένες με ή χωρίς πυελικούς

III C2	λεμφαδένες
IV	Διήθηση της ουροδόχου κύστεως ή του ορθού ή και οργάνων που βρίσκονται και έξω από τα όρια της πυέλου
IVA	Διήθηση του βλεννογόνου της ουροδόχου κύστεως ή του ορθού
IVB	Απομακρυσμένες μεταστάσεις, συμπεριλαμβανομένης της άνω κοιλίας και του θώρακα και έξω-περιτοναϊκές διηθήσεις λεμφαδένων.

Πίνακας 4. Σταδιοποίηση κατά FIGO. Πηγή: 2009 International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) staging criteria for uterine carcinoma.

1.6 Μοριακή ταξινόμηση και γονίδια που εμπλέκονται στην καρκινογένεση του ενδομητρίου.

Η μοριακή ταξινόμηση του καρκίνου του ενδομητρίου τα τελευταία χρόνια απέφερε αισιόδοξα αποτελέσματα, αποδεικνύοντας υψηλή συσχέτιση με την μετέπειτα κλινική πορεία του ασθενή. Έτσι, το μοντέλο παθογένειας βάσει κλινικών παρατηρήσεων και κλινικοπαθολογοανατομικών κριτηρίων έχει στηριχθεί ισχυρά και από μοριακές μελέτες (Bokhman JV, 1983). Το ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα του ενδομητρίου και το ορώδες θηλώδες καρκίνωμα τα οποία αντιπροσωπεύουν τους κύριους φαινοτύπους των τύπων I και II αντίστοιχα, χαρακτηρίζονται από γενετικές μεταβολές και διαφορετικά μοριακά χαρακτηριστικά, τα οποία περιλαμβάνουν διαφορετικούς παθογενετικούς μηχανισμούς.

Τα τύπου II ενδομητριοειδή καρκινώματα χαρακτηρίζονται από ανευπλοειδία, μεταλλάξεις στο TP53 γονίδιο, υψηλού βαθμού κακοηθείας, αρνητικοί για ορμονικούς υποδοχείς και σχετίζονται με κακή πρόγνωση και υψηλότερο μεταστατικό δυναμικό.

Στα τύπου I ενδομητριοειδή καρκινώματα το σηματοδοτικό μονοπάτι PIK3CA είναι το συχνότερα παραλλαγμένο με μεταλλάξεις στην πλειοψηφία των περιπτώσεων (90%). Οι όγκοι αυτού του τύπου παρουσιάζουν KRAS μεταλλάξεις σε ποσοστό περίπου της τάξης του 20% και περίπου 12% αυτών φέρουν μεταλλάξεις στο FGFR2 γονίδιο (Kandoth C et al, 2013; Byron SA and Pollock PM. 2009). Το

διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα του ενδομητρίου, που μοιάζει με το αντίστοιχο των ωοθηκών, παρουσιάζει αδρανοποιητικές μεταλλάξεις στο γονίδιο ARID1A που σχετίζεται με την αναδιαμόρφωση της χρωματίνης σε ποσοστά 20-40% των περιπτώσεων και εκφράζει καθολικά τον ηπατοκυτταρικό πυρηνικό παράγοντα-1β (Zhang ZM. et al, 2014; Fadare O et al, 2013; Hoang LN et al, 2014).

Ο TCGA (The Cancer Genome Atlas) αναγνωρίζει τέσσερις υποκατηγορίες του καρκίνου του ενδομητρίου: 1) Μεταλλάξεις στην πολυμεράση ε (POLE) και υψηλό φορτίο μεταλλάξεων, που έχει συσχετιστεί με καλή πρόγνωση ακόμη και σε όγκους υψηλής κακοήθειας 2) μικροδορυφορική αστάθεια 3) μικρός αριθμός αντιγράφων 4) υψηλός αριθμός αντιγράφων (Kandoth C et al, 2013). Οι πρώτες τρεις υποκατηγορίες αφορούν κυρίως χαμηλής κακοήθειας ενδομητριοειδή καρκινώματα τύπου I. Αντιθέτως, το 94% των ορωδών καρκινωμάτων, το 24% υψηλής κακοήθειας ενδομητριοειδών καρκινωμάτων και το 62% των καρκινωμάτων μικτού ιστολογικού τύπου ανήκουν στην τέταρτη υποκατηγορία. Οι πιο συχνές γενετικές μεταλλάξεις στις τρεις πρώτες υποκατηγορίες περιλαμβάνουν μεταλλάξεις στα γονίδια PTEN (phosphatase and tensin homolog), FGFR2 (fibroblast growth factor receptor), ARID1A (AT-rich interactive domain 1A), CTNNB1 (β-catenin), PIK3CA και KRAS (Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog). Αντιθέτως, οι όγκοι της τέταρτης υποκατηγορίας σπάνια εμφανίζουν τις παραπάνω μεταλλάξεις, αλλά σχετίζονται άμεσα με μεταλλάξεις στο TP53 γονίδιο στο 90% των περιπτώσεων, υψηλό αριθμό επαναλήψεων και εμφάνιση ορωδών καρκινωμάτων (**Πίνακας 5**).

Όπως αναφέρθηκε, τα ενδομητριοειδή καρκινώματα χαρακτηρίζονται από πολλαπλές γενετικές μεταλλάξεις. Οι συχνότερες μεταλλάξεις αφορούν στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο PTEN (Mutter GL et al, 2000; Mutter GI, 2001). Το γονίδιο PTEN εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 10q23 και φέρει μεταλλάξεις στο 85% των ενδομητριοειδών καρκινωμάτων και στο 55% των προκαρκινικών αλλοιώσεων (Mutter GL et al, 2000).

Μεταλλάξεις στο γονίδιο της PI3K πρωτεΐνης παρατηρούνται σε ποσοστό περίπου 25-36% των ενδομητριοειδών καρκινωμάτων συγκριτικά με τα μη-ενδομητριοειδή καρκινώματα του ενδομητρίου (15%), ενώ είναι συχνότερες σε όγκους που φέρουν επίσης μεταλλάξεις στο PTEN γονίδιο.

Μεταλλάξεις στο γονίδιο του υποδοχέα 2 του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών (Fibroblast Growth Factor Receptor 2, FGFR2) προκαλούν την ενεργοποίηση των υποδοχέων και ακολούθως του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Το

γονίδιο FGFR2 έχει μιτογόνο δράση σε διάφορους τύπους κυττάρων και συνδέεται με τη ρύθμιση της αγγειογένεσης και του μεταστατικού δυναμικού. Η απορρύθμιση του FGFR2 φαίνεται να περιλαμβάνεται στα κύρια χαρακτηριστικά της καρκινογένεσης του ενδομητρίου (Soufla G et al, 2008). Πρόσφατα δεδομένα, έχουν δείξει μεταλλάξεις του και ενεργοποίηση των υποδοχέων στο 16% των ενδομητριοειδών καρκινωμάτων του ενδομητρίου (Byron SA et al, 2008). Μελέτες έχουν δείξει ότι οι μεταλλάξεις του FGFR2 γονιδίου σχετίζονται ταυτόχρονα με μεταλλάξεις του ογκοκατασταλτικού PTEN γονιδίου.

Ένα άλλο γονίδιο που σχετίζεται με τον καρκίνο του ενδομητρίου είναι το KRAS ογκογονίδιο. Μεταλλάξεις στο KRAS ογκογονίδιο έχουν παρατηρηθεί σε ποσοστό 10-30% των περιπτώσεων καρκίνου του ενδομητρίου τύπου I. Το γονίδιο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη της κυτταρικής μεμβράνης με λειτουργία GTPάσης και κατέχει ζωτικό ρόλο στην κυτταρική διαφοροποίηση και την ανάπτυξη (Lax S et al, 2000). Η παρουσία των μεταλλάξεων του KRAS γονιδίου στον καρκίνο του ενδομητρίου φαίνεται να έχει προγνωστικό ρόλο καθώς ευθύνεται για τα αυξημένα ποσοστά υποτροπών της νόσου και την δυσμενή επιβίωση των ασθενών (Ito K et al, 1996).

Σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη καρκίνου του ενδομητρίου παίζει επίσης η β-κατενίνη. Η β-κατενίνη συνδέεται με τα ινίδια της ακτίνης, ενώ παράλληλα περιορίζει την ενεργοποίηση της αντιγραφής, που ελέγχεται από το ογκοκατασταλτικό γονίδιο APC (Doll A et al, 2007). Παρουσιάζει ισχυρή συσχέτιση με αλλοιώσεις στο ενδομήτριο της μήτρας (31-47%). Το γονίδιο της β-κατενίνης μεταλλάσσεται συχνά σε καρκινώματα με πλακώδη διαφοροποίηση. Μεταβολές στα επίπεδα έκφρασης της β-κατενίνης έχουν αναδειχθεί επίσης σε άτυπη υπερπλασία του ενδομητρίου, αντιπροσωπεύουν επομένως ένα πρώιμο γεγονός στην καρκινογένεση του ενδομητρίου (Moreno-Bueno G et al, 2002).

Η μικροδορυφορική αστάθεια έχει παρατηρηθεί σε ποσοστό περίπου 20% των ενδομητριοειδών καρκινωμάτων του ενδομητρίου (Doll A et al, 2007). Πρόκειται για ανεπάρκεια των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA σε περίπτωση λαθών κατά την αντιγραφή του με αποτέλεσμα τη συσσώρευση μεταλλάξεων. Η αδρανοποίηση του γονιδίου επιδιόρθωσης MLH1 είναι ο πιο κοινός μηχανισμός στο καρκίνο του ενδομητρίου και επιτυγχάνεται με υπερμεθυλίωση των CpG νησίδων στον υποκινητή του γονιδίου στα σποραδικού τύπου ενδομητριοειδή καρκινώματα, ενώ συνοδεύεται από απώλεια έκφρασης των άλλων δύο γονιδίων επιδιόρθωσης MSH2 και MSH6 (Salvesen HB et al, 2000).

Όσον αφορά στα τύπου II καρκινώματα, το συχνότερα μεταλλαγμένο γονίδιο είναι το ογκοκατασταλτικό p53 γονίδιο (80-90% των περιπτώσεων) (Lax S et al, 2000). Εδράζεται στο χρωμόσωμα 17 και εμπλέκεται στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, στην απόπτωση, στη γήρανση, στην ανάπτυξη, στη διαφοροποίηση, στη μεταγραφή, στην αντιγραφή και επιδιόρθωση του DNA, καθώς και στη διατήρηση της γονιδιοματικής σταθερότητας (Doll A et al, 2007). Μεταλλάξεις του TP53 ανιχνεύονται στο 90% των ορωδών καρκινωμάτων και στο 80% των προκαρκινικών αλλοιώσεων του ενδοθηλίου του ενδομητρίου. Οι μεταλλάξεις του TP53 συνυπάρχουν σχεδόν πάντα με ανευπλοειδία, ενώ αντίθετα δεν έχει παρατηρηθεί να συνδέεται με μεταλλάξεις του PTEN στον ίδιο όγκο (Koul R et al, 2002). Συσχετίζεται με δυσμενείς κλινικούς και ιστολογικούς παράγοντες του όγκου όπως, το προχωρημένο στάδιο της νόσου (IIB-IV), προχωρημένη ηλικία της ασθενούς (> 60 έτη) και πρώιμες λεμφαδενικές μεταστάσεις (Kalogiannidis I et al, 2008).

Άλλες συχνές γενετικές αλλαγές που παρατηρούνται στα τύπου II καρκινώματα είναι η αδρανοποίηση του p16, η υπερέκφραση του HER-2/neu και τα μειωμένα επίπεδα έκφρασης της E-καντχερίνης (Doll A et al, 2007). Το γονίδιο p16 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 9p21 και η αδρανοποίησή του οδηγεί σε ανεξέλεγκτη κυτταρική αύξηση. Έχει ανιχνευθεί σε ποσοστό 45% των ορωδών και των διαυγοκυτταρικών καρκινωμάτων. Η απώλεια της έκφρασης του γονιδίου p16 σχετίζεται με μεταλλάξεις των γονιδίων KRAS και TP53 και συνδέεται με προχωρημένο στάδιο νόσου, χαμηλής διαφοροποίησης όγκους και κακή επιβίωση των ασθενών (Salvesen HB et al, 2005).

Το HER-2/neu αποτελεί ογκογονίδιο που κωδικοποιεί ένα διαμεμβρανικό υποδοχέα με ενεργότητα κινάσης τυροσίνης. Υπερέκφραση του HER-2/neu έχει παρατηρηθεί σε ποσοστά 45%-70% των ορωδών καρκινωμάτων (Chon H.S. et al, 2006). Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι οι μεταλλάξεις του TP53 και η υπερέκφραση του HER2/neu συμβαίνουν νωρίς κατά τη διάρκεια εξέλιξης και διαφοροποίησης του ενδομητριοειδούς καρκινώματος του ενδομητρίου (Lax S et al, 2000).

Όσον αφορά την E-καντχερίνη, έχει παρατηρηθεί ελαττωμένη έκφρασή της στο 62% των ορωδών και στο 87% των διαυγοκυτταρικών καρκινωμάτων. Έχει σχετιστεί με καρκίνους υψηλής κακοήθειας και φτωχή πρόγνωση. Αντίθετα, ο συνδυασμός E-καντχερίνης, άλφα- και β-κατενίνης αποτελεί ανεξάρτητο, θετικό προγνωστικό παράγοντα για την επιβίωση των ασθενών με υψηλής ή μέτριας διαφοροποίησης καρκινώματα.

Genetic Alteration	Type 1 Carcinoma (%)	Type 2 Carcinoma (%)
PTEN inactivation	50–80%	10%
K-ras mutation	15-30%	0-5%
β-catenin mutation	20-40%	0-3%
Microsatellite instability	20-40%	0-5%
p53 mutation	10-20%	80-90%
HER-2/neu	10-30%	40-80%
p16 inactivation	10%	40%
E-cadherin	10-20%	60-90%

Πίνακας 5. Γενετικές αλλαγές στο καρκίνο του ενδομητρίου.

1.7 Ενδοκυττάρια μονοπάτια σηματοδότησης και καρκινογένεση στο ενδομήτριο

Η κατανόηση των σηματοδοτικών μονοπατιών και η δυνατότητα αναγνώρισης των παραγόντων κινδύνου που εμπλέκονται στην καρκινογένεση του ενδομητρίου, θα μας επιτρέψουν να εντοπίσουμε τις ασθενείς που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη του καρκίνου του ενδομητρίου. Τα κύρια σηματοδοτικά μονοπάτια είναι των PI3K/Akt/mTOR και MAPK κινασών.

Η ενεργοποίηση του ενδοκυττάριου μονοπατιού της PI3K/Akt/mTOR συμβαίνει συχνά σε καρκινώματα του ενδομητρίου, κυρίως τύπου I. Υπάρχουν στοιχεία σύμφωνα με τα οποία η απορρύθμιση του PI3K/Akt/mTOR μονοπατιού από ενεργοποιητικές μεταλλάξεις, η απώλεια της λειτουργίας του PTEN γονιδίου, ή/και η υπερέκφραση των υποδοχέων τύπου κινάσης της τυροσίνης, οδηγούν σε ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αποφυγή της απόπτωσης, σε συνδυασμό με την αναστολή των ογκοκατασταλτικών και την ενεργοποίηση/ενίσχυση των ογκογονιδίων.

Το ενδοκυττάριο σηματοδοτικό μονοπάτι των MAP (mitogen-activated protein kinase) κινασών διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της φυσιολογικής κυτταρικής διαφοροποίησης, επηρεάζοντας διαδικασίες όπως η ανάπτυξη, ο πολλαπλασιασμός, η κυτταρική διαφοροποίηση, η μετανάστευση και η απόπτωση. Τα

επίπεδα έκφρασης της φωσφοριωμένης MAPK (p-MAPK) πρωτεΐνης αυξάνεται σε ιστούς όπως το φυσιολογικό ενδομήτριο παραγωγικής φάσης και το καρκίνωμα του ενδομητρίου. Στο καρκίνωμα του ενδομητρίου, το μονοπάτι σηματοδότησης των MAP κινασών φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Ωστόσο, ο ρόλος των συγκεκριμένων σηματοδοτικών μονοπατιών δεν έχει μελετηθεί εκτενώς.

