

Il carcinoma endometriale: origini molecolari

Andrea Tinelli*, Daniele Vergara**, Giuseppe Leo***, Maurizio Pisanò***, Roberta Martignago^{□□}, Antonio Malvasi[°], Raffaele Tinelli*, Marcello Pellegrino[□], Stefania Vadrucci[□], Fabio Storelli^{°°}, Santo Marsiliante^{°°}, Michele Maffia^{°°}, Vito Lorusso^{°°°}

* Unità Operativa di Ostetricia e Ginecologia, Ospedale Vito Fazzi, Lecce

** NNL - Distretto tecnologico ISUFI (Istituto Superiore Universitario di Formazione Interdisciplinare), Università degli studi di Lecce

*** Unità Operativa di Biologia Molecolare e Oncologia Sperimentale, Ospedale Oncologico, ASL Lecce, Lecce

□ Unità Operativa di Anatomia Patologica, Ospedale Oncologico, ASL Lecce, Lecce

□□ Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche e Ambientali, Laboratorio di Anatomia Umana, Università degli Studi di Lecce, Lecce

° Dipartimento Materno-Infantile, Ospedale "Santa Maria", Bari

°° Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche e Ambientali, Università degli Studi di Lecce, Lecce

°°° Unità Operativa di Oncologia, Ospedale Oncologico ASL Lecce, Lecce

Riassunto

Il percorso che porta dall'iperplasia endometriale al carcinoma endometrioide comporta diverse alterazioni geniche; in alcuni tumori, la instabilità dei microsattelliti (IM) si verifica in seguito a ipermetilazione del promoter di hMLH1 e porta a mutazione di differenti geni bersaglio, che contengono microsattelliti, coinvolti nell'apoptosi, nella proliferazione e nella differenziazione cellulare. Anche il PTEN gioca un ruolo importante nella genesi tumorale endometriale, giacché le mutazioni di PTEN potrebbero essere dovute a IM nel 45% dei casi, a ipermetilazione del promoter nel 16% o a mancanza di eterozigosi su molti cromosomi di cellule endometriali, denominata LOH nel 24% dei casi. Questo range di mutazioni potrebbe essere responsabile dell'eterogeneità tumorale.

Un'aploidia e la coesistenza di mutazioni di PIK3CA/PTEN (presente nel 26%) potrebbe spiegare l'inattivazione di PTEN in alcuni casi di alterazione monoallelica di PTEN.

L'inattivazione di PTEN libera il segnale di PI3K-AKT e inibisce l'apoptosi cellulare, conducendo ad un aumento della crescita tumorale; la mutazione del gene β catenin si verifica nel 50% dei casi di iperplasia atipica (con differenziazione squamosa) e nel

INTRODUZIONE

Nel mondo occidentale, il carcinoma endometriale (CE) è il più comune tumore maligno del tratto genitale femminile; dopo l'incremento degli anni '70 dovuto, verosimilmente, ad un eccessivo utilizzo degli estrogeni nei contraccettivi ad alto dosaggio e nella terapia ormonale sostitutiva per le donne in postmenopausa con sindrome climaterica, l'incidenza è divenuta annualmente stabile nelle ultime due decadi (10-20 casi/100.000). Inoltre, il sempre più diffuso utilizzo del tamoxifene nel trattamento del cancro mammario è stato associato ad un aumentato rischio di carcinoma endometriale, senza tuttavia un completo accordo tra i differenti studi; nel nostro elaborato, prendendo spunto da una serie di lavori sull'origine molecolare delle neoplasie endometriali, abbiamo cercato di illustrare lo stato dell'arte dell'origine molecolare della patologia neoplastica e dei suoi precursori molecolari (1).

TIPICI DI CARCINOMA ENDOMETRIALE

Nelle passate due decadi, la tendenza è stata quella di classificare i carcinomi endometriali (CE) in due differenti tipi: il CE tipo 1 e il CE di tipo 2.

I tumori di tipo 1 sono carcinomi endometroidi (CE-E), sono circa l'80% del totale del-

le neoplasie endometriali, sono spesso preceduti da un'iperplasia complessa e atipica, associata a stimolazione estrogenica; essi colpiscono principalmente donne in pre o perimenopausa e si associano a obesità, dislipidemia, anovularietà, infertilità, e menopausa tardiva.

Tipicamente, la maggior parte dei carcinomi endometroidi sono confinati all'utero ed hanno un decorso favorevole mentre, al contrario, i tumori endometriali di tipo 2, che sono circa 10% del totale, sono forme non-endometroidi (CE-NE), originano occasionalmente da polipi o da lesioni precancerose, sovente su endometrio atrofico (neoplasie "intraepiteliali").

Dal punto di vista ormonale, i CE-NE non risultano associati a stimolazione estrogenica o a iperplasia, infiltrano precocemente il miometrio e lo spazio vascolare, dimostrano un alto rischio di mortalità; è stato inoltre osservato che le alterazioni molecolari coinvolte nell'evoluzione dei CE-E sono diverse da quelle dei CE-NE (2).

