



RACCOMANDAZIONI PER LA DIAGNOSTICA ANATOMO-PATOLOGICA DEL CARCINOMA DELL'ENDOMETRIO

A cura di: Giancarlo Abbona, Josephine Prestipino, Marisa Ribotta, Carla Zavattero

Approvato dal Gruppo di Studio sui Tumori Ginecologici

Partecipanti:

Vincenzina Amodei, Alberto Arnulfo, Maggiorino Barbero, Giovanna Paola Bellotti, Paola Bergnolo, Carlo Bocci, Maurizio Brusati, Marco Camanni, Saverio Danese, Alberto Daniele, Elena Delmastro, Elena Maria Del Piano, Elvira De Marino, Marinella Destefanis, Gianna Di Costanzo, Vincenzo Distratis, Antonio Durando, Annamaria Ferrero, Luca Fuso, Davide Gallina, Nicola Ghione, Paola Francesca Giunta, Lucia Grassi, Gianluca Gregori, Sergio Gribaudo, Katsaros Dionyssios, Lilliana Iskra, Giuliana Leonardi, Davide Marengo, Francesco Marocco, Guido Menato, Azzurra Ottone, Elisa Peano, Massimo Petracchini, Paola Piantanida, Elisa Piovano, Maria Antonia Polimenti, Josephine Prestipino, Stefano Prigione, Andrea Puppo, Marisa Ribotta, Roberta Rigoni, Andrea Scoletta, Alessandro Vigone, Elsa Viora, Laura Zavallone, Carla Angela Zavattero, Paolo Zola



Indice:

- 1 Introduzione
- 2 Notizie cliniche
- 3 Tipo di prelievo e modalità di invio del materiale in esame
- 4 Procedure istopatologiche su materiale bioptico
- 5 Esame intraoperatorio: indicazioni e limiti
- 6 Classificazione e stadiazione dei tumori epiteliali e misti epiteliali/mesenchimali
- 7 Descrizione macroscopica e campionamento
- 8 Descrizione microscopica
- 9 Tecniche diagnostiche ancillari (immunoistochimica / biologia molecolare)
- 10 Fattori di rischio prognostici
- 11 Diagnosi
- 12 Bibliografia

Allegato A	Raccomandazioni per le modalità di invio del materiale
Allegato B	Classificazione dei tumori epiteliali e misti epiteliali e mesenchimali (WHO 2014)
Allegato C	Stadiazione pTNM 2017/FIGO 2009
Allegato D	Grading System
Allegato E	Tecniche di campionamento
Allegato F	Referto anatomico-patologico

1 - INTRODUZIONE

Il classico modello patogenetico dualistico introdotto da Bokhman nel 1983, suddivide il carcinoma dell'endometrio in tipo I e tipo II.

La classificazione si basa su aspetti clinici, endocrini ed istopatologici e correlerebbe con la prognosi della malattia.

Il tipo I comprende neoplasie estrogeno dipendenti associate spesso ad iperplasia atipica, in pazienti con fattori di rischio quali obesità, diabete, terapia con tamoxifene; è correlato all' istotipo endometrioide G1 e G2. Si associa a mutazioni di PTEN (30-60%), K-RAS (10-30%) e MSI (20-30%).

Il tipo II comprende neoplasie non estrogeno dipendenti, che compaiono in età più avanzata, insorgono su endometrio atrofico, caratterizzate da un comportamento più aggressivo; è correlato ad istotipi di alto grado, tipicamente sieroso. Presenta mutazioni della p53 e della E-caderina nel 90% dei casi circa. (Bokhman JV, Prat J, Kurman).

Questa classificazione clinico-patologica, per quanto utile nel predire una possibile prognosi ed appropriata terapia, tuttavia non riflette appropriatamente, dopo 30 anni, la vera natura ed eterogeneità della neoplasia endometriale. Si ritiene ora che il carcinoma endometrioide di basso grado (G1 e G2) ed il carcinoma sieroso di alto grado debbano essere considerati i prototipi estremi clinici e molecolari del tipo I e II, con uno spettro di tumori che presentano aspetti morfologici e fattori di rischio a volte sovrapponibili con diversità mutazionali che hanno portato all'introduzione da parte del Cancer Genome Atlas Research Network (TCGA) di una classificazione molecolare.

Per quanto riguarda la diagnosi istopatologica si fa riferimento a specifici istotipi, come indicato nella classificazione WHO (edizione 2014), che ne definisce anche i gradi di differenziazione.