Κεφάλαιο 2

Διάγνωση, πρόγνωση και θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου του ενδομητρίου

2.1 Διάγνωση-κλινική συμπτωματολογία

Ο καρκίνος του ενδομητρίου διαγιγνώσκεται συνήθως σε αρχικό στάδιο λόγω των πρώιμων συμπτωμάτων του. Παρουσιάζει επομένως υψηλά ποσοστά 5-ετούς επιβίωσης (στο 68% περίπου των ασθενών είναι πάνω από 96%). Περίπου 75%-90% των γυναικών με καρκίνο του ενδομητρίου, παρουσιάζουν μη φυσιολογική αιμορραγία από την μήτρα, γεγονός που αποτελεί το συχνότερο σύμπτωμα στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Kimura T et al, 2004). Παρ' αυτά μόνο το 10% των εμμηνοπαυσιακών γυναικών με κολπική αιμόρροια θα εμφανίσουν καρκίνο του ενδομητρίου (**Πίνακας 6**). Στις περιεμμηνοπαυσιακές και αναπαραγωγικής ηλικίας γυναίκες μπορεί να παρουσιαστεί με μεσοκυκλική αιμορραγία, αστάθεια στον εμμηνορυσιακό κύκλο ή μηνομητρορραγίες (Hoffman BL et al, 2012).

Λιγότερα συχνά κλινικά συμπτώματα αποτελούν το άλγος υπογαστρίου, δυσπαρέυνια και δύσσομες κολπικές εκκρίσεις (Galaal K et al, 2014). Σε εκτεταμένη-μεταστατική νόσο μπορεί να υπάρχουν συμπτώματα όπως ο τυμπανισμός, οι ψηλαφητές μάζες στη κοιλιακή χώρα, η απώλεια βάρους και η καχεξία (Hoffman BL et al, 2012).

Λόγω της αξιοσημείωτης αύξησης της συχνότητας της νόσου στις γυναίκες μετά τα 35 έτη, το Αμερικανικό Κολέγιο Μαιευτήρων και Γυναικολόγων (ACOG) συνιστά διαγνωστικές εξετάσεις με στόχο τον αποκλεισμό του καρκίνου σε οποιαδήποτε γυναίκα, ηλικίας άνω των 35 ετών, με πιθανή αιμορραγία της μήτρας λόγω ανωοθυλακιορρηξίας (ACOG, 2001).

Αίτια	Ποσοστό Εμφάνισης (%)
Ατροφία ενδομητρίου	32.7
Υπερπλασία ενδομητρίου	10.4
Καρκίνος του ενδομητρίου	10.4
Πολύποδες ενδομητρίου	9.2

Πίνακας 6. Ενδομητρικά αίτια εμμηνοπαυσιακής κολπικής αιμόρροιας.

Διαγνωστικές μέθοδοι

Η λήψη βιοψίας από την ενδομητρική κοιλότητα αποτελεί το gold standard στη διάγνωση του καρκίνου του ενδομητρίου (Godoy CE Jr et al, 2013; Trichot C et al, 2014). Σε όλες τις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ανώμαλη κολπική αιμόρροια θα πρέπει να λαμβάνεται βιοψία ενδομητρίου είτε στο ιατρείο με τη χρήση ripelle είτε με διαστολή και διαγνωστική απόξεση. Στη πλειονότητα των περιπτώσεων η διάγνωση θα τεθεί με τη διενέργεια διαστολής και απόξεσης της μήτρας (Dijkhuizen FP et al, 2000)

Η διαγνωστική υστεροσκόπηση επιτρέπει μια πλήρη επισκόπηση της κοιλότητας της μήτρας με πιθανή ανίχνευση των μικρών, εστιακών αλλοιώσεων του ενδομητρίου και εν δυνάμει λήψη βιοψίας (Tripodì A et al, 2011). Πρόκειται για εξέταση με υψηλή ευαισθησία (95.7%) και ειδικότητα (83.0%) στην ανεύρεση αλλοιώσεων του ενδομητρίου (Liberis V et al, 2010; Gumus II et al, 2008). Η διενέργεια υστεροσκόπησης αποτελεί αντικείμενο συζήτησης λόγω της θεωρητικής διασποράς καρκινικών κυττάρων στη περιτοναϊκή κοιλότητα μέσω των σαλίγγων (Polyzos NP et al, 2010).

Η μέτρηση του πάχους του ενδομητρίου με διακολπικό υπερηχογράφημα έχει προταθεί ως πιθανή ασφαλή μέθοδο ανίχνευσης για τον καρκίνο του ενδομητρίου. Σε μια εμμηνοπαυσιακή γυναίκα, ένα πάχος ενδομητρίου πάνω από 4mm στον υπέρηχο έχει 85% θετική προγνωστική αξία, 100% ευαισθησία και 96% ειδικότητα για τη διάγνωση καλοήθους ή κακοήθους ενδομητρικής ανωμαλίας (Practice bulletin no. 136, 2013). Οι τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες σε γυναίκες με εμμηνοπαυσιακή αιμορραγία και πάχος ενδομητρίου \leq 4mm δεν συνιστούν καμιά περαιτέρω διαγνωστική διαδικασία. Σε αντίθεση με τα παραπάνω, σε πρόσφατη μελέτη ποσοστό

της τάξης του 36% των εμμηνοπαυσιακών γυναικών με καρκίνο του ενδομητρίου είχε πάχος ενδομητρίου $\leq 4\text{mm}$, συμπεριλαμβανομένου 37% των ασθενών με τύπου I και 34% των ασθενών με τύπου II καρκίνο του ενδομητρίου. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ένα μεγάλο ποσοστό των γυναικών με καρκίνο του ενδομητρίου έχει μικρό πάχος ενδομητρίου (≤ 4 χιλιοστών) κατά την αρχική εκτίμηση, επομένως, το μικρού πάχους ενδομήτριο δεν αποκλείει εντελώς τον καρκίνο του ενδομητρίου (Godoy et al, 2013).

Το υπερηχογράφημα μήτρας με έγχυση φυσιολογικού ορού είναι μία εύκολη, συμπληρωματική διαγνωστική μέθοδος του διακολπικού υπερηχογραφήματος της μήτρας (Bronz L., 2000). Αποτελεί μέθοδο με υψηλή ευαισθησία, όσο περίπου και η υστεροσκόπηση, στην ανίχνευση εστιακών βλαβών της ενδομήτριας κοιλότητας σε γυναίκες με αιμορραγία μετά την εμμηνόπαυση (Erstein E et al, 2001). Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν, με στατιστικώς σημαντική διαφορά, ότι η βιοψία του ενδομητρίου μετά από υπερηχογράφημα μήτρας με έγχυση φυσιολογικού ορού έχει αυξημένη ευαισθησία (89%) στη διάγνωση των αλλοιώσεων, σε σχέση με τη κλασική κλασματική-διαγνωστική απόξεση μήτρας, σε περιεμμηνοπαυσιακές και εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με μη φυσιολογική αιμορραγία της μήτρας (Moschos E et al, 2009).

Η διεγχειρητική διάγνωση με ταχεία βιοψία του χειρουργικού παρασκευάσματος της υστερεκτομής έχει υψηλή διαγνωστική ευαισθησία. Η χρήση της μπορεί να θεωρηθεί ως πολύτιμο εργαλείο για την διενέργεια συστηματικής σταδιοποίησης της νόσου με πυελική/πάρα-αορτική λεμφαδενεκτομή (Savelli L et al, 2012).

Όσον αφορά στις κυτταρολογικές μεθόδους screening (τεστ Pap), αυτές δεν συνιστώνται λόγω των υψηλών ποσοστών ψευδώς θετικών και ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων. Αυξημένη προσοχή χρειάζεται σε γυναίκες με έναν ή περισσότερους προδιαθεσικούς παράγοντες όπως αναφέρθηκαν προηγουμένως. Σε γυναίκες με σύνδρομο Lynch συστήνεται ετήσιος διακολπικός υπερηχογραφικός έλεγχος και βιοψία ενδομητρίου από την ηλικία των 30 (Lu KH et al, 2013; Syngal S et al, 2015).

Συμπερασματικά, η καλύτερη διαγνωστική μέθοδος σε γυναίκες με εμμηνοπαυσιακή αιμορραγία παραμένει ακόμη ασαφής. Οι απαραίτητες εξετάσεις για τη διερεύνηση της μετεμμηνοπαυσιακής κολπικής αιμορραγίας είναι οι ακόλουθες: 1) Γυναικολογική εξέταση για την εξακρίβωση της προέλευσης της αιμορραγίας 2) Διακολπικό υπερηχογράφημα μήτρας 3) Κλασματική διαγνωστική απόξεση μήτρας για λήψη βιοψίας 4) Υστεροσκόπηση σε ανάγκη επισκόπησης της ενδομήτριας

κοιλότητας και λήψης κατευθυνόμενων βιοψιών και 5) Αποκλεισμός καρκίνου ωοθηκών και σάλπιγγας (Munro MG et al, 2014).

2.2 Πρόγνωση

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την πρόγνωση των ασθενών με καρκίνο του ενδομητρίου είναι, κυρίως η ηλικία της ασθενούς, το στάδιο της νόσου κατά FIGO, το βάθος διήθησης του μυομητρίου, η ιστολογική ταξινόμηση του όγκου, η λεμφαγγειακή διήθηση και η παρουσία λεμφαδενικών και απομακρυσμένων μεταστάσεων (Gadducci A et al, 2009). Οι συγκεκριμένοι προγνωστικοί παράγοντες είναι χρήσιμοι στην προσέγγιση της θεραπευτικής μεθόδου και την προσαρμογή του χειρουργείου (Das SK et al, 2014).

Το ποσοστό επιβίωσης είναι κατά 20-30% μικρότερο στους ασθενείς με τύπου II καρκίνο του ενδομητρίου (Hamilton CA et al, 2006). Ανάμεσα στις γυναίκες που διαγνώστηκαν με σταδίου I ορώδες, διαυγοκυτταρικό και ενδομητριοειδές καρκίνωμα, τα ποσοστά 5ετούς επιβίωσης ήταν αντίστοιχα 74%, 88%, και 95%. Σε γυναίκες με καρκίνο σταδίου II τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 56%, 67%, και 86%, ενώ στο στάδιο III ήταν 33%, 48%, 67% αντίστοιχα. Τέλος, στους ασθενείς σταδίου IV το ποσοστό 5ετούς επιβίωσης μειώνεται σημαντικά σε ποσοστά 18%, 18%, και 37% αντίστοιχα.

Δυσμενείς προγνωστικοί παράγοντες αποτελούν ο ιστολογικός τύπος II, ο βαθμός κακοήθειας 3 (grade 3), η διήθηση του μυομητρίου > 50%, η αυξημένη διάμετρος του όγκου (>2 cm), η παρουσία λεμφαγγειακής διήθησης και οι λεμφαδενικές μεταστάσεις (**Πίνακας 7**) (Gilani S et al, 2014; Weinberg LE et al, 2013; Hahn HS et al, 2013; Chattopadhyay S et al, 2013). Επίσης, ο ρόλος της ανευπλοειδίας του DNA και το υψηλό κλάσμα S-φάσης θεωρούνται από άλλες μελέτες αρνητικοί προγνωστικοί δείκτες (Yamaguchi T et al, 2014).

Όσον αφορά στην προγνωστική σημασία της θετικής για καρκινικά κύτταρα κυτταρολογικής εξέτασης του περιτοναϊκού υγρού δεν υπάρχει συναίνεση. Η ανεύρεση καρκινικών κυττάρων, δεδομένης της έντονα άτυπης εμφάνισης των αντιδραστικών μεσοθηλιακών κυττάρων, αποτελεί μια δύσκολη διαφοροδιάγνωση. Επιπροσθέτως, πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η θετική για καρκινικά κύτταρα κυτταρολογική εξέταση του περιτοναϊκού υγρού συνδέεται με αυξημένη συχνότητα

εμφάνισης προχωρημένου σταδίου νόσου, ωστόσο δεν είναι σταθερά συνδεδεμένη με τους υπόλοιπους παράγοντες υψηλού κινδύνου (Wethington SL et al, 2009; Binesh F et al, 2014).

Προγνωστικός παράγοντας
Ηλικία >65
Μέγεθος όγκου > 2cm
Λεμφαγγειακή διήθηση
Grade 3, Ορώδες αδenoκαρκίνωμα, καρκίνωμα εκ διαυγών κυττάρων
Διήθηση μυομητρίου >50%
Παρουσία καρκίνου στο κατώτερο τμήμα της μήτρας
Απουσία υποδοχέων οιστρογόνων και/η προγεστερόνης στα καρκινικά κύτταρα.
Συμμετοχή των εξαρτημάτων
Συμμετοχή λεμφαδένων
Υψηλό στάδιο της νόσου

Πίνακας 7 . Παράγοντες κακής πρόγνωσης σε καρκίνο του ενδομητρίου.

2.3 Θεραπεία

Η ακριβής γνώση των θεραπευτικών πρωτοκόλλων είναι απαραίτητη για την άρτια θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών σε κατάλληλο ογκολογικό κέντρο (Lachance JA et al, 2008). Λόγω των πρώιμων συμπτωμάτων του καρκίνου του ενδομητρίου, η πλειονότητα των ασθενών (75%) διαγιγνώσκεται με στάδιο I. Η καθιερωμένη θεραπεία για τον καρκίνο του ενδομητρίου είναι χειρουργική και περιλαμβάνει την λαπαροσκόπηση ή τη λαπαροτομία.

Παραδοσιακά, το χειρουργείο εκλογής στον καρκίνο του ενδομητρίου αποτελούσε η ερευνητική λαπαροτομία με μια μέση κάθετη υπό-ομφάλιο χειρουργική τομή και λεπτομερή επισκόπηση της περιτοναϊκής κοιλότητας και ψηλάφηση των ενδοκοιλιακών οργάνων. Μετά τη λήψη περιτοναϊκού εκπλύματος ακολουθούσε η ολική υστερεκτομή μετά των εξαρτημάτων και πιθανώς λεμφαδενικός καθαρισμός. Η ανωτέρω τεχνική προσαρμόζεται στα διάφορα στάδια και τις κλινικές περιπτώσεις. Σημαντικό τμήμα της εγχείρησης είναι η διεγχειρητική ταχεία βιοψία του

παρασκευάσματος της μήτρας που δείχνει ακριβώς τη θέση του όγκου, το βάθος διήθησης καθώς και την προσβολή του τραχήλου (Case AS et al, 2006). Οι ασθενείς με υποψία για προσβολή του τραχήλου της μήτρας (MRI, βιοψία) μπορεί να υπόκεινται σε ριζική υστερεκτομή μετά των εξαρτημάτων (με στόχο την επίτευξη υγιών ορίων) και λεμφαδενικό καθαρισμό με επιθετική χειρουργική σταδιοποίηση για την προσαρμογή των επικουρικών θεραπειών. Αντιθέτως, στις ασθενείς με απομακρυσμένες μεταστάσεις, η μείωση του όγκου αποτελεί θεραπεία εκλογής (Πίνακας 8).

Τελευταία, με την πρόοδο στον τομέα της λαπαροσκόπησης και την ολοένα αυξανόμενη εμπειρία των χειρουργών, η λαπαροσκοπική ολική υστερεκτομή μετά των εξαρτημάτων +/- λεμφαδενικό καθαρισμό αποτελεί το gold standard στην αντιμετώπιση του καρκίνου του ενδομητρίου σε ασθενείς χαμηλού και μετρίου κινδύνου (Walker JL et al, 2009). Πρόσφατες έρευνες σε νοσούντες με καρκίνο σταδίου I έως ΙΑ απέδειξαν ότι η λαπαροσκόπηση μπορεί να είναι το ίδιο αποτελεσματική με την λαπαροτομία, ενώ παράλληλα η ασθενής εμφανίζει λιγότερες μετεγχειρητικές επιπλοκές, κάνει μειωμένη χρήση αναλγητικών και ο χρόνος παραμονής της στο νοσοκομείο περιορίζεται. Επίσης η λαπαροσκόπηση εμφανίζει παρόμοια ποσοστά 5ετους επιβίωσης (89.8%) και ποσοστά υποτροπής της νόσου, ενώ στο μόνο στο οποίο υστερεί είναι ο χειρουργικός χρόνος που χρειάζεται για να περατωθεί η επέμβαση (Walker JL et al, 2012). Στις μέρες μας, σε ασθενείς χωρίς περιτοναϊκές μεταστάσεις, η λαπαροσκόπηση αποτελεί την θεραπεία εκλογής.