PATOLOGIA MOLECOLARE DEI CANCRI ENDOMETRIALI

Da quanto emerge dalla letteratura scientifica, al fine di spiegare l'origine molecolare dei CE, è stato proposto un modello di carcino-

20% dei carcinomi endometrioidi.

Le mutazioni che non presentano nessuna relazione con IM, PTEN o k-RAS si correlano, comunque, con l'iperespressione di MMP-7 e Ciclin D1 e si riscontrano più frequentemente nei tumori precoci con buona prognosi, ma il loro significato clinico non è stato ancora chiarito.

I carcinomi non-endometrioidi sono caratterizzati da mutazioni di p53 che probabilmente conducono ad instabilità cromosomica e di conseguenza a LOH o ad amplificazioni di vaste regioni cromosomiche e potrebbero anche derivare da carcinomi endometrioidi con IM attraverso la progressione tumorale e le conseguenti mutazioni di p53.

Parole chiave

Carcinoma endometriale
Genetica tumorale
Apoptosi
Oncologia ginecologica
p53
PTEN

Summary

Endometrial Carcinoma: Molecular Origins

Several genetic mutations occur from endometrial hyperplasia to endometrioid carcinoma; in some tumors, "microsatellite instability" (MI) results from promoter hypermethylation of hMLH1 and leads to mutations in several critical target genes, containing microsatellites, involved in apoptosis, cell proliferation and differentiation. PTEN plays also a role in endometrial tumorigenesis from hyperplasia to carcinoma, since it could result from MI (in 45% of cases), to a promoter hypermethylation (in 16%) or to a loss of heterozygosity on several chromosomes or LOH (in 24%).

These range of mutations would be responsible for tumor heterogeneity.

PTEN haplo-insufficiency and coexistent PIK3CA/PTEN mutations (in 26% of cases) may account for PTEN inactivation in some of the cases with only a monoallelic PTEN alteration.

PTEN inactivation releases the PI3K-AKT pathway, inhibiting apoptosis and resulting in a tumor easily growth; β catenin gene mutation occurs in 50% of atypical hyperpla-

genesi endometriale di tipo dualistico: secondo tale modello, alcune cellule endometriali normali si trasformerebbero in CE-E per errori di replicazione cellulare denominati "instabilità dei microsatelliti" (IM), con conseguente accumulo di mutazioni in oncogeni e in geni oncosoppressori, mentre, nella seconda ipotesi, le alterazioni della p53 e la mancanza di eterozigosi su molti cromosomi di cellule endometriali (LOH) guiderebbero il processo di trasformazione neoplastica nell'acquisizione di un fenotipo di CE-NE (3).

Esistono molte evidenze in favore di queste due patogenesi; la maggior parte degli CE-E a basso grado di differenziazione esprimono recettori per gli estrogeni ma non la mutazione della p53 e, nel 25-30% dei casi, sono presenti anche delle IM.

Al contrario, la maggior parte dei CE-NE non presentano immunoreattività per il recettore degli estrogeni o la presentano debolmente, ma sono fortemente positivi all'immunoreazione per p53 senza evidenziare IM (3).

Nonostante tale modello dualistico che spieghi l'origine dei due tipi di CE sembra applicabile sia a livello clinico che molecolare, ci sono, ovviamente, delle eccezioni determinate dalla notevole sovrapposizione nelle caratteristiche cliniche, patologiche, immunostochimiche e molecolari dei tumori; è stato, per esempio, dimostrato che, occasionalmente, dei CE-NE potrebbero svilupparsi da forme precoci di CE-E, come il risultato di una progressione tumorale e, ovviamente, questi tumori ne condividerebbero le caratteristiche patologiche e molecolari di entrambe le neoplasie (4).

ALTERAZIONI MOLECOLARI DEI CARCINOMI ENDOMETRIOIDI DELL'ENDOMETRIO

In letteratura, sono state già descritte 4 principali alterazioni molecolari presenti nel CE-E: le IM, presenti nel 25-20% dei casi 5-7, le mutazioni di *P-TEN* nel 30-60% 8-15, le mutazioni di *k-RAS* nel 10-30% 16-20 e le mutazioni della β catenin (CTNNB1) con accumulo di proteine nucleari, nel 25-38% dei casi (21). Nonostante le IM e le mutazioni di PTEN o k-RAS possono, in molti casi, tutte e tre coesistere, queste alterazioni molecolari non sono solitamente associate con anomalie della β catenin (21).

INSTABILITÀ DEI MICROSATELLITI (IM)

L'IM è stata inizialmente osservata nei cancri del colon retto di pazienti con sindrome ereditaria del cancro del colon poliposi negativo (HNPCC), ma anche in alcuni cancri sporadici del colon; il CE, tuttavia, è il secondo tumore maggiormente riscontrato nei pazienti con diagnosi di HNPCC e un'im è stata dimostrata nel 75% dei CE associati a HNPCC, ma anche nel 25-30% degli CE sporadici (5-7).

L'IM si verifica più frequentemente nei CE-E piuttosto che nei CE-NE; ad ulteriore conforto dell'ipotesi dualistica di carcinogenesi endometriale suddetta, un gruppo di ricercatori ha studiato la presenza di IM in 42 CE sporadici (5).