Tale diagnostica svolge un ruolo cruciale nel processo di diagnosi e cura e si raccomanda che venga svolta seguendo procedure condivise e standardizzate, che riguardano sia le modalità di invio del materiale, sia le fasi di allestimento e diagnosi.

2 - NOTIZIE CLINICHE

Per agevolare la diagnosi cito/istologica il materiale inviato nel laboratorio di anatomia patologica dovrebbe essere corredato delle seguenti informazioni:

- 1) eventuale stato di gravidanza, AUB, precedenti terapie (ormonali o uso di Tamoxifene, RT, CHT), precedenti interventi chirurgici rilevanti, storia familiare di neoplasia;

- 2) esami radiologici e di laboratorio con particolare riferimento ai dati utili per le correlazioni con i reperti anatomo-patologici;
- 3) diagnosi/sospetto clinico;
- 4) precedenti biopsie;
- 5) tipo di procedura effettuata/tipo di isterectomia e l'approccio chirurgico (addominale, vaginale, laparoscopico) (preferibilmente atto operatorio);
- 6) tipo di materiale-sede del materiale opportunamente identificati (Linee Guida CAP).

3 - TIPO DI PRELIEVO E MODALITA' DI INVIO DEL MATERIALE IN ESAME

TIPO DI PRELIEVO

- 1) Prelievo citologico diretto;
- 2) prelievo istologico “alla cieca”;
- 3) prelievo istologico sotto guida isteroscopia;
- 4) resezioni chirurgiche escissionali;
- 5) free fluid e washing peritoneale.

1- Prelievo citologico diretto

- a. Spazzolamento;
- b. aspirazione;
- c. lavaggio.

Metodica poco diffusa in Italia dovuto soprattutto alle difficoltà di lettura della citologia convenzionale. Risultati incoraggianti si stanno ottenendo con la metodica in strato sottile (sensibilità per l'adenocarcinoma tra l'86 e il 100%). (B. Ghiringhello)

2- Prelievo istologico “alla cieca”

- a. Vabra / Pipelle

Bisogna ricordare che queste metodiche funzionano meglio quando la patologia è diffusa rispetto a quando è focale ed hanno il vantaggio di poter essere eseguite ambulatorialmente.

- b. Dilatazione e curettage (raschiamento)

E' una procedura che richiede ricovero ed anestesia generale con tasso di complicanze dell'1-2%.

Essendo delle metodiche biottiche alla cieca hanno il limite di avere una elevata prevalenza di falsi negativi per patologia neoplastica (3-11%) e per lesioni benigne focali endouterine (~60%). (M. Luerti).

3- Prelievo istologico sotto guida isteroscopica

L'isteroscopia attualmente è considerata il gold standard per lo studio di II livello della cavità uterina.

E' una tecnica endoscopica che consente la visualizzazione diretta dell'intera cavità uterina, la sede delle eventuali formazioni, la focalità, l'estensione della lesione e la distanza di quest'ultima dal canale cervicale. L'indagine può essere effettuata in anestesia locale, con minimo disagio per la paziente, in un'alta percentuale di casi. Quando è associata ad un prelievo biottico dell'endometrio la sua sensibilità nei confronti del carcinoma dell'endometrio è molto alta e sfiora il 100% nelle mani di un operatore esperto. (M. Luerti)

4- Resezioni chirurgiche escissionali

Isterectomia con e senza annessiectomia e linfadenectomia.

5- Free fluid e washing peritoneale

Liquido presente in cavità e/o liquido di lavaggio peritoneale al momento dell'intervento chirurgico.

MODALITA' DI INVIO DEL MATERIALE

Campione citologico

Invio dell'intera quantità di liquido prelevato in contenitori a parete rigida a chiusura ermetica. Se è prevista la consegna in laboratorio in tempi brevi conservazione in frigorifero a 4° centigradi; se prevista entro 24 ore aggiungere etanolo 50 in rapporto 1/1 (per ottenere un buon incluso). (Koss)
Per prelievi da spazzolato o aspirazione è consigliato l'utilizzo dei Kit per citologia in strato sottile.

Campione istologico (biopsie, pezzi chirurgici)

Il materiale operatorio deve essere inviato integro, senza tagli e dissezioni preliminari, in liquido fissativo (formalina al 10%), in adeguata quantità e contenitore idoneo, oppure a fresco con invio tempestivo; l'utero deve essere aperto rapidamente per facilitare la fissazione del tumore e preservarne la morfologia: il carcinoma dell'endometrio è particolarmente suscettibile all'autolisi.