Μετεγχειρητικά, ανάλογα με το στάδιο της νόσου οι ασθενείς μπορεί να επωφεληθούν από την ακτινο- και τη χημειοθεραπεία. Η επικουρική ακτινοθεραπεία προσφέρει τοπικό έλεγχο της νόσου. Όπως ορίζουν οι κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρείας Ακτινοθεραπευτικής Ογκολογίας, οι ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου με βαθμό κακοήθειας 1 ή 2 (G1-2), με ελάχιστη διήθηση του μυομητρίου και χωρίς λεμφαγγειακή διήθηση και ειδικά όταν δεν υπάρχουν άλλοι παράγοντες υψηλού κινδύνου, δε χρήζουν περαιτέρω θεραπείας μετά την υστερεκτομή. Εάν ο καρκίνος είναι G1-2, με ή χωρίς επιφανειακή διήθηση, αλλά με ενδοτραχηλική επέκταση, τότε οι ασθενείς μπορεί να επωφεληθούν από ενδοκολπική βραχυθεραπεία. Αντιθέτως, οι ασθενείς με καρκίνο χαμηλής διαφοροποίησης G3 και διήθηση $\geq 50\%$ είναι υποψήφιοι για μετεγχειρητική πυελική ακτινοβολία, ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος υποτροπής της νόσου στην πύελο.

Η κοιλιακή βραχυθεραπεία, είναι εξίσου αποτελεσματική με την πυελική ακτινοθεραπεία εξωτερικής δέσμης στην πρόληψη της κοιλιακής υποτροπής για τους ασθενείς με βαθμό κακοήθειας G2, με διήθηση του όγκου $\geq 50\%$ ή βαθμό κακοήθειας G3, με διήθηση $< 50\%$. Για προχωρημένα καρκινώματα του ενδομητρίου (στάδιο III/IV), η χημειοθεραπεία είναι η επικουρική θεραπεία εκλογής, μόνη της ή σε συνδυασμό με την πυελική ακτινοθεραπεία εξωτερικής δέσμης, και σε επιλεγμένες περιπτώσεις με ή χωρίς κοιλιακή βραχυθεραπεία. Αυτές οι επικουρικές θεραπείες αποσκοπούν στην βελτίωση της ελεύθερης νόσου επιβίωσης και συνολικής επιβίωσης σε έναν πληθυσμό ασθενών, στον οποίο η συνολική επιβίωση είναι κακή, περίπου 20% στο στάδιο IV της νόσου (**Πίνακας 9**) (Colombo N et al, 2011; Klopp A et al, 2014; Creasman WT et al, 2006).

Τελευταία, υπήρξε μια αμφισβήτηση αναφορικά με τη χρησιμότητα της λεμφαδενεκτομής. Κάποιες μελέτες υποστήριζαν ότι γυναίκες με ενδομητριοειδή καρκινώματα χαμηλού ρίσκου και σταδίου δεν ωφελήθηκαν από την πυελική και παραορτική λεμφαδενεκτομή. Παρουσίασαν ίδιο ποσοστό υποτροπών, αλλά και 5ετούς επιβίωσης, σε σχέση με ασθενείς που δεν υποβλήθηκαν σε λεμφαδενικό καθαρισμό (ASTECC study group, 2009).

Μεταγενέστερες μελέτες επιβεβαίωσαν το περιορισμένο όφελος της λεμφαδενεκτομής, σε γυναίκες χαμηλού ρίσκου (ορίστηκαν οι ασθενείς με καρκίνους G1-2, $< 50\%$ διήθηση του μυομητρίου και μέγεθος όγκου $> 2\text{cm}$) και αποφασίστηκε από κοινού η εφαρμογή λεμφαδενικού καθαρισμού μόνο σε γυναίκες υψηλού ρίσκου και σταδίου, αλλά και σε ασθενείς με μη ενδομητριοειδή καρκινώματα (Mariani A et al, 2000; Mariani A et al, 2008). Παρ' όλα αυτά ο λεμφαδενικός καθαρισμός μπορεί να λειτουργήσει για λόγους σταδιοποίησης και προσαρμογής της επικουρικής θεραπείας.

Επιπρόσθετα, η ρομποτική χειρουργική θα μπορούσε να συμβάλλει στην αντιμετώπιση της νόσου σε παχύσαρκες γυναίκες. Στις επεμβάσεις με ρομποτική χειρουργική, σε σύγκριση με την λαπαροτομία, οι ασθενείς είχαν μικρότερη απώλεια αίματος (46.9 έναντι 197.6 ml), μικρότερη νοσηλεία (1.4 έναντι 5.3 ημερών), λιγότερες σημαντικές επιπλοκές (6.4% έναντι 20.6%), και υψηλότερο αριθμό αφαιρούμενων λεμφαδένων (15.5 έναντι 13.1) (Paley PJ et al, 2011).

Στάδιο I	IA G1-2	Υστερεκτομή με αμφοτερόπλευρη σάλπιγγο-ωοθηκεκτομή
	IA G3	Υστερεκτομή με αμφοτερόπλευρη σάλπιγγο-ωοθηκεκτομή +/- συστηματική πυελική/πάρα-αορτική λεμφαδενεκτομή
	IB G1-3	Υστερεκτομή με αμφοτερόπλευρη σάλπιγγο-ωοθηκεκτομή +/- συστηματική πυελική/πάρα-αορτική λεμφαδενεκτομή
Στάδιο II		Ριζική(+/-) η απλή υστερεκτομή με αμφοτερόπλευρη σάλπιγγο-ωοθηκεκτομή + συστηματική πυελική/πάρα-αορτική λεμφαδενεκτομή
Στάδιο III		Μέγιστη χειρουργική κυτταρομείωση, σε ασθενείς με καλή λειτουργική κατάσταση.
Στάδιο IV	IVA	Ολική πυελική χειρουργική θεραπεία
	IVB	Συστηματική χημειο/ακτινοθεραπευτική προσέγγιση σε συνδυασμό με παρηγορητική χειρουργική επέμβαση

Πίνακας 8. Χειρουργική θεραπεία του καρκίνου του ενδομητρίου.

Στάδιο I	IA G1-2	Αποκλειστικά τακτική παρακολούθηση
	IA G3	Χορήγηση κοιλιακής βραχυθεραπείας, ή αποκλειστικά τακτική παρακολούθηση ανάλογα με τους παράγοντες κινδύνου για υποτροπή της νόσου. Επί απουσίας λεμφαδενικού καθαρισμού (σταδιοποίησης), ενδείκνυται η χρήση εξωτερικής ακτινοθεραπείας της πυέλου.
	IB G1-2	Ενδείκνυται η χορήγηση κοιλιακής βραχυθεραπείας ή αποκλειστικά τακτική παρακολούθηση (< 60 ετών)
	IB G3	Χορήγηση εξωτερικής ακτινοθεραπείας της πυέλου ή εναλλακτικά βραχυθεραπεία. Επί απουσίας λεμφαδενικού καθαρισμού (σταδιοποίησης) ενδείκνυται ο συνδυασμός της ακτινοθεραπείας και χημειοθεραπείας
Στάδιο II	G1-2	Σε ασθενείς σταδίου II χαμηλού ρίσκου, ενδείκνυται η χρήση κοιλιακής βραχυθεραπείας προς αποφυγή κοιλιακής υποτροπής. Επί απουσίας λεμφαδενικού καθαρισμού (σταδιοποίησης) ενδείκνυται ο συνδυασμός ακτινοθεραπείας και βραχυθεραπείας boost.
	G3	Ενδείκνυται ο συνδυασμός ακτινοθεραπείας και βραχυθεραπείας boost. Επί απουσίας λεμφαδενικού

		καθαρισμού (σταδιοποίησης), συστήνεται επικουρική χημειοθεραπεία.
Στάδιο III		Συνδυασμός επικουρικής χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας.
Στάδιο IV		Σε ασθενείς με μεταστατική νόσο ενδείκνυται ο συνδυασμός ακτινοθεραπείας και χημειοθεραπείας για παρηγορητική θεραπεία.

Πίνακας 9. Επικουρική Θεραπεία ενδομητριοειδούς καρκινώματος (adjuvant therapy)

Όσον αφορά στους υπόλοιπους ιστολογικούς τύπους καρκίνου του ενδομητρίου η επικουρική θεραπεία αλλάζει. Στα καρκινοσάρκωματα και στους αδιαφοροποίητους όγκους, συστήνεται ο συνδυασμός εξωτερικής ακτινοθεραπείας και συστηματικής χημειοθεραπείας. Τέλος στο ορώδες-θηλώδες και το διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα σταδίου IA χωρίς λεμφαγγειακή διήθηση, συστήνεται μόνο η κοιλιακή βραχυθεραπεία, ενώ στα υπόλοιπα στάδια συστήνεται ο συνδυασμός εξωτερικής ακτινοθεραπείας και συστηματικής χημειοθεραπείας ιδίως σε θετικούς λεμφαδένες.

Μετεγχειρητική παρακολούθηση των ασθενών με καρκίνο του ενδομητρίου.

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Ογκολογίας (ESMO) τα πρώτα 2 έτη οι ασθενείς θα πρέπει να εξετάζονται κάθε 3-4 μήνες. Η εξέταση θα πρέπει να περιλαμβάνει λήψη λεπτομερούς ιστορικού, κλινική και κοιλιακή/γυναικολογική εξέταση, εργαστηριακές (αιματολογικές) εξετάσεις και τεστ Παπανικολάου (κοιλιακού κολοβώματος) για την ανίχνευση των τοπικών υποτροπών της νόσου. Περαιτέρω εξετάσεις (CT, MRI) μπορεί να ζητηθούν εάν ενδείκνυται από την κλινική εξέταση. Αναφορικά, έχει βρεθεί ότι το PET/CT scan έχει αυξημένη ευαισθησία στον εντοπισμό υποτροπών της νόσου. Για τα επόμενα 3 χρόνια και μέχρι την ολοκλήρωση των 5 ετών συνολικά, συνίσταται η ανά 6 μήνες παρακολούθηση. Θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ο αυξημένος κίνδυνος για ανάπτυξη καρκίνου του μαστού, των ωοθηκών και του παχέος εντέρου σε ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου (Colombo N et al, 2011).

Μέρος 2^ο

Ειδικό Μέρος

2. Σκοπός

Ολοένα και περισσότερες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία προσανατολίζονται στην ανεύρεση μοριακών δεικτών που θα βοηθήσουν την ιατρική κοινότητα στην αντιμετώπιση του καρκίνου. Συγκεκριμένα στον καρκίνο του ενδομητρίου, διαπιστώνεται ότι η πρόγνωση και το αποτέλεσμα της θεραπείας επηρεάζεται άμεσα από τη μοριακή ταξινόμηση του καρκίνου.

Σήμερα δεν υπάρχει ομοφωνία και ξεκάθαρες κατευθυντήριες οδηγίες αντιμετώπισης του καρκίνου του ενδομητρίου ανάλογα με τη μοριακή του ταξινόμηση. Ωστόσο, τα η αυξανόμενη πληροφορία που προστίθεται στη βιβλιογραφία οδηγεί ολοένα και περισσότερο προς μια μοριακής ταξινόμηση του καρκίνου του ενδομητρίου και καθιστά αναγκαία την εύρεση βιοδεικτών για την πρόγνωση και θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών.

Στόχος της μελέτης μας είναι η μελέτη της συχνότητας των μεταλλάξεων του γονιδίου της πολυμεράσης E (POLE) σε ασθενείς με καρκίνο ενδομητρίου. Πρόκειται για ένα γονίδιο που συμμετέχει στην αντιγραφή και επιδιόρθωση βλαβών του DNA (Colombo et al, 2011; Church et al 2013; Henninger and Pursell, 2014). Στα καρκινώματα του ενδομητρίου έχει σημειωθεί υψηλός αριθμός μεταλλάξεων (> 100 μεταλλάξεις ανά μεγαβάση (Mb)) στην πλειονότητα των περιπτώσεων. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι καρκινώματα του ενδομητρίου, που φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο POLE, είναι συνήθως υψηλής κακοήθειας ενδομητριοειδή καρκινώματα. Χαρακτηριστική είναι η παρουσία γιγάντιων καρκινικών κυττάρων και η παρουσία λεμφοκυττάρων που διεισδύουν σε αυτά (Howitt et al, 2015; van Gool et al. 2015; Bakhsh et al, 2016; Eggink et al. 2017). Ωστόσο, οι μέχρι τώρα μελέτες έδειξαν πολύ καλή πρόγνωση και υψηλά ποσοστά 5ετούς επιβίωσης στους ασθενείς που φέρουν μεταλλάξεις στο POLE γονίδιο, ενώ εντυπωσιακά χαμηλό είναι και το ποσοστό τοπικών υποτροπών.

2.1 Υλικά και μέθοδος

Στη μελέτη συμπεριελήφθησαν 36 ασθενείς που χειρουργήθηκαν στη Γυναικολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Περιφερειακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας με διάγνωση καρκίνου του ενδομητρίου. Οι ασθενείς της μελέτης είχαν υποβληθεί σε κοιλιακή ολική υστερεκτομή μετά των εξαρτημάτων και χειρουργική σταδιοποίηση της νόσου. Για τους παραπάνω ασθενείς υπήρχαν διαθέσιμοι κύβοι παραφίνης του όγκου. Η χειρουργική σταδιοποίηση της νόσου πραγματοποιήθηκε κατά FIGO από γυναικολόγους-χειρουργούς, ενώ οι μετεγχειρητικές θεραπευτικές επιλογές αποφασίστηκαν από το ογκολογικό συμβούλιο της κλινικής.

Οι κύβοι παραφίνης και οι ιστολογικές τομές ηωσίνης-αιματοξυλίνης, προέρχονται από το αρχείο του Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημιακού Περιφερειακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Συλλέξαμε υλικό καθώς και κλινικοιστολογικές παραμέτρους, όπως η ηλικία, ο ιστολογικός τύπος του όγκου, ο βαθμός κακοηθείας (grade), το βάθος διήθησης του μυομητρίου, η παρουσία λεμφαγγειακών διηθήσεων, η παρουσία νόσου στην πύελο ή η εξωπυελική επέκτασή της, και η προσβολή του τραχήλου της μήτρας από τη νόσο. Η ιστολογική ταξινόμηση των καρκινωμάτων του ενδομητρίου πραγματοποιήθηκε βάσει των κριτηρίων του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας.

2.2 Απομόνωση DNA

Για την απομόνωση του DNA λήφθησαν για κάθε δείγμα 10 τομές παραφίνης σε σωληνάριο τύπου erpendorf. Χρησιμοποιήσαμε το kit Purelink Genomic DNA kit, Invitrogen και η απομόνωση έγινε σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας με μικρές διαφοροποιήσεις.

1^η Μέρα

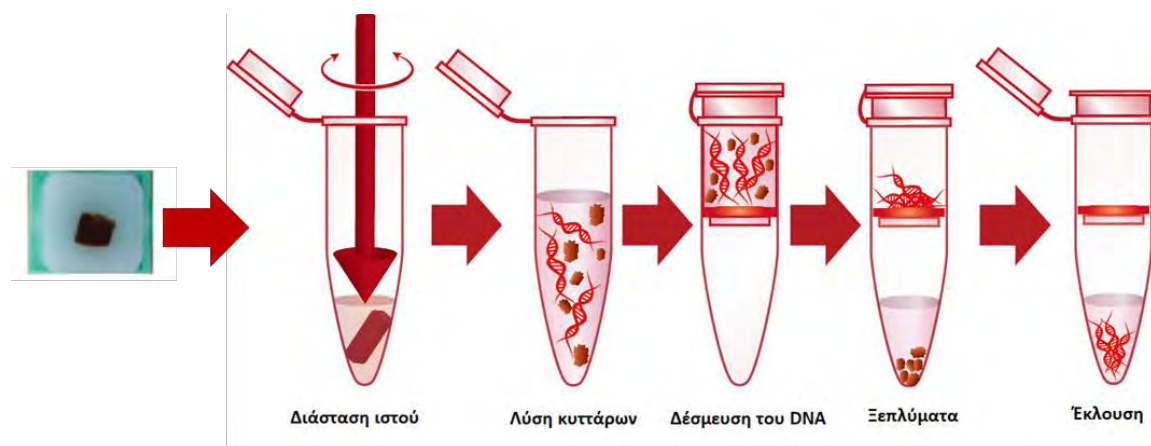
- 1) Προσθήκη ξυλόλης 1ml για να λιώσει η παραφίνη και να διαχωριστεί ο ιστός.
- 2) Ανάδευση και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά.
- 3) Φυγοκέντρηση στις 15.000 στροφές για 10 λεπτά.