Il risultato della ricerca evidenziava il concetto che la IM è una anomalia genica dei CE presente nel 28% dei casi valutati, più frequente presente in casi di CE-E (33%) che in CE-NE (11%); inoltre, l'occasionale riscontro di IM in CE-NE, la mancanza di una correlazione inversa tra p53 e IM e la frequente coesistenza di neoplasie esprimenti caratteristiche patologiche, immunostochimiche e molecolari di forme miste (CE-E e CE-NE), farebbe supporre che i singoli tumori non necessariamente seguono il così detto modello dualistico della carcinogenesi endometriale (5).

CONSEGUENZE MOLECOLARI DELLE IM NEI CARCINOMI ENDOMETRIOIDI

Alcune ricerche hanno dimostrato che i carcinomi che esprimono delle IM, i così detti "fenotipi mutanti", presentano un difettoso "mismatch repair" che conduce all'accumulo di mutazioni in sequenze mononucleotidiche codificanti alcuni oncogeni e geni oncosoppressori.

Il recettore di tipo II del *transforming growth factor beta* (TGF β -RII), il BAX, il recettore di tipo II dell'*insulin-like growth factor* (IGF-RII), l'hMSH3 e l'hMSH6, sono entrambi ipotetici target di questo fenomeno; queste mutazioni vengono interpretate come eventi secondari del pathway del fenotipo mutante nei carcinomi con IM (22-26).

I risultati di uno studio indicano che le "mutazioni frameshift", che si verificano nelle ripetizioni mononucleotidiche codificanti questi ipotetici geni bersaglio, sono abbastanza

sias (with squamous differentiation) and in 20% of endometrioid carcinomas.

Mutations unrelated to MI, PTEN or K-RAS mutations, however, they are associated with good prognosis tumors, but their clinical significance is not well established.

Non endometrioid carcinomas are characterized by p53 mutations, which probably result in chromosome instability and subsequent LOH or amplifications of large chromosomal regions and they may also derive from endometrioid carcinoma with MI through tumor progression and subsequent p53 mutations.

Key words

Endometrial carcinoma

Tumor genetic

Gynaecological oncology

p53

PTEN

frequenti nei CE che presentano IM; mutazioni in uno o più di questi microsatelliti sono state riscontrate nel 66,6% delle neoplasie valutate nello studio (26).

Un risultato interessante dello studio suddetto è il fatto che le mutazioni individuate erano tutte eterogeneamente distribuite nei tumori valutati e sono state trovate in alcune aree del tumore ma non in altre; secondo questa evidenza, l'eterogenea distribuzione delle mutazioni potrebbe suggerire che potrebbero essere coinvolte nella progressione neoplastica secondo una logica attualmente non comprensibile.

Secondo questa ipotesi, la velocità di crescita determinata da ogni specifica combinazione di mutazioni in una particolare area della neoplasia, potrebbe condurre ad un eccessivo sviluppo rispetto ad altri subcloni tumorali.

In un precedente studio è stato ipotizzato che delle mutazioni frameshift del BAX potrebbero giocare un ruolo importante nella progressione dei CE con IM (25).

Tale speculazione si basava sull'ipotesi che la presenza nei tumori di mutazioni inattivanti BAX spiegherebbe la bassa frequenza di mutazioni della p53 nelle neoplasie associate con IM, probabilmente dovuta alla riduzione della pressione selettiva per le mutazioni di p53, durante la progressione tumorale.

In presenza di mutazioni del BAX, le mutazioni di p53 non sarebbero necessarie per inibire la transattivazione di BAX.

Per fornire un ulteriore sostegno a questa ipotesi, è stato confrontato il pattern di mutazioni in CE primari con le metastasi linfonodali (26): in due casi, delle mutazioni del BAX sono state trovate nei CE primari ma non nelle loro metastasi linfonodali, ipotizzando che i subcloni tumorali che esprimono BAX non sono verosimilmente responsabili della disseminazione neoplastica.

Al contrario, mutazioni frameshift di IGFIIR, riscontrate in tre siti tumorali metastatici, solo in un caso esprimevano anche la mutazione nella neoplasia primitiva corrispondente. Il frequente riscontro di queste mutazioni nei tumori o nei siti metastatici, supportava dunque l'ipotesi che le mutazioni di IGFIIR potessero essere correlate alla progressione della neoplasia endometriale in una forma con IM (26).

L'IM È SECONDARIA ALL'ALTERATA METILAZIONE DEL DNA

Come precedentemente accennato, la instabilità dei microsatelliti è stata inizialmente riscontrata nel carcinoma del colon retto in pazienti con HNPCC, ma anche in alcuni cancri del colon sporadici.

In questi pazienti, mutazioni germinali e somatiche dei geni MSH2 e MLH1 sono state riscontrate nei cromosomi 2p e 3p (27); comunque, la frequenza di mutazioni del tipo "mismatch repair" in geni di carcinomi sporadici del colon, gastrici ed endometriali che presentano una IM è molto bassa e ciò suggerisce che devono essere coinvolti altri meccanismi di inattivazione genica (28).