Le piccole biopsie devono essere inviate in liquido fissativo in adeguato volume (formalina al 10%). (Koss)

Sottovuoto: possibile utilizzo **solo per l'invio del materiale**, di sistemi sottovuoto con controllo della conservazione, con successiva apertura e fissazione secondo i tempi e le modalità consuete.

4 - PROCEDURE ISTOPATOLOGICHE SU MATERIALE BIOPTICO

La diagnosi pre-operatoria è prevalentemente bioptica.

I campioni possono essere piccoli/invisibili: in tal caso filtrare o centrifugare.

Tutto il tessuto inviato deve essere processato per l'esame istologico. I prelievi se multipli, devono essere inviati in contenitori separati opportunamente contrassegnati e processati singolarmente.

L'adeguatezza di un campione dipende non solo dalla quantità di materiale inviato ma anche dallo scenario clinico. Uno scarso campione può contenere materiale sufficiente per la valutazione di una donna in post-menopausa con endometrio atrofico e nessuna lesione focale all'ecografia TV. Un campione di simile quantità in una donna mestrata, in peri-menopausa o addirittura post-menopausa con un endometrio ispessito è inadeguato (The Royal College of Pathologist 2015).

La diagnosi istologica generalmente viene completata su pezzo operatorio in corso di intervento chirurgico con l'esame intra-operatorio.

5 - ESAME INTRA-OPERATORIO: INDICAZIONI E LIMITI

L'esame intraoperatorio viene richiesto dall'operatore per verificare se ci sono o meno fattori ad alto rischio ed eseguire eventualmente una linfadenectomia.

Indicazione:

- esclusione di malignità in caso di iperplasia atipica su biopsia;
- definizione/conferma di istotipo e grading;
- valutazione dell'infiltrazione miometriale ed estensione;
- valutazione di interessamento cervicale ed annessiale.

Limiti dell'esame intra-operatorio:

1. Il breve tempo a disposizione per cui è possibile eseguire solo un numero limitato di campioni che non sempre riesce ad individuare una infiltrazione subdola o asserire l'ammontare della componente solida;

2. Qualità delle sezioni criostatiche che può limitare la valutazione del dettaglio cellulare;
3. L'incapacità di definire l'istotipo preciso della neoplasia sulla base delle sole caratteristiche morfologiche;
4. Diagnosi differenziale tra iperplasia atipica ed adenocarcinoma ben differenziato superficiale;
5. Le caratteristiche del campione per la presenza di adenomiosi e/o leiomiomi;
6. L'esperienza del patologo condiziona l'esame (meglio se condotto da un ginecopatologo).
(Bige, Baker, Zannoni, Kim, Li, Brun, Storms, Seidman 2003)

Esame intraoperatorio macroscopico

Da una meta-analisi comprendente 16 studi e 2567 pazienti si evince che l'accuratezza del solo esame macroscopico nella valutazione dell'*infiltrazione miometriale* risulta essere dell'87%, la specificità del 92% e la sensibilità del 75%. L'accuratezza dell'esame per l'invasione miometriale è influenzata dal grado e dimensione del tumore. E' migliore nei tumori di basso grado e con dimensioni inferiori a 2 cm e peggiore nei tumori di grado 3 (<60%) (ID Mavromatis).

Per l'*infiltrazione cervicale* diversi gruppi hanno riportato un'accuratezza variabile dal 79% al 97% ma una sensibilità bassa in quanto non si riescono ad identificare foci microscopici (Cancer Council 2014 Australia).

La dimensione del tumore è correlata all'istotipo, grado, profondità di invasione miometriale, stadio e metastasi linfonodali. Pazienti che hanno un carcinoma di basso rischio (IA endometrioides G1-G2) e diametro tumorale ≤ 3 cm hanno un basso rischio di metastasi linfonodali (Berretta R).

Esame intraoperatorio microscopico

Combinando la valutazione macroscopica a sezioni criostatiche per l'*invasione miometriale* si ottengono secondo alcuni autori risultati migliori rispetto al solo esame macroscopico: accuratezza del 95%, specificità del 99% e sensibilità del 87% (CAP 2013) (Morotti).

L'accuratezza del *grado* sulle sezioni criostatiche varia dal 58% all'86%. E' più bassa nei G1 (56%) rispetto ai G2 (80%) (Berretta R).

Dai dati esposti risulta raccomandabile eseguire sempre, anche in sede intraoperatoria, la valutazione sia macroscopica che microscopica della neoplasia.

Prelievi per esame estemporaneo intraoperatorio

In presenza di tumore macroscopico si campionano aree con apparente maggiore infiltrazione miometriale, che comprendano lo spessore totale della parete (sono sufficienti 1-2 sezioni).