- 4) Αφαίρεση του υπερκειμένου.
- 5) Επανάληψη των βημάτων 1-4.
- 6) Προσθήκη 1ml 100% απόλυτης αιθανόλης.
- 7) Ανάδευση και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά.
- 8) Αφαίρεση του υπερκειμένου.
- 9) Επανάληψη των βημάτων 6-8.
- 10) Προσθήκη 400μl διαλύματος λύσης των ιστών και 40μl ενζύμου πρωτεϊνάσης K που λύει τις πρωτεΐνες, συγκεκριμένα τις ιστόνες, και απελευθερώνει το DNA.
- 11) Τοποθετούμε σε υδατόλουτρο 56 βαθμών Κελσίου για να διαλυθεί ο ιστός.

2^η Μέρα

- 1) Αφαιρούμε τα δείγματα από το υδατόλουτρο.
- 2) Επώαση των δειγμάτων στους 90 βαθμούς Κελσίου για 1 ώρα.
- 3) Προσθήκη 40μl RNAσης για να απομακρύνουμε το RNA και επώαση για 2 λεπτά.
- 4) Προσθήκη 400 μl διαλύματος λύσης/πρόσδεσης, ώστε να λυθεί το γενομικό DNA και να προσδεθεί μετέπειτα στις στήλες απομόνωσης DNA που παρέχονται από το κιτ.
- 5) Ανάδευση και προσθήκη 400 μl 100% απόλυτης αιθανόλης.
- 6) Μεταφορά του συνόλου του δείγματός μας σε στήλες.
- 7) Φυγοκέντρηση στις 15000 στροφές για 10 λεπτά.
- 8) Απόρριψη του διηθήματος
- 9) Προσθήκη 600 μl διαλύματος πλύσης 1 (Wash buffer 1)
- 10) Φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στις 15000 στροφές.
- 11) Απόρριψη του διηθήματος
- 12) Προσθήκη 600 μl διαλύματος πλύσης 2 (Wash buffer 2)
- 13) Φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στις 15000 στροφές
- 14) Μεταφέρουμε τις στήλες μας σε νέα σωληνάρια τύπου Eppendorf και προσθέτουμε 40μl δις απεσταγμένου H₂O.
- 15) Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά

- 16) Φυγοκέντρωση στις 15000 στροφές για 10 λεπτά.
- 17) Συλλογή του διηθήματος και επανατοποθέτηση στις ίδιες στήλες.
- 18) Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά
- 19) Φυγοκέντρωση στις 15000 στροφές για 10 λεπτά.
- 20) Συλλογή του διηθήματος που περιέχει το γενομικό DNA
- 21) Φύλαξη στους -20 βαθμούς κελσίου μέχρι την περαιτέρω χρήση



Εικόνα 6. Σχηματική απεικόνιση απομόνωσης γενομικού DNA.

2.3 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός DNA

2.3.1 Φωτομέτρηση

Πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση του DNA των δειγμάτων μας για να αξιολογηθεί η συγκέντρωση και η καθαρότητά τους. Η καθαρότητα του δείγματος προσδιορίζεται εάν μετρηθεί η απορρόφηση του ίδιου δείγματος τόσο στα 260nm όσο και στα 280nm και μετά υπολογιστεί ο λόγος OD_{260}/OD_{280} . Για τιμές μεταξύ 1.7-1.9, το DNA χαρακτηρίζεται σχετικά καθαρό. Τιμές μικρότερες του 1.7 είναι ενδεικτικές της ύπαρξης προσμίξεων, συνήθως είτε πρωτεϊνών είτε φαινόλης, ενώ μεγαλύτερες του 1.9 είναι ενδεικτικές πρόσμιξης με άλλα μακρομόρια. Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του δίκλωνου DNA χρησιμοποιείται ο ακόλουθος τύπος:

$$C_{dsDNA}(\mu\text{g/ml}) = \text{τιμή } OD_{260} \times 50 \times \text{συντελεστής αραίωσης.}$$

2.3.2 Ηλεκτροφόρηση νουκλεϊκών οξέων

Ακολούθησε ηλεκτροφόρηση των DNA δειγμάτων μας σε πήκτωμα αγαρόζης 2%, για να ελέγξουμε την ακεραιότητα του δείγματός μας και αξιολόγηση με τοποθέτηση του πηκτώματος αγαρόζης υπό υπεριώδες φως (UV).

2.3.3 Παρασκευή πηκτώματος αγαρόζης

Για την παρασκευή του πηκτώματος αγαρόζης ακολουθήσαμε τα παρακάτω βήματα:

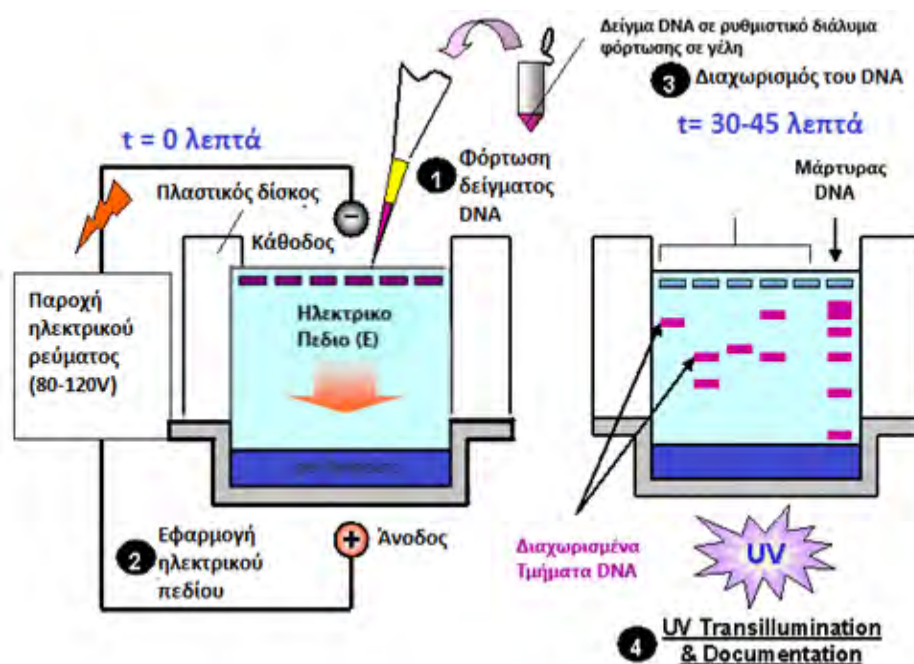
- 1) Μέτρηση σε ζυγό ακριβείας της επιθυμητής ποσότητας αγαρόζης σε σκόνη και μεταφορά της σε ογκομετρική φιάλη. Προσθήκη 300ml ρυθμιστικού διαλύματος ηλεκτροφόρησης TBE (Tris-Boric Edta) 1x και ανάδευση.
- 2) Τοποθέτηση της ογκομετρικής φιάλης σε φούρνο μικροκυμάτων και θέρμανση του μίγματος μέχρι να διαλυθεί η αγαρόζη και να γίνει διαυγές το διάλυμα.
- 3) Προσθήκη βρωμιούχου αιθιδίου στο μίγμα (τυπικά 0,5μg/ml). Η ένωση αυτή εισχωρεί στις βάσεις του DNA (για αυτό και είναι γνωστός μεταλλαξιογόνος παράγοντας) και φθορίζει παρουσία υπεριώδους φωτός.
- 4) Ανάδευση του μίγματος και τοποθέτηση του περιεχομένου σε κατάλληλο εκμαγείο. Παραμονή σε ανοιχτό απαγωγό μέχρι να πολυμεριστεί η αγαρόζη και να δημιουργηθεί το πήκτωμα.
- 5) Τέλος αφαίρεση του πηκτώματος από το εκμαγείο και αποθήκευσή του στο ψυγείο.

2.3.4 Διαδικασία ηλεκτροφόρησης

Πριν την τοποθέτηση του δείγματος στο πήκτωμα αγαρόζης αυτό αναμιγνύεται με μια χρωστική φόρτωσης (μπλέ της βρωμοφαινόλης). Αυτή εξυπηρετεί πολλούς σκοπούς. Αρχικά, επειδή είναι ορατή στο φυσικό φως βοηθάει στην αναγνώριση της θέσης φόρτωσης του δείγματος και παράλληλα καθώς μετακινείται μαζί με το DNA χρησιμεύει στην παρακολούθηση της πορείας της ηλεκτροφόρησης. Τέλος, η γλυκερόλη που περιέχει προσδίδει μεγαλύτερη πυκνότητα στο DNA και δεν το αφήνει να βγει έξω από το πηγαδάκι φόρτωσης του δείγματος. Ταυτόχρονα με τα

δείγματα φορτώνεται και ένα δείκτης γνωστού μοριακού βάρους για την εκτίμηση του μεγέθους των προϊόντων μας.

Η μετακίνηση των νουκλεϊκών οξέων γίνεται προς την άνοδο (+) λόγω του αρνητικού φορτίου που τους προσδίδει η παρουσία των φωσφορικών ομάδων. Το τελευταίο στάδιο είναι η μεταφορά του πηκτώματος υπό υπεριώδες φως (UV), αξιολόγηση των εμφανιζόμενων δειγμάτων και καταγραφή με την μορφή αποθήκευσης εικόνας των δεδομένων στοιχείων (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Διαδικασία ηλεκτροφόρησης των δειγμάτων.

Πηγή: <https://schoolworkhelper.net/gel-electrophoresis-basics-steps>

2.4 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR)

Για να μελετήσουμε τα εξόνια 9, 13 και 14 του γονιδίου της POLE χρησιμοποιήσαμε κατάλληλους εκκινητές συμπληρωματικούς ως προς τμήματα της μελετούμενης αλληλουχίας. Οι αλληλουχίες των εκκινητών και τα μεγέθη των παραγόμενων προϊόντων φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 10). Οι PCR αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν σε θερμικό κυκλοποιητή τύπου Eppendorf (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Αυτόματος θερμικός κυκλοποιητής τύπου Eppendorf

Εκκινητής	Αλληλουχία 5' – 3'	PCR προϊόν (ζεύγη βάσεων)
9F - πρόσθιος	TGCTTATTTTGTCCCCACAGGAC	153
9R - ανάστροφος	TACTTCCCAGAAGCCACCTG	
13F- πρόσθιος	TCTGTTCTCATTCTCCTTCCAG	174
13R- ανάστροφος	CGGGATGTGGCTTACGTG	
14F- πρόσθιος	TCTGGCGTTCTCTCCTCAG	155
14R- ανάστροφος	CGACAGGACAGATAATGCTCAC	

Πίνακας 10. Αλληλουχίες των εκκινητών και μεγέθη των παραγόμενων PCR προϊόντων.

Το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήσαμε για την διενέργεια της PCR αντίδρασης παρατίθεται στη συνέχεια (Πίνακας 11).

Συστατικά	Συγκέντρωση
10x ρυθμιστικό διάλυμα	100mM
50mM MgCl₂	2-5mM
dNTPs	10mM
Πρόσθιος εκκινητής (F)	10pmol
Ανάστροφος εκκινητής (R)	10pmol
Taq DNA πολυμεράση	1-5 units
DNA	100ng
Δις απεσταγμένο H₂O	variable
Τελικός όγκος	50μl

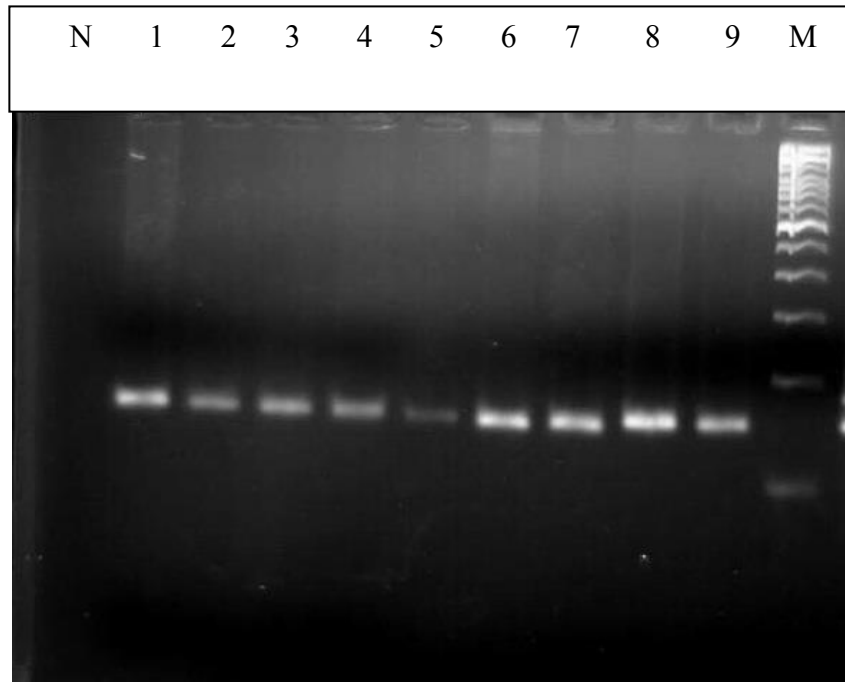
Πίνακας 11. Πρωτόκολλο PCR αντίδρασης.

Οι συνθήκες της PCR για τα εξόνια 9, 13 και 14 του γονιδίου POLE παρατίθενται στη συνέχεια (Πίνακας 12).

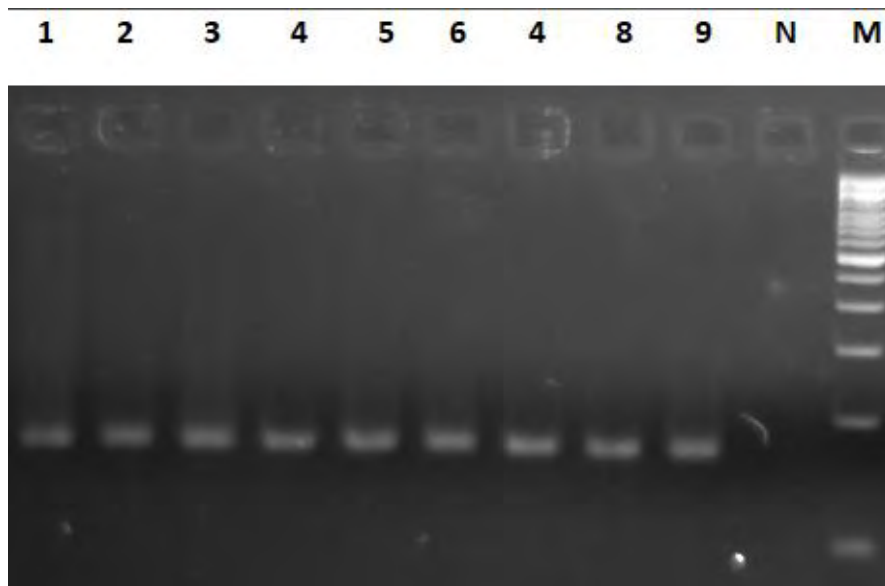
Θερμοκρασία	Χρόνος (Λεπτά)	Κύκλοι
95 °C	5	1
95 °C	1	40
58 °C	1	40
72 °C	1	40
72 °C	10	1
18 °C	-----	End

Πίνακας 12. Συνθήκες PCR αντίδρασης στον θερμικό κυκλοποιητή.

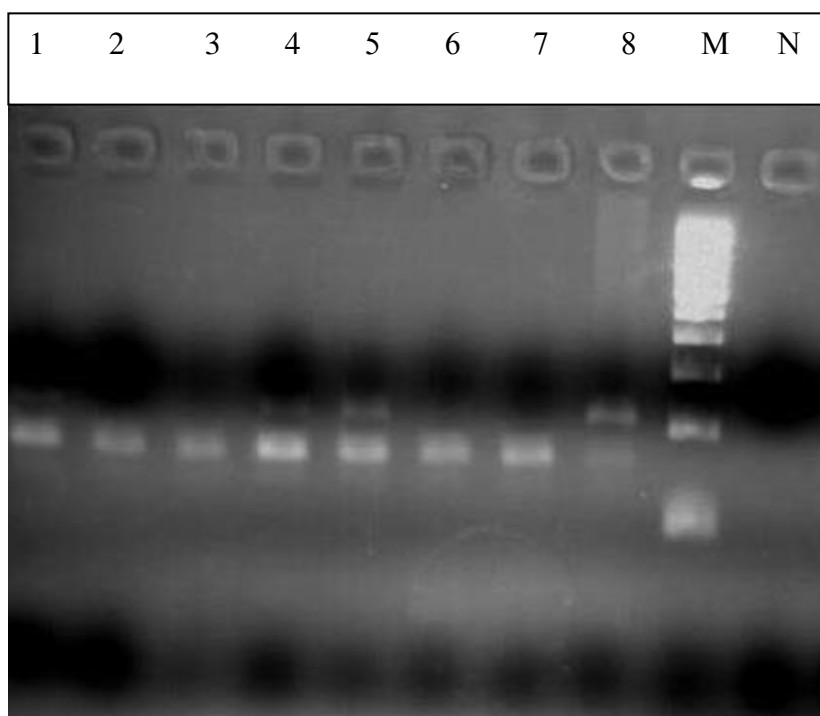
Μετά από κάθε PCR ηλεκτροφορούμε το προϊόν για να επιβεβαιώσουμε ότι ενισχύθηκε το επιθυμητό προϊόν (Εικόνες 9, 10, 11).