E' stato recentemente descritto che ipermetilazioni del promoter MLH1 potrebbero portare a perdita dell'espressione di MLH1 e conseguente evoluzione di IM in CE (29).

In una ricerca sono state riscontrate delle ipermetilazioni del promoter MLH-1 in 11 dei 12 CE valutati con IM (91% dei casi), ma in nessuno dei tumori negativi per IM; inoltre, una ipermetilazione del promoter MLH-1 è stata riscontrata in 8 dei 116 casi di iperplasia endometriale (7%), quasi esclusivamente limitata a iperplasia atipica con coesistente carcinoma.

I dati suggeriscono che l'ipermetilazione di MLH-1 potrebbe essere un evento precoce nella patogenesi dei CE-E, che precede l'evoluzione di IM (30).

L'identificazione di una metilazione di isole cpg in vari geni (p16, TSP-1, IGF-2, HIC-1 e MLH-1) nelle neoplasie con IM, potrebbe far supporre che un'alterata metilazione potrebbe essere la causa preliminare nell'evoluzione dei microsatelliti di fenotipi mutanti (30).

MUTAZIONI DI PTEN

Il gene di soppressione tumorale chiamato PTEN, anche denominato MMAC1 (gene mutato in molti cancri avanzati) è localizzato sul cromosoma 10q23.3 (31).

Si potrebbe pensare che i geni codificanti delle proteine fosfatasi, come PTEN, agiscano come geni oncosoppressori, considerando che le loro proteine potrebbero neutralizzare gli effetti delle proteine codificate da protooncogeni, codificanti proteine chinasi.

L'oncoproteina PTEN inibisce la proliferazione cellulare e promuove l'apoptosi, median-

te defosforilazione di PIP3 (fosfatidil-inositolo-3-fosfato), neutralizzando l'attività di PI3K e la seguente attivazione di AKT/protein chinasi B; inoltre è stato dimostrato che PTEN è coinvolto, in vitro, nell'adesione e migrazione cellulare mediante FAK.

Approssimativamente il 43% dei tessuti endometriali apparentemente normo-proliferativi contiene occasionalmente ghiandole senza PTEN (circa 1% delle ghiandole endometriali) (15); normalmente, l'espressione di PTEN aumenta in seguito a stimolazione estrogenica, per cui le ghiandole PTEN-negative dimostreranno un'insufficiente risposta oncosoppressiva agli estrogeni.

Nonostante ghiandole PTEN-negative presentino mutazioni di PTEN, esse esprimono recettori per estrogeni e progesterone e possono quindi subire involuzioni selettive in seguito al trattamento con progestinici, come le ghiandole con PTEN intatto (15).

Mutazioni somatiche di PTEN sono comuni nei CE e sono quasi esclusivamente limitate ai CE-E, essendo presenti nel 37-61% dei casi (8-14); molti ricercatori hanno inoltre trovato una concordanza tra lo stato di IM e le mutazioni di PTEN.

Delle mutazioni del PTEN sono presenti nel 60-86% dei CE positivi per IM, ma solo nel 24-35% dei tumori negativi per IM: questo risultato ha condotto la speculazione che la PTEN potrebbe essere un possibile candidato come target per le mutazioni nei CE positivi per IM.

Recentemente delle mutazioni di PTEN sono state riscontrate in iperplasie endometriali con o senza atipica, nel 19% e 21% dei casi, rispettivamente, entrambi attualmente considerate precursori delle lesioni dei CE-E; inoltre, identiche mutazioni di PTEN sono state riscontrate in coesistenti iperplasie e nei CE-E positivi per IM, suggerendo che le mutazioni di PTEN possono essere eventi precoci nello sviluppo di CE-E. (13-14).

In uno studio condotto su 38 CE, sono state evidenziate mutazioni di PTEN nel 44,7% dei casi, dato ampiamente nel range degli studi precedentemente effettuati (32-55%); le mutazioni di PTEN erano più frequentemente riscontrate nei CE-E (51,5%) piuttosto che nei CE-NE.

Inoltre delle mutazioni di PTEN sono state riscontrate più comunemente nei tumori posi-

tivi per IM (60% dei casi) rispetto alle neoplasie senza IM (34,8%); un dato molto interessante emerso da questo studio è che delle mutazioni di PTEN sono state riscontrate in alcuni codoni mononucleotici ripetitivi brevi (A) 5 e (A) 6 in quattro dei 10 CE con IM (40% del totale) (14).

Queste mutazioni frameshift potrebbero avere lo stesso significato delle mutazioni che si verificano nei: BAX, TGF-, RII, IGFIIR, MSH3, o MSH6; si può dunque ipotizzare che le mutazioni di PTEN (A) 5 e (A) 6 potrebbero essere secondarie ad un mismatch repair inefficiente, che conduce allo sviluppo di IM, spiegando quindi l'alta frequenza di PTEN.

Difatti, delle mutazioni a livello di tratti mononucleotici brevi (A) 5 e (A) 6 sono già state precedentemente riscontrate nei CE con IM 14; è stato inoltre osservato che delle mutazioni di PTEN (al di fuori degli esoni 5 - 7) si verificano più frequentemente nei carcinomi a basso grado e stadio associati ad una buona prognosi.