Εικόνα 9. Ηλεκτροφόρηση PCR προϊόντων του εξονίου 9 του POLE γονιδίου σε 3% πήκτωμα αγαρόζης. 1-9: δείγματα ασθενών μήκους 153 ζ.β., M: 100bp μάρτυρας γνωστού μεγέθους (Thermo Fischer), N: αρνητικός μάρτυρας.



Εικόνα 10. Ηλεκτροφόρηση PCR προϊόντων του εξονίου 13 του POLE γονιδίου σε 3% πήκτωμα αγαρόζης. 1-9: δείγματα ασθενών μήκους 174 ζ.β., M: 100bp μάρτυρας γνωστού μεγέθους (Thermo Fischer), N: αρνητικός μάρτυρας



Εικόνα 11. Ηλεκτροφόρηση PCR προϊόντων του εξονίου 14 του POLE γονιδίου σε 3% πήκτωμα αγαρόζης. 1-8: δείγματα ασθενών μήκους 155 ζ.β., M: 100bp μάρτυρας γνωστού μεγέθους (Thermo Fischer), N: αρνητικός μάρτυρας.

2.5 Καθαρισμός PCR προϊόντων από πήκτωμα αγαρόζης (QIAquick Gel extraction)

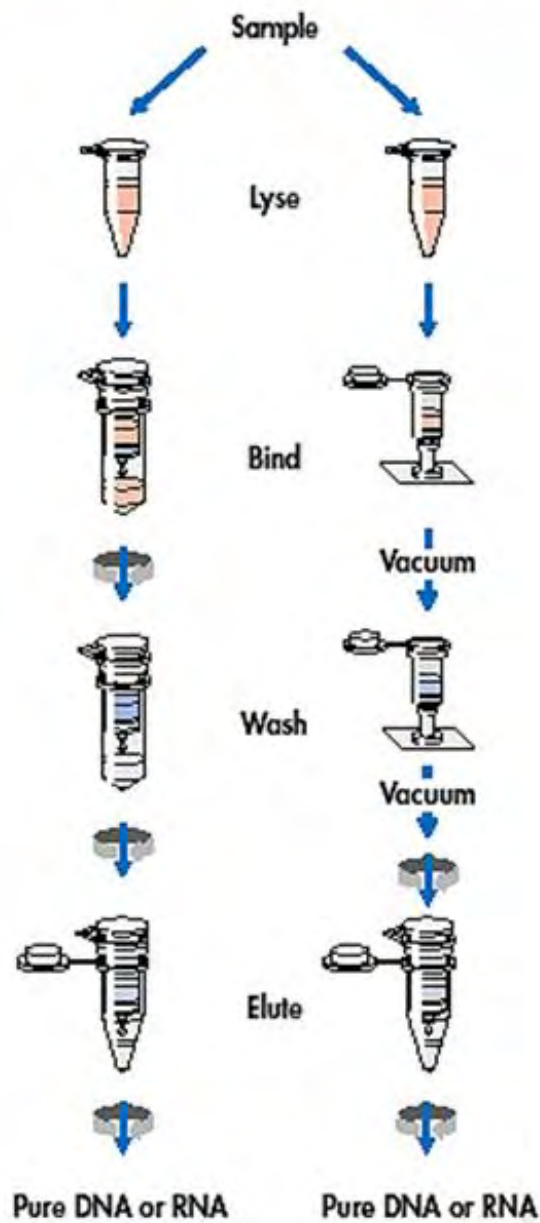
Ο καθαρισμός του PCR προϊόντος προκειμένου να ακολουθήσει η ανάλυση της αλληλουχίας του έγινε με το QIAquick Gel Extraction kit (QIAGEN) σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρίας, όπως φαίνεται παρακάτω:

- 1) Κόβεται και αφαιρείται από το πήκτωμα το τμήμα με την επιθυμητή ζώνη που μας ενδιαφέρει και προστίθεται σε σωληνάριο τύπου Eppendorf 1,5-2ml. (Στα στάδια που ακολουθούν, οι ποσότητες των διαλυμάτων που χρησιμοποιούνται, αναφέρονται σε κομμάτια πηκτώματος που ζυγίζουν κατά προσέγγιση 100mg).
- 2) Προσθήκη 600μl QC διαλύματος στο σωληνάριο και επώαση σε υδατόλουτρο των 50°C για 12 λεπτά, με καλή ανακίνηση του σωληναρίου κάθε 3 λεπτά.

- 3) Προσθήκη 200μl ισοπροπανόλης και πολύ καλή ανάδευση.
- 4) Μεταφορά του μείγματος στη στήλη QIAquick spin.
- 5) Φυγοκέντρηση της στήλης στις 13000 στροφές για 1 λεπτό σε θερμοκρασία δωματίου και απόρριψη του διαλύματος που απομένει στο σωληνάριο συλλογής (collection tube).
- 6) Προσθήκη 735μl PE διαλύματος στη στήλη και φυγοκέντρηση στις ίδιες συνθήκες.
- 7) Απόρριψη του σωληναρίου συλλογής και τοποθέτηση καθαρού κάτω από τη στήλη. Φυγοκέντρηση στις 15000 στροφές για 1 λεπτό (στέγνωμα της στήλης)
- 8) Απόρριψη του σωληναρίου συλλογής και τοποθέτηση αποστειρωμένου σωληναρίου τύπου Eppendorf 1,5ml κάτω από τη στήλη.
- 9) Έκλυση του DNA με προσθήκη 40μl δις απεσταγμένου νερού ddH₂O στο κέντρο της μεμβράνης της στήλης και αναμονή για 1 λεπτό σε θερμοκρασία δωματίου.
- 10) Φυγοκέντρηση της στήλης για 1 λεπτό στις 13000 στροφές (Εικόνα 12).

Η ποιότητα του DNA που ανακτήθηκε με την παραπάνω μέθοδο, ελέγχεται με ηλεκτροφόρηση μικρής ποσότητας δείγματος σε πήκτωμα αγαρόζης και παρατηρείται υπό την επίδραση υπεριώδους φωτός.

**QIAamp Spin Column Procedure
in microfuges on vacuum manifolds**



Εικόνα 12. Σχηματική απεικόνιση του καθαρισμού των ενισχυμένων PCR προϊόντων προς αλληλούχιση.

2.6 Αλληλούχιση του PCR προϊόντος

Πραγματοποιήθηκε αλληλούχιση των καθαρισμένων PCR προϊόντων του POLE γονιδίου σε γενετικό αναλυτή ABI 3500 (Applied Biosystems) με τη μέθοδο αλληλούχισης κατά Sanger.

Στη μέθοδο αυτή κάθε ένα από τα τέσσερα διδεοξυριβονουκλεοτίδια (ddNTPs) χρωματίζονται με διαφορετικές χρωστικές (fluorescent dyes), καθεμία από τις οποίες εκπέμπει σε διαφορετικό μήκος κύματος φθορισμού. Με τη μέθοδο αυτή διαβάστηκε η αλληλουχία του κάθε εξονίου και ελέγχθηκε το κάθε μας δείγμα για την παρουσία μεταλλάξεων στο γονίδιο POLE. Η αλληλουχία που μας δόθηκε από το αποτέλεσμα της αλληλούχισης, συγκρίθηκε με τη γνωστή αλληλουχία του γονιδίου μέσω του ειδικού προγράμματος για ταυτοποίηση Blast της NCBI που διατίθεται στο διαδίκτυο. Η ιστοσελίδα για την ταυτοποίηση των αλληλουχιών είναι η ακόλουθη:

<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>

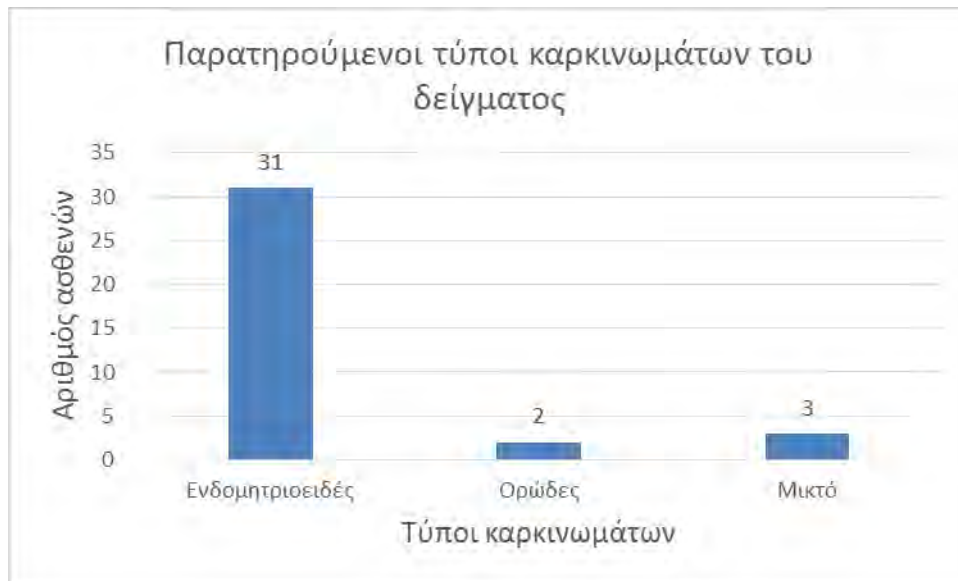
2.7 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στη μελέτη μας συμπεριλάβαμε 36 από ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου που χειρουργήθηκαν στη γυναικολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Περιφερειακού Γενικού Νοσοκομείου. Οι ηλικίες των ασθενών κυμαίνονταν από 46 έως 82 ετών με μέση τιμή ηλικίας τα 61 έτη. Στη συνέχεια παρατίθενται οι κλινικοϊστολογικές παράμετροι των ασθενών της μελέτης (Πίνακας 13).

<i>Παράμετρος</i>	<i>Αριθμός</i>	<i>Ποσοστό</i>
<i>Ηλικία</i>	61 ± 9,9	
<i>Τύπος καρκινώματος</i>		
• <i>Ενδομητριοειδές</i>	31	86
• <i>Ορώδες</i>	3	8,3
• <i>Μικτό</i>	2	5,7
<i>Βαθμός κακοήθειας</i>		
• <i>Grade I</i>	13	36
• <i>Grade II</i>	12	33,3
• <i>Grade III</i>	11	30,7
<i>Αγγειακή διήθηση</i>		
• <i>Απουσία</i>	21	41,7
• <i>Παρουσία</i>	15	58,3
<i>Βαθμός διήθησης ενδομητρίου</i>		
• <i><50%</i>	23	63,8
• <i>>50%</i>	13	36,3

Πίνακας 13. Κλινικοϊστολογικές παράμετροι των ασθενών της μελέτης.

Οι ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη ήταν ηλικίας 46 έως 82 ετών, με διάμεση ηλικία 61 ± 9,9. Η πλειοψηφία των ασθενών, 31/36 γυναίκες (86%), είχε ενδομητριοειδή τύπο καρκίνου του ενδομητρίου. Επιπλέον, διαγνώστηκαν 3 γυναίκες με μικτό τύπο καρκινώματος (8.3%) και 2 γυναίκες με ορώδες καρκίνωμα (5.7%).



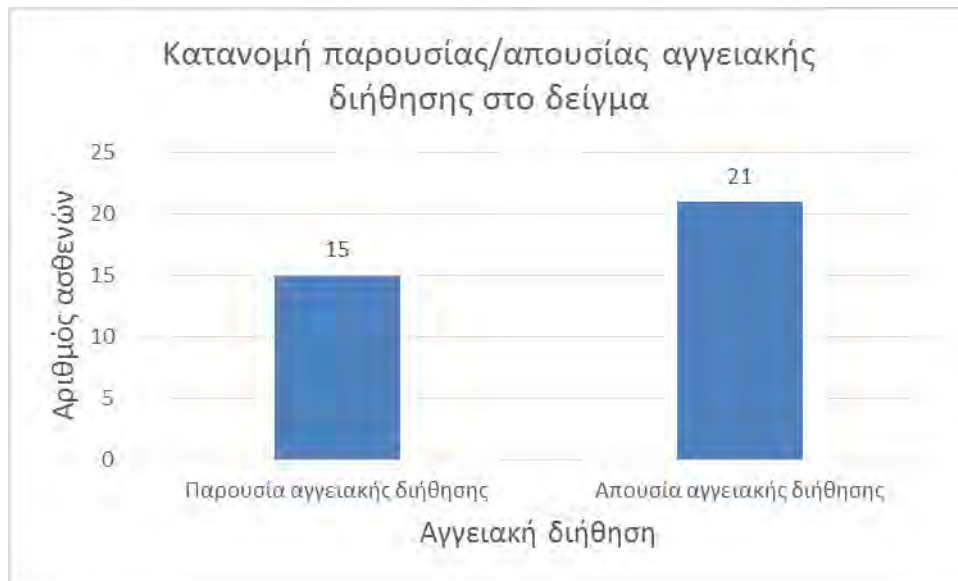
Γράφημα 1. Κατανομή των τύπων του καρκίνου του ενδομητρίου

Συνολικά, 13/36 γυναίκες (36.0%) είχαν καρκίνο βαθμού κακοήθειας I, 12/36 γυναίκες (33.3%) βαθμού κακοήθειας II και 11/36 γυναίκες (30.7%) είχαν καρκίνο βαθμού κακοήθειας III.



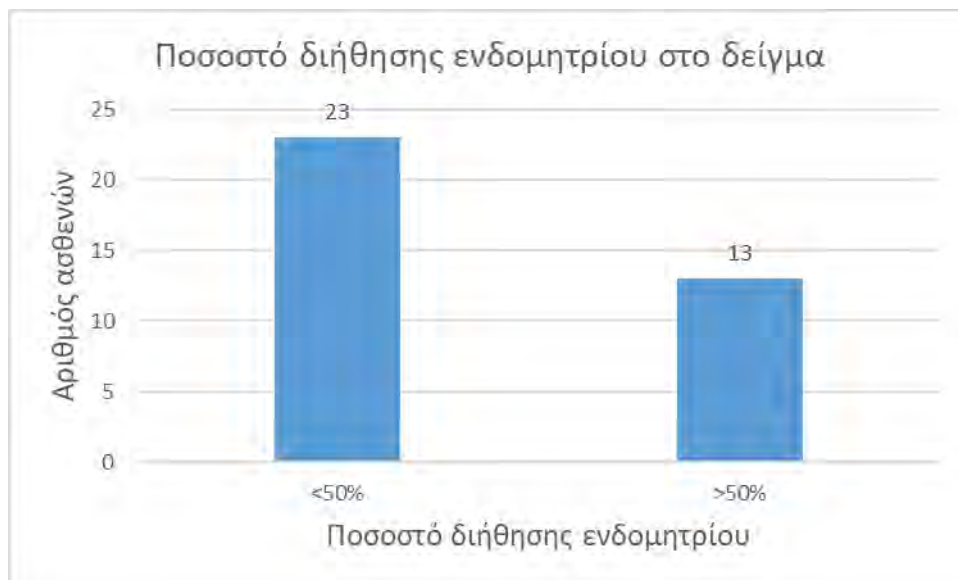
Γράφημα 2. Κατανομή βαθμού κακοήθειας των καρκίνων του ενδομητρίου των ασθενών της μελέτης.

Επιπλέον, 15/36 γυναίκες (41.7%) παρουσίασαν αγγειακή διήθηση, ενώ οι υπόλοιπες 21/36 (58.3%) δεν εμφάνισαν αγγειακή διήθηση.



Γράφημα 3. Κατανομή παρουσίας/απουσίας αγγειακής διήθησης.

Οι ασθενείς εξετάστηκαν ως προς το βαθμό διήθησης του όγκου και κατηγοριοποιήθηκαν σε δύο ομάδες, με βαθμό διήθησης <50% και με βαθμό διήθησης >50%. Παρατηρείται ότι στους ασθενείς που εξετάστηκαν, 23/36 γυναίκες (63.8%) παρουσιάζουν βαθμό διήθησης του ενδομητρίου <50% και 13/36(36.3%) γυναίκες εμφανίζουν βαθμό διήθησης του ενδομητρίου >50%.

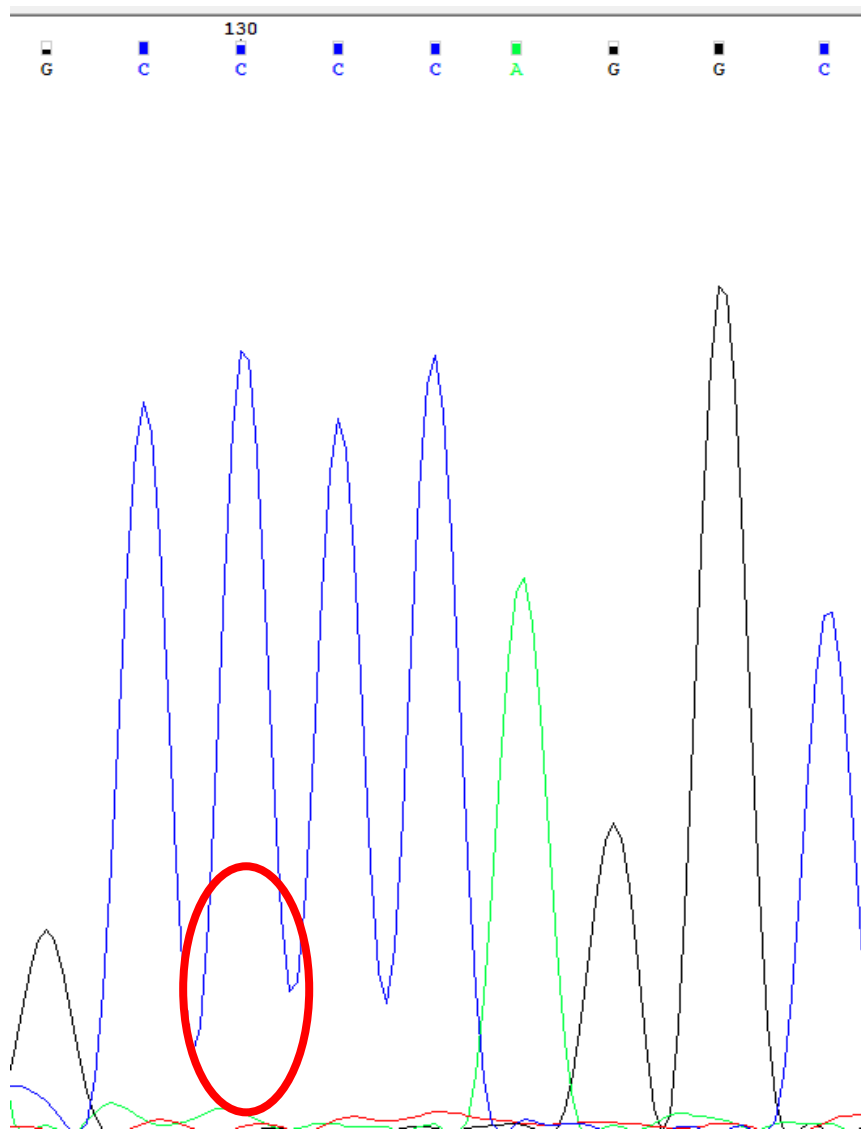


Γράφημα 4. Κατανομή ποσοστού διήθησης του ενδομητρίου του δείγματος.

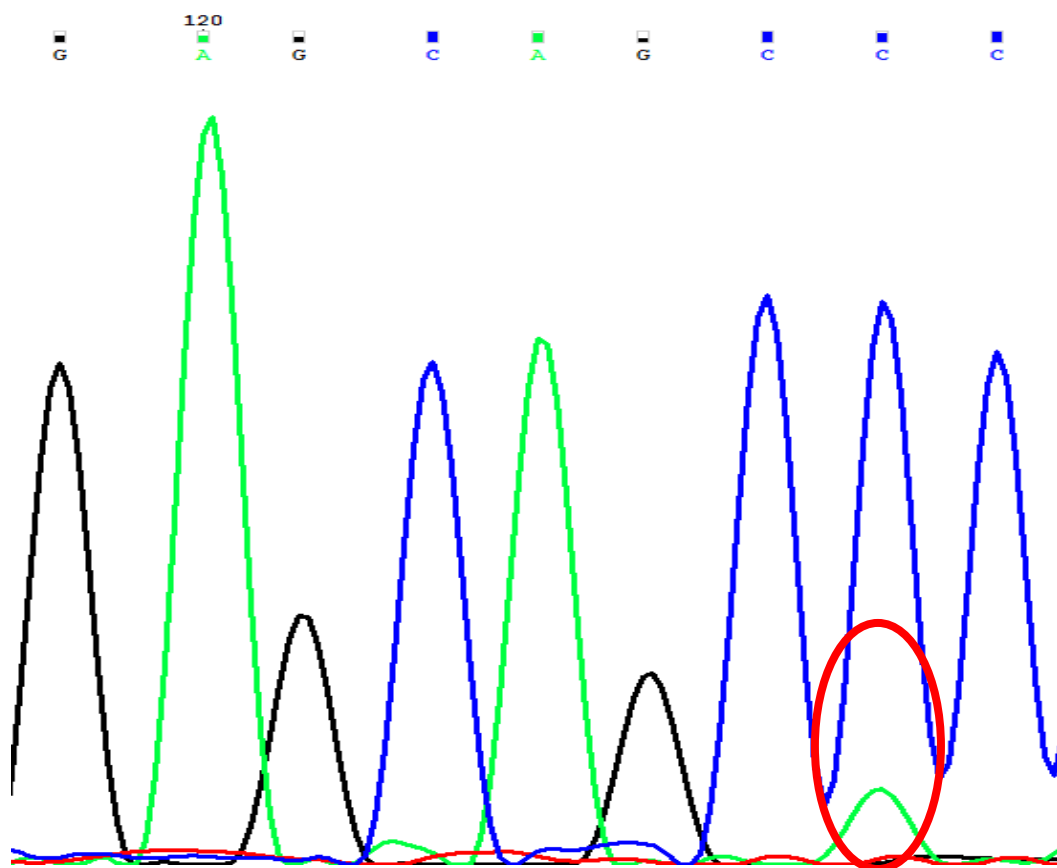
Στη συνέχεια αναλύσαμε τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την αλληλούχιση των δειγμάτων μας για κάθε ένα από τα εξόνια 9, 13 και 14 του γονιδίου POLE σε

κάθε έναν από τους ασθενείς της μελέτης μας. Το γονίδιο POLE εδράζεται στο χρωμόσωμα 12. Η ανάλυση έγινε με τη μέθοδο αλληλούχισης κατά Sanger σε γενετικό αναλυτή ABI 3500. Τα δείγματα που αναλύθηκαν, με εξαίρεση ένα δείγμα, έφεραν τη φυσιολογική αλληλουχία του γονιδίου POLE σε κάθε ένα από τα εξόνια 9, 13, 14. Η γενετική σύσταση του δείγματος είναι ομοιόμορφη, γεγονός που δεν παρέχει κάποια συσχέτιση με τις κλινικοϊστολογικές παραμέτρους των ασθενών.

Μία ασθενής εμφάνισε μία μη νοηματική μετάλλαξη στο εξόνιο 13 και συγκεκριμένα στη θέση c.1355C>A, που οδηγεί στην αμινοξική αλλαγή p.P452H. Πρόκειται για μία αντικατάσταση της βάσης κυτοσίνης (C) από την αδενίνη (A) στη θέση 1355. Στις παρακάτω εικόνες αντιπαραβάλλεται η φυσιολογική αλληλουχία και η αλληλουχία που φέρει τη μετάλλαξη (Εικόνες 13, 14).



Εικόνα 13. Φυσιολογική αλληλουχία τμήματος του εξονίου 13.



Εικόνα 14. Ανίχνευση της μη νοσηματικής μετάλλαξης c.1355C>A, που οδηγεί στην αμινοξική αλλαγή p.P452H στο εξόνιο 13, σε ασθενή της μελέτης.

Η ασθενής που φέρει τη συγκεκριμένη μετάλλαξη είναι ηλικίας 73 ετών, διαγνώστηκε με ορώδες καρκίνωμα, βαθμού κακοηθείας III, δεν παρουσιάζει αγγειακή διήθηση και εμφανίζει διήθηση ενδομητρίου σε ποσοστό μικρότερο από 50%.

Gene
POLE

This tab displays a table of mutations for the selected gene. You can see more information in our

Show entries

Position (AA)	Mutation (CDS)	Mutation (Amino Acid)
445	c.1335C>T	p.C445C
446	c.1336C>T	p.R446W
446	c.1337G>A	p.R446Q
446	c.1337G>C	p.R446P
446	c.?	p.R446Q
448	c.1342G>A	p.A448T
448	c.1344C>T	p.A448A
451	c.1351C>T	p.Q451*
452	c.1354C>T	p.P452S
452	c.1355C>A	p.P452H

Gene view
Overview
External links
Drug resistance
Tissue distribution
Genome browser
Mutation distribution
Variants
References
Reset page

Search

Search COSMIC...

Εικόνα 15. Βάση δεδομένων COSMIC CANCER DATABASE, όπου είναι καταγεγραμμένες οι γνωστές μεταλλάξεις του POLE γονιδίου.

2.8 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο καρκίνος του ενδομητρίου θεωρείται ο τέταρτος συχνότερος καρκίνος μεταξύ των γυναικών παγκοσμίως και η έκτη αιτία θανάτου για το 2017 (Siegel et al, 2016). Η πλειοψηφία των περιπτώσεων είναι σποραδικού τύπου. Ωστόσο, ένα ποσοστό γυναικών, της τάξης του 3-5%, θα αναπτύξει καρκίνο του ενδομητρίου εξαιτίας μιας κληρονομούμενης μετάλλαξης σε ένα γονίδιο που εμπλέκεται στον μηχανισμό επιδιόρθωσης βλαβών του DNA και θα έχει, ως εκ τούτου σύνδρομο Lynch, που χαρακτηρίζεται από μεταλλάξεις στα επιδιορθωτικά γονίδια που συμμετέχουν στην ακεραιότητα του γονιδιώματος (Provenzale D et al. 2016; Pakish et al, 2017).

Η πλειοψηφία των ασθενών με καρκίνο του ενδομητρίου θεραπεύεται με χειρουργική επέμβαση. Συχνά, η ακτινοβολία, η χημειοθεραπεία ή ο συνδυασμός τους χρησιμοποιείται για να μειώσει τον κίνδυνο υποτροπής σε ασθενείς με κλινικοιστολογικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με κακή έκβαση της νόσου.

Ο καρκίνος του ενδομητρίου κατηγοριοποιείται με βάση την ταξινόμηση κατά FIGO. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια έχει προταθεί η μοριακή ταξινόμηση, χωρίς ωστόσο να έχει επικυρωθεί ακόμη. Η μελέτη του μοριακού προφίλ του καρκίνου του ενδομητρίου, που πραγματοποιήθηκε από την ομάδα του Cancer Genome Atlas (TCGA), βασίστηκε στην ανάλυση της πλήρους γενετικής αλληλουχίας, στην ανάλυση της μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI) και στην αξιολόγηση των αλλαγών του αριθμού των αντιγράφων σε ολόκληρο το γονιδίωμα (Kandoth C et al. 2013).

Οι τέσσερις μοριακοί υπότυποι που αναπτύχθηκαν από την TCGA ομάδα φέρουν σε μεγάλο βαθμό μη επικαλυπτόμενο φορτίο μεταλλάξεων, διακριτό φάσμα μεταλλάξεων, διαφορές στο μηχανισμό επιδιόρθωσης βλαβών του DNA και διαφορές στο κλάσμα των αλλαγών του αριθμού των γονιδιακών αντιγράφων. Οι TCGA μοριακοί υπότυποι είναι: υψηλού αριθμού αντιγράφων (ορώδους τύπου), χαμηλού αριθμού αντιγράφων (ενδομητριοειδούς τύπου), POLE μεταλλάξεις και μικροδορυφορική αστάθεια (MSI).

Το γονίδιο της πολυμεράσης ε (POLE) δεν είχε κάποιο διακριτό ρόλο στην καρκινογένεση του ενδομητρίου πέντε χρόνια πριν. Ωστόσο η TCGA μοριακή ταξινόμηση περιέγραψε μια υποομάδα όγκων με μεταλλάξεις στο συγκεκριμένο γονίδιο και με ένα εξαιρετικά “μεταλλαγμένο” φαινότυπο που ανεξάρτητα από τον ιστολογικό τύπο ή το βαθμό κακοηθείας του όγκου έχει καλή πρόγνωση (TCGA,

2013). Αντιθέτως, όγκοι του ενδομητρίου που χαρακτηρίζονται από υψηλό αριθμό αντιγράφων σχετίζονται με κακή πρόγνωση. Οι υποομάδες της μικροδορυφορικής αστάθειας και του χαμηλού αριθμού αντιγράφων παρουσιάζουν ενδιάμεσο διάστημα επιβίωσης ελεύθερο νόσου.

Σήμερα γνωρίζουμε ότι τα κακοήθη νεοπλάσματα με υψηλό ποσοστό μεταλλάξεων στο γονίδιο POLE κυμαίνονται μεταξύ 6.4% και 17.4% των καρκινωμάτων του ενδομητρίου με χαμηλό και υψηλό βαθμό κακοήθειας αντίστοιχα. Οι μεταλλάξεις εντοπίζονται στην καταλυτική μονάδα της πολυμεράσης, έχουν ως αποτέλεσμα αντικαταστάσεις C σε A και χαρακτηρίζονται από μικροδορυφορική σταθερότητα (Mittica G et al, 2017). Συνοδές μεταλλάξεις του υπότυπου POLE αφορούν τα γονίδια PTEN, PIK3R1, PIK3CA, RAS (Murali et al, 2014; Kandoth et al, 2013; Gargiulo et al, 2016).

Στη συγκεκριμένη εργασία διερευνήσαμε τη συχνότητα εμφάνισης των μεταλλάξεων του POLE γονιδίου σε ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου, καθώς οι μελέτες που υπάρχουν παρουσιάζουν χαμηλά ποσοστά εμφάνισης μεταλλάξεων αλλά και μεγάλη διακύμανση. Για το σκοπό αυτό εξετάσαμε συνολικά 36 γυναίκες με καρκίνο του ενδομητρίου. Οι γυναίκες διαγνώστηκαν με καρκίνο του ενδομητρίου και χειρουργήθηκαν στη γυναικολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Περιφερειακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας.

Τα χειρουργικά παρασκευάσματα εξετάστηκαν στο εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής και Κυτταρολογίας του Πανεπιστημιακού Περιφερειακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας, όπου έγινε η ιστολογική εξέταση. Συλλέξαμε υλικό μονιμοποιημένο σε φορμόλη και εμπεδωμένο και απομονώσαμε γενετικό υλικό (DNA). Εξετάσαμε τα δείγματά μας για την παρουσία μεταλλάξεων στο γονίδιο POLE και συγκεκριμένα, στα εξόνια 9, 13 και 14 που αποτελούν τμήματα της καταλυτικής υπομονάδας της πολυμεράσης ε. παράλληλα, συλλέξαμε και τα κλινικοιστολογικά στοιχεία που αφορούν στον τύπο του όγκου, το βαθμό κακοήθειας, την παρουσία αγγειακής διήθησης και το βαθμό διήθησης του ενδομητρίου. Σε 1/36 γυναίκες (2.8%) ανιχνεύθηκε μετάλλαξη στο γονίδιο της πολυμεράσης ε. Πιο συγκεκριμένα, στο εξόνιο 13 του γονιδίου POLE, ανιχνεύθηκε η μη νοηματική μετάλλαξη c.1355C>A, που οδηγεί στην αμινοξική αλλαγή p.P452H. Πρόκειται για μία αντικατάσταση της βάσης κυτοσίνης (C) από την αδενίνη (A) στη θέση 1355. Η ασθενής που φέρει τη συγκεκριμένη μετάλλαξη είναι ηλικίας 73 ετών, διαγνώστηκε

με ορώδες καρκίνωμα βαθμού κακοηθείας III, δεν παρουσιάζει αγγειακή διήθηση και εμφανίζει διήθηση του ενδομητρίου σε ποσοστό μικρότερο από 50%.

Οι μεταλλάξεις στην περιοχή της πολυμεράσης ε με εξωνουκλεολυτική δραστηριότητα κυμαίνονται στο 7-10% των καρκινωμάτων του ενδομητρίου (Kandoth C et al. 2013; Talhouk A et al. 2015). Οι όγκοι με αυτές τις μεταλλάξεις παρουσιάζουν έναν εξαιρετικά μεταλλαγμένο φαινότυπο, καθώς προκαλούνται C >A αλλαγές σε πολλά γονίδια. Ωστόσο αυτή η ομάδα των ασθενών έχει βελτιωμένη επιβίωση ελεύθερης νόσου.