L'inattivazione di PTEN non è limitata alle mutazioni di PTEN e l'inattivazione del secondo allele può risultare da altri meccanismi genetici o epigenetici, come l'LOH o l'ipermetilazione del promotore; in uno studio è stato riscontrato LOH nel 24% dei casi, e ipermetilazioni del promoter nel 16%. Un allele inattivato è stato indentificato nel 58% ma due alleli inattivi solo nel 26% (31).

Teoricamente, l'inattivazione di PTEN potrebbe richiedere due alleli inattivi, ma si potrebbe non trovare la seconda inattivazione nel 74% dei casi e questo potrebbe essere dovuto a problemi tecnici o a insufficienze genetiche aploidi.

Recentemente è stato suggerito che l'inattivazione di un solo allele di PTEN potrebbe essere sufficiente ad attivare il pathway di PI3K/AKT; la subunità catalitica α di PI3K (p110 α) è codificata dall'oncogene PIK3CA (sul cromosoma 3q26.3) (31).

Sia amplificazioni di questo locus che mutazioni somatiche di PIK3CA, sono state identificate in diversi tumori; recentemente, un'elevata frequenza di mutazioni coesistenti di PIK3CA e PTEN sono state riportate in 66 carcinomi endometriali (26%); mutazioni di PIK3CA (principalmente nell'esone 20) sono state riscontrate nel 36% dei casi (31).

In questo studio, mutazioni di PIK3CA si so-

no dimostrate più comuni nei tumori con mutazioni di PTEN (46%) rispetto a quelli senza mutazione di PTEN (24%); abolendo l'espressione di PTEN nelle linee cellulari HEC-1A che presentano mutazioni di PIK3CA, si aumenta la fosforilazione di AKT e ciò sta ad indicare che la doppia mutazione PIK3CA e PTEN ha un effetto additivo sull'attivazione di PI3K (31).

MUTAZIONI DI K-RAS

Le mutazioni di K-RAS sono state identificate nel 10-30% dei CE rispetto a circa il 40-50% dei carcinomi del colon; nonostante alcuni autori non siano ancora riusciti a dimostrare una correlazione tra mutazioni di K-RAS e lo stadio, il grado, la profondità d'invasione, l'età o gli outcome clinici nei CE, altri hanno descritto associazioni tra k-RAS e coesistenza di iperplasia endometriale, metastasi linfonodali e outcome clinici in pazienti in postmenopausa con più di 60 anni (16-20).

Inoltre alcuni autori hanno riportato un'assenza quasi completa di mutazioni di K-RAS nei CE sieropapilliferi e nei CE a cellule chiare dell'endometrio.

In uno studio effettuato su una campione di 58 CE, le mutazioni di K-RAS si verificavano nel 18,9% delle neoplasie, tutte CE-E, con frequenza di mutazioni di K-RAS più elevata nei CE positivi per IM (42,8%) rispetto ai tumori negativi per IM (11,3%); tale dato sembrerebbe indicare che almeno in questo campione, le mutazioni di K-RAS sono comuni nei CE con microsatelliti di fenotipi mutanti (20).

MUTAZIONI DI BETA-CATENIN

I geni della β catenin (CTNBN1) si trovano sul cromosoma 3p21; la β catenin sembra essere importante per l'attività funzionale sia di APC che di E-caderin (33).

Mutazioni nell'esone 3 della β catenin portano a stabilizzazioni della proteina, accumuli citoplasmatici e nucleari, alla partecipazione alla trasduzione di segnale e all'attivazione della trascrizione attraverso la formazione di complessi con le proteine leganti il DNA.

Mutazioni della β catenin con accumulo di proteine nel nucleo avviene nel 25-28% dei CE-E e sembrano essere indipendenti dalla presenza di IM (21).

È stato suggerito che le mutazioni dei geni di β catenin si verificano più frequentemente nei

primi stadi dei tumori associati a prognosi buona; comunque, il loro significato clinico non è stato ancora chiarito.

All'esame immunostochimico (IHC) i tumori che presentano mutazioni generalmente mostrano un accumulo nucleare focale, particolarmente nella componente squamosa (morule); meno frequentemente questi tumori mostrano un normale pattern di membrana e, in questi casi, è possibile speculare che l'aumento della β catenin è sufficiente ad attivare il *Wnt pathway*, insufficiente per l'*immunostaining*.

Occasionalmente CE con suddette mutazioni, esibiscono una diffusione vasta e aggressiva.

Nel 17% dei 10 casi senza mutazioni del gene β catenin, è stato riscontrato un accumulo nucleare attraverso l'esame di IHC; ciò potrebbe essere dovuto a problemi tecnici che limitano l'analisi della mutazione all'esone 3 o ad alterazioni di altri geni che potrebbero interferire con i livelli di β catenin, ad esempio PTEN e RAS, l'inattivazione di APC o l'inattivazione di AXIN.

Comunque, nessuna correlazione è stata ancora trovata con le mutazioni di PTEN o RAS. Non sono state riscontrate mutazioni di APC e, anche se sono state riscontrate altre alterazioni come le LOH (25%) e l'ipermetilazione del promotore (45%), nessuna correlazione è stata dimostrata con l'espressione della β catenin (34).

Inoltre non è stata trovata nessuna mutazione di AXIN; così, ad oggi, non conosciamo le cause dell'accumulo nucleare di β catenin in assenza di mutazioni.

Recentemente, in uno studio sono state valutate le alterazioni β catenin (insieme alle mutazioni di PTEN e k-RAS ed a IM) in 25 casi di iperplasia endometriale con e senza differenziazione squamosa immatura (morule squamose); in tutti i casi con morule è stato ottenuta una forte impregnazione nucleare per la β catenin e la metà dei casi presentava mutazioni mis-sense di CTNNB1 (35).

In ogni caso, non sono state identificate mutazioni di PTEN, né di K-RAS, né di IM.

Al contrario, solo un'iperplasia atipica senza differenziazione squamosa presentava mutazione del gene β catenin, mentre le mutazioni di PTEN e K-RAS erano quelle più comuni (36% del totale) (35).

È stata quindi trovata una marcata differenza del profilo genetico nell'iperplasia atipica con e senza metaplasia squamosa e i risultati di alcuni studi suggeriscono che le mutazioni β catenin potrebbero rappresentare una via di segnale che porta a distinte morfologie (morule squamose), indipendentemente da mutazioni di PTEN o K-RAS.

In relazione alla prognosi, nessuno dei casi con morula squamosa e mutazioni del gene β catenin avevano sviluppato un carcinoma endometriale, mentre 7 delle 11 iperplasie senza morule presentava carcinoma sul campione (dopo isterectomia) (35).

CARCINOMI NON-ENDOMETRIOIDI

A differenza dei CE-E caratterizzati da IM, i carcinomi non endometrioidi o CE-NE generalmente subiscono perdite (LOH) o incrementi (amplificazioni) di ampie regioni cromosomiche.

L'instabilità cromosomica potrebbe essere dovuta alla perdita dell'integrità della p53.

L'LOH è stato trovato più spesso in molte regioni cromosomiche dei CE-NE rispetto ai CE-E; per esempio un LOH a livello 16q22 (la regione che contiene il gene E-caderin, CDH1) si verifica più frequentemente nei CE-NE (57%) rispetto ai CE-E (22%); questa scoperta si correla con la ridotta espressione di E-caderin, come evidenziato nell'IHC.

Una ridotta espressione di E-caderin si associa ad invasività e cattiva prognosi della neoplasia.

Inoltre le amplificazioni sono più comuni nei CE-NE rispetto agli endometrioidi (36).

Ciclin D1 e Ciclin E, raramente sono amplificate nei CE, ma molto spesso si associano ai carcinomi sierosi e la loro amplificazione è mutuamente esclusiva.

Sono stati utilizzati dei cDNA arrays per trovare differenze nei profili di espressione genica tra CE-E e CE-NE: più di 55 geni si esprimevano in modo diverso; mentre nei carcinomi endometrioidi "l'up-regulation" genica è sotto il controllo degli estrogeni, nei CE-NE tre dei geni up-regolati (Ciclin B2, STK15, e BUB1) sono coinvolti nel controllo del fuso mitotico.

È stato selezionato l'oncogene STK15, che è amplificato in vari carcinomi che presentano aneuploidia, una tipica caratteristica dei carcinomi non-endometrioidi.

Con la tecnica FISH è stato amplificato l'STK15 in circa il 60% dei CE-NE ma in nessuno dei CE-E; questa è la più alta frequenza di amplificazione di STK15 riscontrata in qualsiasi tipo di cancro (37).

BIOLOGIA MOLECOLARE E POSSIBILE TRATTAMENTO CONSERVATIVO DEL CANCRO ENDOMETRIALE

La gestione conservativa del cancro endometriale è possibile, con nessun rischio di avanzamento della neoplasia e decesso della paziente.

Nello stadio IA, con p53 e recettori del progesterone regolarmente conservati, si può attuare il trattamento con progesterone, previa stadiazione della neoplasia con rmn e lps eventuale (linfadenectomia pelvica, positiva nel 10% dei casi circa) (37).

In casi di mancanza di anomalie molecolari, è anche possibile asportare con isteroscopia la neoplasia, se confinata, singola (non multifocale) e non approfondante nel miometrio; il follow up, però, deve essere accurato (38-40). Il 70% delle pazienti trattate con terapia farmacologica e chirurgica conservativa hanno delle buone risposte, mentre il 30% presenta una recidiva tumorale (41).

La linfadenectomia del cancro endometriale ha solo indicazione stadiale, non curativo; conviene sempre farla, soprattutto negli stadi iniziali, giacché il 10.8% delle pazienti affette da CE presentano, occasionalmente, linfonodi metastatici (cancro occasionale) (41).