Στη μελέτη των Karnezis και συνεργατών (2017) δεν ανιχνεύτηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των μεταλλάξεων του γονιδίου POLE και των παραμέτρων της διήθησης του ενδομητρίου. Ωστόσο, οι μεταλλάξεις του γονιδίου ήταν παρούσες σε αρχόμενα καρκινώματα. Οι μεταλλάξεις του POLE γονιδίου σχετίστηκαν με την ολική επιβίωση των ασθενών, την επιβίωση ελεύθερης νόσου και την επιβίωση ελεύθερης εξέλιξης νόσου (Karnezis et al, 2017).

Αντίστοιχη ήταν η μελέτη, σε μικρό αριθμό δειγμάτων, των Espinoza και συνεργατών (2017), που μελέτησαν την παρουσία μεταλλάξεων σε διαφοροποιημένα και μη καρκινώματα του ενδομητρίου. Μεταλλάξεις στις περιοχές της καταλυτικής υπομονάδας ανιχνεύτηκαν σε 7 διαφοροποιημένα και 2 μη διαφοροποιημένα καρκινώματα. Και σε αυτή τη μελέτη υπήρξε συσχέτιση της ύπαρξης μεταλλάξεων POLE με επιβίωση ελεύθερης ασθένειας, επιβεβαιώνοντας τα μέχρι τώρα ευρήματα (Espinoza et al, 2017).

Στη μελέτη μας ανιχνεύσαμε μία μετάλλαξη, σε μία μόνο γυναίκα (1/36, 2.8%) με καρκίνο του ενδομητρίου που είχε ορώδες καρκίνωμα, υψηλού βαθμού κακοηθείας. Αξίζει να αναφερθεί ότι υπάρχουν πολλές μελέτες που διεξήχθησαν μετά την αρχική μελέτη της TCGA ομάδας, οι οποίες επιβεβαιώνουν ότι οι ασθενείς με μεγάλο αριθμό μεταλλάξεων στο γονίδιο POLE σχετίζονται με καλύτερη δυνατή πρόγνωση (Kandoth et al, 2012; Church et al, 2013; Church et al, 2015; McConechy et al, 2016; Meng et al, 2014). Ακόμη, δεν είναι πλήρως κατανοητό για ποιο λόγο συμβαίνει αυτό. Έχει προταθεί μία υπόθεση από τους Meng και συνεργάτες (2014), που υποστηρίζουν ότι η θετική πρόγνωση σε καρκινώματα του ενδομητρίου με μεγάλο αριθμό μεταλλάξεων στο γονίδιο POLE οφείλεται στο γεγονός ότι ο υπερβολικά μεγάλος αριθμός μεταλλάξεων μπορεί να αποτελεί μη βιώσιμη επιλογή για την ανάπτυξη και την επιβίωση του καρκινικού κυττάρου (Meng et al, 2014).

Πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει την παρουσία μεγάλου αριθμού λεμφοκυττάρων που διηθούν τον όγκο, με ταυτόχρονη έκφραση του υποδοχέα προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου PDL-1 (van Gool et al, 2015). Φαίνεται να υποστηρίζεται η άποψη ότι οι όγκοι που φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο της πολυμεράσης ε έχουν υψηλή ανοσογονικότητα. Το γεγονός αυτό καθιστά ενδεχομένων τα καρκινώματα αυτά κατάλληλα για ανοσοθεραπεία (Howitt et al, 2015). Ανοσοιστοχημικές μελέτες σε δείγματα ασθενών με καρκίνο του ενδομητρίου έχουν δείξει έκφραση των PD-1 και PD-L1 μορίων. Ο Vanderstraeten και συνεργάτες του έδειξε ότι τα επίπεδα έκφρασης του PD-L1 κυμαίνονται μεταξύ 67-100% σε πρωτοπαθή, υποτροπιάζοντα και μεταστατικά ενδομητριοειδή καρκινώματα (Vanderstraeten A et al, 2014). Ο Herzog και συνεργάτες (2015) ανέφεραν επίπεδα έκφρασης του PD-1 της τάξης του 75% και επίπεδα έκφρασης του PD-L1 από 25-47%, ανοίγοντας το δρόμο στη διερεύνηση των αναστολέων ανοσολογικών σημείων ελέγχου σε ασθενείς με μεταστατικό και υποτροπιάζοντα καρκίνο του ενδομητρίου, προκειμένου η ανοσοθεραπεία να αποτελέσει μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική λύση έναντι των παραδοσιακών κυτταροτοξικών θεραπειών (Herzog T et al, 2015). Χρειάζονται περισσότερες μελέτες και σε μεγάλο αριθμό ασθενών με καρκίνο του ενδομητρίου προκειμένου να επικυρωθεί η μοριακή ταξινόμηση αλλά και να βρεθούν οι κατάλληλοι βιοδείκτες που θα οδηγήσουν σε αποτελεσματική θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ACOG Committee on Practice Bulletins—Gynecology. ACOG Practice Bulletin: Management of anovulatory bleeding. *Int J Gynaecol Obstet.* 2001;72(3):263-271

American Cancer Society. *Cancer facts & figures 2017.* Atlanta: American Cancer Society; 2017.

American Cancer Society: Detailed Guide: Endometrial Cancer: What are the Risk Factors for Endometrial Cancer? Atlanta, Ga: American Cancer Society, 2005

American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice, ACOG committee opinion no. 336: tamoxifen and uterine cancer. *Obstetrics and Gynecology*, 2006. 107(6): p. 1475- 1478.

Anderson B, Connor JP, Andrews JI, Davis CS, Buller RE, Sorosky JI, Benda JA. Obesity and prognosis in endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol.* 1996 Apr;174(4):1171-8; discussion 1178-9.

Anderson, K.E., et al., Diabetes and endometrial cancer in the Iowa women's health study. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 2001.10(6): p. 611-616.

Azueta A, Gatus S, Matias-Guiu X. Endometrioid carcinoma of the endometrium: pathologic and molecular features. *Semin Diagn Pathol.* 2010 Nov;27(4):226-40.

Bansal N, Yendluri V, Wenham RM. The molecular biology of endometrial cancers and the implications for pathogenesis, classification, and targeted therapies. *Cancer Control.* 2009 Jan;16(1):8-13. Review.

Berstein, L.M., et al., Insulin resistance, its consequences for the clinical course of the disease, and possibilities of correction in endometrial cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2004. 130(11): p. 687-693.

Bevier, M., J. Sundquist, and K. Hemminki, Does the time interval between first and last birth influence the risk of endometrial and ovarian cancer? *European Journal of Cancer*, 2011. 47(4): p. 586-591.

Binesh F, Akhavan A, Behniafard N, Zabihi S, Hosseinizadeh E. Prognostic value of peritoneal washing cytology in gynecologic malignancies: a controversial issue. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(21):9405-10.

Bokhman JV: Two pathogenetic types in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*15: 10-17, 1983

Brinton, L.A., J. Lacey, J.V., and M.E. Sherman, Chapter 1. Epidemiology of Gynecologic Cancers, in *Principles and Practice of Gynecologic Oncology*, 4th Edition W.J. Hoskins, et al., Editors. 2005, Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia. p. 3-9.

Bronz L. Hysteroscopy in the assessment of postmenopausal bleeding. *Contrib Gynecol Obstet*. 2000; 20:51- 9

Burzawa, J.K., et al., Prospective evaluation of insulin resistance among endometrial cancer patients. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2011. 204(4): p. 355.e1-355.e7.

Byron S.A., Gartside M.G., Wellens C.L., et al., “Inhibition of activated fibroblast growth factor receptor 2 in endometrial cancer cells induces cell death despite PTEN abrogation,” *Cancer Research*, vol. 68, no. 17, pp. 6902–6907, 2008

Cantrell LA, Zhou C, Mendivil A, Malloy KM, Gehrig PA, Bae-Jump VL. Metformin is a potent inhibitor of endometrial cancer cell proliferation--implications for a novel treatment strategy. *Gynecol Oncol*. 2010 Jan;116(1):92-8. Epub 2009 Oct 12

Case AS, Rocconi RP, Straughn JM Jr, Conner M, Novak L, Wang W, Huh WK. A prospective blinded evaluation of the accuracy of frozen section for the surgical management of endometrial cancer. *Obstet Gynecol*. 2006 Dec;108(6):1375-9

Chattopadhyay S, Cross P, Nayar A, Galaal K, Naik R. Tumor size: a better independent predictor of distant failure and death than depth of myometrial invasion in International Federation of Gynecology and Obstetrics stage I endometrioid endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2013 May;23(4):690-7.

Chon HS, Hu W, Kavanagh JJ. Targeted therapies in gynecologic cancers. *Curr Cancer Drug Targets*. 2006;6(4):333-363.

Church DN, Briggs SE, Palles C, et al. DNA polymerase epsilon and delta exonuclease domain mutations in endometrial cancer. *Hum Mol Genet* 2013; 22: 2820–8.

Church DN, Stelloo E, Nout RA, et al. Prognostic significance of POLE proofreading mutations in endometrial cancer. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107: 402.

Clement PB, Young RH. Endometrioid carcinoma of the uterine corpus: a review of its pathology with emphasis on recent advances and problematic aspects. *Adv Anat Pathol.* 2002 May;9(3):145-84

Colombo N, Preti E, Landoni F, Carinelli S, Colombo A, Marini C, Sessa C; ESMO Guidelines Working Group. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2011 Sep;22 Suppl 6

Cook LS, Weiss NS, Doherty JA, et al. Endometrial cancer. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF, editors. *Cancer epidemiology and prevention.* 3rd ed. 2006. p. 1027–43.

Creasman W. Revised FIGO staging for carcinoma of the endometrium. *Int J Gynaecol Obstet.* 2009;105(2):109.

Creasman WT, Odicino F, Maisonneuve P, Quinn MA, Beller U, Benedet JL, Heintz AP, Ngan HY, Pecorelli S. Carcinoma of the corpus uteri. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynaecol Obstet.* 2006 Nov;95 Suppl 1:S105-43.

Das SK, Niu XK, Wang JL, Zeng LC, Wang WX, Bhetuwal A, Yang HF. Usefulness of DWI in preoperative assessment of deep myometrial invasion in patients with endometrial carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Imaging.* 2014 Nov 12;14:32

Del Carmen MG, Birrer M, Schorge JO. Uterine papillary serous cancer: a review of the literature. *Gynecol Oncol.* 2012 Dec;127(3):651-61.

Diddle, A.W., Granulosa- and theca-cell ovarian tumors: prognosis. *Cancer,* 1952. 5(2): p. 215-228

Dijkhuizen FP, Mol BW, Brolmann HA, Heintz AP. The accuracy of endometrial sampling in the diagnosis of patients with endometrial carcinoma and hyperplasia: a meta-analysis *Cancer.* 2000;89(8):1765–72

Doll A, Abal M, Rigau M, et al. Novel molecular profiles of endometrial cancer-new light through old windows. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008;108(3-5):221-229. Epub 2007 Sep 15

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet.* 1998 May 16;351(9114):1451-67

Eggink FA, Van Gool IC, Leary A, et al. Immunological profiling of molecularly classified high-risk endometrial cancers identifies POLE-mutant and microsatellite unstable carcinomas as candidates for checkpoint inhibition. *Oncoimmunology* 2017; 6: e1264565

Espinoza I, Lee CH, D'Angelo E., Palacios J, Prat J, Undifferentiated and Dedifferentiated Endometrial Carcinomas With POLE Exonuclease Domain Mutations Have a Favorable Prognosis, *Am J Surg Pathol* 2017;41:1121–1128

Epstein E, Ramirez A, Skoog L, Valentin L. Transvaginal sonography, saline contrast sonohysterography and hysteroscopy for the investigation of women with postmenopausal bleeding and endometrium > 5 mm. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001 Aug;18(2):157-62.

Fader AN, Boruta D, Olawaiye AB, Gehrig PA. Uterine papillary serous carcinoma: epidemiology, pathogenesis and management. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2010 Feb;22(1):21-9.

Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Secondary GLOBOCAN 2012 v1.0, cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No. 11 2013.

Fisher B, Costantino JP, Redmond CK, Fisher ER, Wickerham DL, Cronin WM. Endometrial cancer in tamoxifen-treated breast cancer patients: findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B-14. *J Natl Cancer Inst.* 1994 Apr 6; 86:527-37

Gadducci A, Cavazzana A, Cosio S, DI Cristofano C, Tana R, Fanucchi A, Teti G, Cristofani R, Genazzani AR. Lymph-vascular space involvement and outer one-third myometrial invasion are strong predictors of distant haematogeneous failures in patients with stage I-II endometrioid-type endometrial cancer. *Anticancer Res.* 2009 May;29(5):1715-20

Gadducci A, Cosio S, Spirito N, Cionini L. Clear cell carcinoma of the endometrium: a biological and clinical enigma. *Anticancer Res.* 2010 Apr;30(4):1327-34.

Galaal K, Al Moundhri M, Bryant A, Lopes AD, Lawrie TA. Adjuvant chemotherapy for advanced endometrial cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 May 15;5:CD010681

Gargiulo P, Della Pepa C, Berardi S, Califano D, Scala S, Buonaguro L, Ciliberto G, Brauchli P, Pignata S. Tumor genotype and immune microenvironment in POLE ultramutated and MSI-hypermutated Endometrial Cancers: New candidates for checkpoint blockade immunotherapy? *Cancer Treat Rev.* 2016; 48:61–8. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2016.06.008>.

Genazzani AR, Gadducci A, Gambacciani M; International Menopause Society Expert Workshop. Controversial issues in climacteric medicine II. Hormone replacement therapy and cancer. *Maturitas.* 2001 Nov 30;40(2):117-30

Gilani S, Anderson I, Fathallah L, Mazzara P. Factors predicting nodal metastasis in endometrial cancer. *Arch Gynecol Obstet.* 2014 Jul 1.

Godoy CE Jr, Antunes A Jr, Morais SS, Pinto-Neto AM, Costa-Paiva L. Accuracy of sonography and hysteroscopy in the diagnosis of premalignant and malignant polyps in postmenopausal women. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2013 Jun;35(6):243-8.

Grady, D., et al., Hormone replacement therapy and endometrial cancer risk: a meta-analysis. *Obstetrics and Gynecology*, 1995. 85(2): p. 304-313

Growdon WB1 , Rauh-Hain JJ, Cordon A, Garrett L, Schorge JO, Goodman A, Boruta DM, Horowitz NS, del Carmen MG. Prognostic determinants in patients with stage I uterine papillary serous carcinoma: a 15-year multi-institutionalreview. *Int J Gynecol Cancer.* 2012 Mar;22(3):417-24.

Gumus II, Keskin EA, Kiliç E, Aker A, Kafali H, Turhan NO. Diagnostic value of hysteroscopy and hysterosonography in endometrial abnormalities in asymptomatic postmenopausal women. *Arch Gynecol Obstet.* 2008 Sep;278(3):241-4.

Gusberg SB: Virulence factors in endometrial cancer. *Cancer* 71 (4 Suppl): 1464-6, 1993

Hahn HS, Lee IH, Kim TJ, Lee KH, Shim JU, Kim JW, Lim KT. Lymphovascular space invasion is highly associated with lymph node metastasis and recurrence in endometrial cancer. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2013 Jun;53(3):293-7. 116

Hamilton CA, Cheung MK, Osann K, Chen L, Teng NN, Longacre TA, et al. Uterine papillary serous and clear cell carcinomas predict for poorer survival compared to grade 3 endometrioid corpus cancers. *Br J Cancer*. 2006;94(5):642–6

Hecht JL, Mutter GL. Molecular and pathologic aspects of endometrial carcinogenesis. *J Clin Oncol*. 2006 Oct 10;24(29):4783-91.

Henderson, B.E., et al., The epidemiology of endometrial cancer in young women. *British Journal of Cancer*, 1983. 47(6): p. 749-756.