CONCLUSIONI

Il cancro dell'endometrio del tipo I o endometrioidi è una neoplasia molto diffusa e trattata e, dal punto di vista molecolare, dimostra instabilità dei microsatelliti o im nel 20-30% dei casi e un'inattivazione/deattivazione di: pten nel 30-60% dei casi, pcatenine nel 28-35% dei casi, PIK3CA nel 25% dei casi, K-RAS nel 10-30% dei casi. Il cancro endometriale di tipo II o non endometrioidi, nasce invece su un endometrio atrofico, è spesso scarsamente differenziato (di grado III) e dimostra il seguente pattern genetico: mutazioni della p53, mancanza di eterozigosi su molti cromosomi di cellule endometriali (LOH) e un'instabilità cromosomale.

La PTEN è una oncoproteina sempre mutata nel cancro endometriale (mediante PIK3CA),

mentre l'IM è determinata da molte mutazioni associate e visibili con elettroforesi capillare, evidenti in casi di: mismatch repair genico (MMC), mutazioni frameshift nei geni bersaglio, sindrome di HPNNC e cancro sporadici.

In questi ultimi casi, la mutazione MLH1 dei geni riparatori è presente nel 100% delle neoplasie, mentre solo il 50% delle mutazioni di MHL1 dimostrano un'im, che è il punto critico per la trasformazione da iperplasia a cancro; i geni mutati più frequentemente, infine, in caso di cancro endometriale sporadico, sono: BAX, RIZ, IGFR II, MSH 3 e 6, caspasi.

BIBLIOGRAFIA

- Münstedt K, Phillip Grant P, Joachim Woenckhaus J, Gabriele Roth G, Tinneberg HR. Cancer of the endometrium: current aspects of diagnostics and treatment. *World J Surg Oncol* 2004;2:24
- Tinelli A, Vergara D, Leo G, Moschetti G, Pisanò M, Lorusso V, Forcignanò RC, Malvasi A, Casciaro S, Pitotti E, Vergari U, Storelli F, Marsiliante S. Carcinoma endometriale: aspetti genetici. *Riv Ost Gin Prat e Med Per* 2006; 21(3):2-8
- Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1983;15:10-17
- Lax SF, Kurman RJ. A dualistic model for endometrial carcinogenesis based on immunohistochemical and molecular genetic analysis. *Verh Dtsch Gen Path* 1997; 81:228-232
- Catasus LL, Machin P, Mathias-Guiu X, Prat J. Microsatellite instability in endometrial carcinomas. Clinicopathologic correlations in a series of 42 cases. *Hum Pathol* 1998; 29:1160-1164
- Duggan BD, Felix JC, Munderspach LI, Tourgeman D, Zheng J, Shibata D. Microsatellite instability in sporadic endometrial carcinoma. *J Nat Cancer Inst* 1994; 86:1216-1221
- Tashiro H, Blazes MS, Wu R. Mutations in PTEN are frequent in endometrial carcinoma but rare in other common gynaecological malignancies. *Cancer Res* 1997; 57: 3935-3940
- Tashiro H, Isacson C, Levine R, Kurman RJ, Cho KR, Hedrick L. P53 gene mutations are common in uterine serous carcinoma and occurs early in their pathogenesis. *Am J Pathol* 1997; 150:177-185
- Sherman ME, Sturgeon S, Brinton LA, Pottschman N, Kurman RJ, Berman ML. Risk factors and hormone levels in patients with serous and endometrioid uterine carcinomas. *Mod Pathol* 1997; 10:963-968
- Caduff RF, Johnston CM, Svoboda-Newman SM, Poy EL, Merajver SD, Frank TS. Clinical and pathological significance of microsatellite instability in sporadic endometrial carcinoma. *Am J Pathol* 1996; 148:1671-1678
- Levine RL, Cargile CB, Blazes MS, van Rees B, Kurman RJ, Hedrick Ellenson L. PTEN Mutations and microsatellite instability in complex atypical hyperplasia, a precursor lesion to uterine endometrioid carcinoma. *Cancer Res* 1998; 58:3254-3258
- Lin WM, Forgacs E, Warshal DP, Yeh IT, Martin JS, Ashfaq R, Muller CY. Loss of heterozygosity and mutational analysis of the PTEN/MMAC1 gene in synchronous endometrial and ovarian carcinomas. *Clin Cancer Res* 1998; 4:2577-2583
- Maxwell GL, Risinger JI, Gumbs C. Mutation of PTEN tumor suppressor gene in endometrial hyperplasias. *Cancer Res* 1998; 58:2500-2503
- Bussaglia E, del Rio E, Matias-Guiu X, Prat J. PTEN mutations in endometrial carcinomas. A molecular and clinicopathological analysis of 38 cases. *Hum Pathol* 2000; 31:312-317
- Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Nat Cancer Ins* 2000; 92:924-930
- Enomoto T, Inoue M, Perantoni AO. K-RAS activation in premalignant and malignant epithelial lesions of the uterus. *Cancer Res* 1991; 51:5308-5314
- Enomoto T, Fujita M, Inoue M. Alterations of the p53 tumor suppressor gene and its association of the K-RAS protooncogene in premalignant and malignant lesions of the human uterine endometrium. *Cancer Res* 1993; 53:1883-1888
- Duggan B, Felix J, Munderspach L, Tsoo J, Shibata D. Early mutational activation of the c-Ki-ras oncogene in endometrial carcinoma. *Cancer Res* 1994; 54: 1604-1607
- Esteller M, Garcia A, Martinez-Palones JM, Xercavins J, Raventos J. The clinicopathological significance of the K-RAS point mutation and gene amplification in endometrial cancer. *Eur J Cancer* 1997; 33:1572-1577.
- Lagarda E, Catasus LI, Arguelles R, Matias-Guiu X, Prat J. K-RAS mutations in endometrial carcinoma with microsatellite instability. *J Pathol* 2001; 193:193-199.
- Machin P, Catasus LI, Pons C, Munoz J, Matis Guiu X, Prat J. CTNBN1 mutations and beta-catenin expression in endometrial carcinomas. *Hum Pathol* 2002; 33:206-212
- Ouyang H, Shiwaku HO, Hagiwara H, Miura K, Abe T, Kato Y. The insulin-like growth factor II receptor gene is mutated in genetically unstable cancers of the endometrium, stomach and colonrectum. *Cancer Res* 1997; 57:1851-1854
- Rampino N, Yamamoto H, Ionov Y, Li Y, Sawai H, Reed JC. Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Science* 1997; 275:967-969
- Zhou XP, Hoang JM, Cottu P, Thomas G, Hamelin R. Allelic profiles of the mononucleotide repeat microsatellites in control individuals and in colorectal tumors with and without replication errors. *Oncogene* 1997; 15:1713-1718
- Catasus LI, Matis-Guiu X, Machin P, Munoz J, Prat J. BAX somatic frameshift mutations in endometrioid adenocarcinomas of the endometrium: evidence for a tumor progression role in endometrial carcinomas with microsatellite instability. *Lab Investigation* 1998; 78:1439-1444
- Catasus LI, Matias-Guiu X, Machin P, Zanoni GF, Scambia G, Benedetti Panici P, Prat J. Frameshift mutations at coding mononucleotide repeat microsatellites in endometrial carcinomas with microsatellite instability. *Cancer* 2000; 88:2290-2297
- Rhyu MS. Molecular mechanism underlying hereditary non-polyposis colorectal carcinoma. *J Nat Cancer Inst* 1996; 88:240-251.
- Katabuchi H, van Rees B, Lambers AR, Ronnet BM, Blazes MS, Leach FS, Cho KR, Hedrick L. Mutations in DNA mismatch repair genes are not responsible for microsatellite instability in most sporadic endometrial carcinomas. *Cancer Res* 1995; 55:5556-5560
- Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med* 2003; 349:2042-2054
- Esteller M, Catasus LI, Matis-Guiu X, Prat J, Baylin SB, Herman JG. Hmlh1 promoter hypermethylation is an early event in human

- endometrial tumorigenesis. *Am J Pathol* 1999; 155:1767-1772
31. Li J, Yen C, Liaw D. PTEN, a putative tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast and prostate cancer. *Science* 1997; 275:1943-1946
32. Oda K, Stokoe D, Taketani Y, McCormick F. High frequency of coexistent mutations of PIK3CA and PTEN genes in endometrial carcinoma. *Cancer Res* 2005; 65:1943-1946
33. Ilyas M. Wnt signalling and the mechanistic basis of the tumor development. *J Pathol* 2005; 205:130-144
34. Moreno-Bueno G, Hardisson D, Sanchez C, Sarrío D, Cassia R, Garcia-Rostan G, Prat J, Guo M, Herman JG, Matias-Guiu X, Esteller M, Palacios J. Abnormalities of the APC/beta-catenin pathway in endometrial cancer. *Oncogene* 2002; 21:7981-7990
35. Brachtel E, Sanchez C, Moreno G, Prat J, Palacios J, Oliva E. Distinct molecular alterations in complex endometrial hyperplasia (CEH) with and without immature squamous metaplasia (squamous morules). *Am J Surg Pathol* 2005; 29:1322-1329
36. Moreno-Bueno G, Hardisson D, Sarrío D, Sanchez C, Cassia R, Prat J, Herman JG, Esteller M, Matias-Guiu X, Palacios J. Cyclin D1 gene (CCND1) mutations in endometrial cancer. *Oncogene* 2003; 22:6115-6118
37. Fiona L, Evans G. Molecular genetics and endometrial cancer. *Best Pract Res Obstet Gynaecol* 2001;15(3):355-63
38. Rajagopalan H, Bardelli A, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature* 2002;418:934-937
39. Mutch DG, Powell MA, Mallon MA, Goodfellow PJ. RAS/RAF mutation and defective DNA mismatch repair in endometrial cancers. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:935-42
40. Miyamoto T, Watanabe J, Hata H, Jobo T, Kawaguchi M, Hattori M, Saito M, Kuramoto H. Significance of progesterone receptor-A and -B expressions in endometrial adenocarcinoma. *J Ster Bioch & Mol Biol* 2004;92:111-118
41. Rose PG. Endometrial carcinoma. *N Eng J Med* 1996;335(9):640-649.