Henninger EE, Pursell ZF. DNA polymerase epsilon and its roles in genome stability. *IUBMB Life* 2014; 66: 339–351

Hershcopf, R.J. and H.L. Bradlow. Obesity, diet, endogenous estrogens, and the risk of hormone-sensitive cancer. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1987. 45(1 Supplement): p. 283-289

Herzog T, Arguello D, Reddy S, Gatalica Z. PD-1 and PD-L1 expression in 1599 gynecological malignancies - implications for immunotherapy. *Gynecol Oncol*. 2015;137:Suppl. 1

Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Bradshaw KD, Cunningham, FG, eds. (2012). "Endometrial Cancer". *Williams Gynecology* (2nd ed.) McGraw-Hill. p. 823. ISBN 978-0-07-171672-7

Howitt BE, Shukla SA, Sholl LM, et al. Association of polymerase emutated and microsatellite-Instable endometrial cancers with neoantigen load, number of tumor-infiltrating lymphocytes, and expression of PD-1 and PD-L1. *JAMA Oncol* 2015; 1: 1319–23.

Hulka, B.S., et al., Estrogen and endometrial cancer: cases and two control groups from North Carolina. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1980. 137(1): p. 92-101

Ito K, Watanabe K, Nasim S, Sasano H, Sato S, Yajima A, Silverberg SG, Garrett CT. K-ras point mutations in endometrial carcinoma: effect on outcome is dependent on age of patient. *Gynecol Oncol*. 1996 Nov;63(2):238-46.

Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2011 Mar-Apr;61(2):69-90.

Kalogiannidis I, Bobos M, Papanikolaou A, Makedos A, Amplianitis I, Vergote I, Nenopoulou E, Makedos G. Immunohistochemical bcl-2 expression, p53 overexpression, PR and ER status in endometrial carcinoma and survival outcomes. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2008;29(1):19-25

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, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature.* 2013; 497:67–73. <https://doi.org/10.1038/nature12113>.

Karnezis AN, Leung S, Magrill J et al, Evaluation of endometrial carcinoma prognostic immunohistochemistry markers in the context of molecular classification *J Path: Clin Res* October 2017; 3: 279–293.

Kessler, I.I., Cancer and diabetes mellitus. A review of the literature. *Journal of Chronic Disease*, 1971. 23(8): p. 579-600.

Kimura T, Kamiura S, Yamamoto T, et al. Abnormal uterine bleeding and prognosis of endometrial cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 2004; 85:145.

Klopp A, Smith BD, Alektiar K, Cabrera A, Damato AL, Erickson B, Fleming G, Gaffney D, Greven K, Lu K, Miller D, Moore D, Petereit D, Schefter T, Small W Jr, Yashar C, Viswanathan AN; American Society for Radiation Oncology. The role of postoperative radiation therapy for endometrial cancer: Executive summary of an American Society for Radiation Oncology evidence-based guideline. *Pract Radiat Oncol.* 2014 MayJun;4(3):137-44.

Koul, R. Willén, P.-O. Bendahl, M. Nilbert, and A. Borg, “Distinct sets of gene alterations in endometrial carcinoma implicate alternate modes of tumorigenesis,” *Cancer*, vol. 94, no. 9, pp. 2369–2379, 2002

Lachance JA, Darus CJ, Rice LW. Surgical management and postoperative treatment of endometrial carcinoma. *Rev Obstet Gynecol.* 2008 Summer;1(3):97-105

Larson, J.A., Estrogens and endometrial carcinoma. *Obstetrics and Gynecology*, 1954. 3(5): p. 551-572.

Lax S, Kendall B, Tashiro H, et al. The frequency of p53, K-ras mutations, and microsatellite instability differs in uterine endometrioid and serous carcinoma: evidence of distinct molecular genetic pathways. *Cancer.* 2000; 88(4):814-824

Lax SF: Molecular genetic pathways in various types of endometrial carcinoma: from the phenotypical to a molecular-based classification. *Virchows Arch* 444: 213-223, 2004

Liberis V, Tsikouras P, Christos Z, Ammari A, Dislian V, Koutlaki N, Liberis A, Maroulis G. The contribution of hysteroscopy to the detection malignancy in symptomatic postmenopausal women. *Minim Invasive Ther Allied Technol.* 2010 Apr;19(2):83-93.

Longoria and Eskander. *Gynecologic Oncology Research and Practice* (2015) 2:11

Lu KH, Daniels M. Endometrial and ovarian cancer in women with Lynch syndrome: update in screening and prevention. *Fam Cancer.* 2013;12(2):273–7

Mariani A, Dowdy SC, Cliby WA, Gostout BS, Jones MB, Wilson TO, et al. Prospective assessment of lymphatic dissemination in endometrial cancer: a paradigm shift in surgical staging. *Gynecol Oncol.* 2008;109(1):11–8.

Mariani A, Webb MJ, Keeney GL, Haddock MG, Calori G, Podratz KC. Low-risk corpus cancer: is lymphadenectomy or radiotherapy necessary? *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(6):1506–19.

Masamoto H, Nakama K, and Kanazawa K, “Hysteroscopic appearance of the mid – secretory endometrium: relationship to early phase pregnancy outcome after implantation”, *Human Reproduction*, vol. 15, no. 10, pp. 2112-2118, 2000

McConechy MK, Talhouk A, Leung S, et al. Endometrial carcinomas with POLE exonuclease domain mutations have a favorable prognosis. *Clin Cancer Res* 2016; 22: 2865–73.

McPherson, C.P., et al., Reproductive factors and risk of endometrial cancer. The Iowa Women's Health Study. *American Journal of Epidemiology*, 1996. 143(12): p. 1195-1202.

Mendivil A, Schuler KM, Gehrig PA. Non-endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus: a review of selected histological subtypes. *Cancer Control.* 2009 Jan;16(1):46-52.

Meng B, Hoang LN, McIntyre JB, et al. POLE exonuclease domain mutation predicts long progression-free survival in grade 3 endometrioid carcinoma of the endometrium. *Gynecol Oncol* 2014; 134: 15–9.

Mignotte, H., et al., Iatrogenic risks of endometrial carcinoma after treatment for breast cancer in a large French case-control study. Federation Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer (FNCLCC). *International Journal of Cancer*, 1998. 76: p. 325-330.

Mittica G, Ghisoni E, Giannone G, Aglietta M, Genta S, Valabrega G, Checkpoint inhibitors in endometrial cancer: preclinical rationale and clinical activity, *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, (No. 52), pp: 90532-90544

Moore KN, Fader AN. Uterine papillary serous carcinoma. *Clin Obstet Gynecol*. 2011 Jun;54(2):278-91.

Moreno-Bueno G, Hardisson D, Sánchez C, et al., “Abnormalities of the APC/ β -catenin pathway in endometrial cancer,” *Oncogene*, vol. 21, no. 52, pp. 7981–7990, 2002

Moschos E, Ashfaq R, McIntire DD, Liriano B, Twickler DM. Saline-infusion sonography endometrial sampling compared with endometrial biopsy in diagnosing endometrial pathology. *Obstet Gynecol*. 2009 Apr;113(4):881-7.

Munro MG; Southern California Permanente Medical Group’s Abnormal Uterine Bleeding Working Group. Investigation of women with postmenopausal uterine bleeding: clinical practice recommendations. *Perm J*. 2014 Winter;18(1):55-70

Murali R, Soslow RA, Weigelt B. Classification of endometrial carcinoma: more than two types. *Lancet Oncol*. 2014; 15:e268–78. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(13\)70591-6](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(13)70591-6).

Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, et al. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92(11):924-930

Mutter GL. PTEN, a protean tumor suppressor. *Am J Pathol*. 2001; 158(6):1895-1898.

Pakish JB, Zhang Q, Chen Z, Liang H, Chisholm G, Yuan Y, Mok SC, Broaddus RJ, Lu K, Yates MS. Immune microenvironment in microsatellite instable endometrial cancers: Hereditary or sporadic origin matters. *Clin Cancer Res*. 2017. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-2655>.

- Paley PJ, Veljovich DS, Shah CA, Everett EN, Bondurant AE, Drescher CW, Peters WA 3rd. Surgical outcomes in gynecologic oncology in the era of robotics: analysis of first 1000 cases. *Am J Obstet Gynecol*. 2011 Jun;204(6):551.e1-9
- Parazzini F, La Vecchia C, Bocciolone L, Franceschi S: The epidemiology of endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1991 April;41(1):1-16
- Peltomäki P, Vasen H Mutations associated with HNPCC predisposition -- Update of ICG-HNPCC/INSiGHT mutation database. *Dis Markers*. 2004; 20(4-5):269-76.
- Polycystic ovary syndrome (PCOS) and endocrine disrupting chemicals (EDCs) Eleni Palioural & Evanthia Diamanti-Kandarakis. *Rev Endocr Metab Disord*. 2015 Dec;16(4):365-71. doi: 10.1007/s11154-016-9326-7
- Polyzos NP, Mauri D, Tsioras S, Messini CI, Valachis A, Messinis IE. Intraperitoneal dis-semination of endometrial cancer cells after hysteroscopy: a systematic review and meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer*. 2010;20(2):261–7
- Practice bulletin no. 136: management of abnormal uterine bleeding associated with ovulatory dysfunction. *Obstet Gynecol*. 2013;122(1):176–85
- Provenzale D, Gupta S, Ahnen DJ, Bray T, Cannon JA, Cooper G, et al. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal Version 1.2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2016; 14:1010–1030
- Purdie DM, Green AC. Epidemiology of endometrial cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2001 Jun;15(3):341-54. Review.
- Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, et al. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Res*.2014;74(11):2913–21. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0155.
- S. G. O. Clinical Practice Endometrial Cancer Working Group, Burke WM, Orr J, et al. Endometrial cancer: a review and current management strategies: part I. *Gynecol Oncol*.2014;134(2):385–92. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.05.018.
- S. G. O. Clinical Practice Endometrial Cancer Working Group, Burke WM, Orr J, et al. Endometrial cancer: a review and current management strategies: part II. *Gynecol Oncol*.2014;134(2):393–402. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.06.003.

Sakumoto T, Inafuku K, Miyara M. et al., “Hysteroscopic assessment of mid – secretory phase endometrium, with special reference to the luteal – phase defect”, *Horm. Res.*, vol.37, Suppl. 1, p.48 – 52, 1992.,

Salvesen HB, Kumar R, Stefansson I, et al. Low frequency of BRAF and CDKN2A mutations in endometrial cancer. *Int J Cancer* 2005;115:930–4

Salvesen HB, MacDonald N, Ryan A, et al. Methylation of hMLH1 in a population-based series of endometrial carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000;6:3607–13

Savelli L, Testa AC, Mabrouk M, Zannoni L, Ludovisi M, Seracchioli R, Scambia G, De Iaco P. A prospective blinded comparison of the accuracy of transvaginal sonography and frozen section in the assessment of myometrial invasion in endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2012 Mar;124(3):549-52

Shapiro S., et al., Recent and past use of conjugated estrogens in relation to adenocarcinoma of the endometrium. *New England Journal of Medicine*, 1980. 303(9): p. 485-489

Sheikh MA, Althouse AD, Freese KE, et al. USA endometrial cancer projections to 2030: should we be concerned? *Future Oncol.* 2014;10(16):2561–8. doi:10.2217/fon.14.192.

Sherman ME, Bur ME, Kurman RJ. p53 in endometrial cancer and its putative precursors: evidence for diverse pathways of tumorigenesis. *Hum Pathol* 1995; 26:1268–74.

Shoff, S.M. and P.A. Newcomb, Diabetes, body size, and risk of endometrial cancer. *American Journal of Epidemiology*, 1998. 148(3): p. 234-240

Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA*

Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, *CA Cancer J Clin.* 2016; 66:7–30. <https://doi.org/10.3322/caac.21332>.

Siiteri, P.K., Extraglandular oestrogen formation and serum binding of oestradiol: relationship to cancer. *Journal of Endocrinology*, 1981. 89(Supplement): p. 119P-129P.

Silverberg, S.G., et al., Endometrial carcinoma: clinical-pathologic comparison of cases in postmenopausal women receiving and not receiving exogenous estrogens. *Cancer*, 1980. 45(12): p. 3018-3026.

Soliman, P.T., et al., Association between adiponectin, insulin resistance, and endometrial cancer. *Cancer*, 2006. 106(11): p. 2376-2381.

Soufla G, Sifakis S, and Spandidos D.A., “FGF2 transcript levels are positively correlated with EGF and IGF-1 in the malignant endometrium,” *Cancer Letters*, vol. 259, no. 2, pp. 146–155, 2008.

Swanson, C.A., et al., Relation of endometrial cancer risk to past and contemporary body size and body fat distribution. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 1993. 2(4): p. 321-327

Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello FM, Hampel HL, Burt RW. ACG clinical guideline: genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. *AmJ Gastroenterol*. 2015;110(2):223–62. quiz 63

Talhok A, McConechy MK, Leung S, et al. A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers. *Br J Cancer* 2015;113:299–310

The Cancer Genome Atlas Research Network, Integrated Genomic Characterization of Endometrial Carcinoma, *Nature*. 2013 May 2; 497(7447): 67–73. doi:10.1038/nature12113

The writing committee on behalf of the ASTEC study group. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomized study. *Lancet*.2009;373:125–36.

Trichot C, Barthier S, Rivain AL, Prevot S, Demoulin G, Kai GS, Thubert T, Deffieux X. Diagnosis of cervical and endometrial cancer. *Rev Prat*. 2014 Jun;64(6):789-91, 794-7.

Tripodi A, De Salvo C, Ermio C, Manuzio D, Romeo G, Vadalà P. Importance of office hysteroscopy screening to diagnose endometrial carcinoma in menopausal women. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2011;32(3):303- 6.

Vanderstraeten A, Luyten C, Verbist G, Tuyaeerts S, Amant F. Mapping the immunosuppressive environment in uterine tumors: implications for immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother*. 2014;63(6):545–57. doi: 10.1007/s00262-014-1537-8

van Gool IC, Eggink FA, Freeman-Mills L, et al. POLE proofreading mutations elicit an antitumor immune response in endometrial cancer. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 3347–55.

von Gruenigen VE, Tian C, Frasure H, Waggoner S, Keys H, Barakat RR. Treatment effects, disease recurrence, and survival in obese women with early endometrial carcinoma : a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer*. 2006 Dec 15;107(12):2786-91.

Walker JL, Piedmonte MR, Spirtos NM, Eisenkop SM, Schlaerth JB, Mannel RS, et al. Laparoscopy compared with laparotomy for comprehensive surgical staging of uterine cancer: Gynecologic Oncology Group Study LAP2. *J Clin Oncol*. 2009; 27(32):5331–6.

Walker JL, Piedmonte MR, Spirtos NM, Eisenkop SM, Schlaerth JB, Mannel RS, et al. Recurrence and survival after random assignment to laparoscopy versus laparotomy for comprehensive surgical staging of uterine cancer: Gynecologic Oncology Group LAP2 Study. *J Clin Oncol*. 2012; 30(7):695–700.

Waugh A, Ross A and Wilson, “Anatomy and physiology in health and illness”, 11th edition, Churchill Livingstone, 2010

Way, S., The aetiology of carcinoma of the body of the uterus. *Journal of Obstetrics and Gynecology of the British Empire*, 1954. 61(1): p. 46-58.

Weiderpass, E., et al., Body size in different periods of life, diabetes mellitus, hypertension, and risk of postmenopausal endometrial cancer. *Cancer Causes and Control*, 2000. 11(2): p. 185-192

Weiderpass, E., et al., Risk of endometrial cancer following estrogen replacement with and without progestins. *Journal of the National Cancer Institute*, 1999. 91(13): p. 1131-1137

Weinberg LE1, Kunos CA, Zanotti KM. Lymphovascular space invasion (LVSI) is an isolated poor prognostic factor for recurrence and survival among women with intermediate- to high-risk early-stage endometrioid endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2013 Oct;23(8):1438-45.

Wethington SL, Barrena Medel NI, Wright JD, Herzog TJ. Prognostic significance and treatment implications of positive peritoneal cytology in

endometrialadenocarcinoma: Unraveling a mystery. *Gynecol Oncol.* 2009 Oct;115(1):18-25.

Wright Jr TC, Cox JT, Massad LS, Twigg LB, Wilkinson EJ, “2001 Consensus guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities”, ASCCP – Sponsored Consensus Conference, *JAMA*, 287(16), p.2120 – 2129, 2002

Wynder, E.L., G.C. Escher, and N. Mantel, An epidemiological investigation of cancer of the endometrium. *Cancer*, 1966. 19(4): p. 489-520

Yamaguchi T, Kawahara A, Hattori S, Taira T, Abe H, Sanada S, Akiba J, Nishio S, Ushijima K, Kamura T, Kage M. Cytological nuclear atypia classification can predict prognosis in patients with endometrial cancer. *Cytopathology*. 2014 May 14.

Zaino RJ, Kurman R, Herbold D, et al.: The significance of squamous differentiation in endometrial carcinoma. Data from a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer* 68 (10): 2293-302, 1991