In assenza di evidente tumore macroscopico eseguire almeno una sezione rappresentativa.

In caso di sospetto di invasione cervicale e/o annessiale eseguire una sezione.

La valutazione intraoperatoria è utile per stratificare il rischio tumorale perché permette la definizione dell'invasione miometriale, oltre che la conferma di istotipo e grading. (Pabashi Poddar)

I tempi di refertazione sono circa 20 min dal momento in cui il materiale giunge in Anatomia Patologica e l'invio di fax/comunicazione telefonica con il chirurgo. (Cross)

6 - CLASSIFICAZIONE E STADIAZIONE DEI TUMORI EPITELIALI E MISTI EPITELIALI/MESENCHIMALI

Classificazione

E' utilizzata la classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO 2014).

VEDI ALLEGATO B

Pare utile ricordare:

-Neoplasia mista: quando due o più istotipi (epiteliali) sono presenti in una neoplasia e ne rappresentano il 10% o più.

-Carcinosarcoma (sinonimo Tumore mulleriano misto maligno): definire ed indicare la percentuale delle componenti. *E' bene ricordare che, data l'ipotesi etiopatogenetica della malattia, vengono comunque trattati come carcinomi di alto grado.*

-Le neoplasie di tipo epiteliale sono ulteriormente classificate in:

-precursori:

Iperplasia senza atipia: priva di atipie citologiche ed architetturali.

Iperplasia atipica/Neoplasia endometriale intraepiteliale (EIN): con atipie citonucleari lievi-moderate e complessità architetturale senza franca invasione distruttiva dello stroma o crescita di tipo confluyente.

-maligne:

Carcinomi: con severe atipie citologiche, maggiore attività proliferativa epiteliale e franca invasione infiltrativa stromale o di tipo confluyente.

Stadiazione

Per la stadiazione delle neoplasie dell'utero è stata adottata la classificazione TNM sec. UICC 2017 ottava edizione e FIGO 2009.

VEDI ALLEGATO C

Le principali novità introdotte in questa edizione del TNM sono:

- il pTis è stato eliminato;
- il carcinoma intraepiteliale endometriale (EIC) deve essere considerato un cancro T1;
- le micrometastasi (< 2 mm in diametro) devono essere riportate come N1 mi e N2 mi;
- cellule tumorali isolate o piccoli clusters di cellule (< 0,2 mm in diametro) sono classificati come cellule tumorali isolate (ITC). Se sono evidenziati mediante immunistochimica sono designati come N0 (i+).

N.B. Se il numero di linfonodi in una linfadenectomia è < 6 deve essere classificato usando la classificazione patologica TNM basata sullo stadio di quei linfonodi (es. pN0, pN1), mentre la classificazione FIGO considera casi con meno di 6 linfonodi isolati e negativi come pNX. (James D, Mahul B).

7 - DESCRIZIONE MACROSCOPICA E CAMPIONAMENTO

Campione bioptico

Una volta giunto nel laboratorio di anatomia patologica verrà descritto il colore, misurato in millimetri nelle tre dimensioni o dato il diametro massimo se il campione è piccolo, e quindi posto in biocassette.

La quantità di un campione viene inoltre stimato dal suo peso:

- scarso <1/2 cassetta o < 0,5 g;
- moderato >1/2-1 cassetta o 0,5-1 g;
- abbondante > 1 cassetta o > 1 g.

Se viene identificato un polipo è necessario descriverne la misura in millimetri nelle tre dimensioni, il colore e la struttura.

Tutto il materiale pervenuto deve essere esaminato; il campionamento deve essere documentato e si raccomanda che sia riportato nel referto (ICCR).

Pezzo operatorio

VEDI ALLEGATO D

-Esame macroscopico:

Dopo avere orientato il pezzo chirurgico, utilizzando come riferimento il rivestimento peritoneale, i legamenti rotondi e gli annessi, misurare l'utero e la cervice in cm (lunghezza, larghezza e spessore) e descrivere forma e simmetria dell'organo. Se il colletto vaginale è compreso, questo è usualmente asimmetrico, descriverlo e misurarlo dove è più lungo anteriormente e posteriormente.

Descrivere la sede (parete anteriore, posteriore, corno, istmo), l'estensione longitudinale ed orizzontale, l'aspetto della neoplasia e la distanza minima dal margine vaginale.

Riportare e misurare qualsiasi apparente estensione del tumore invasivo o isolati foci interessanti la cervice. Misurare la distanza minima di un eventuale interessamento cervicale dal margine vaginale e dall'O.U.E., la massima profondità di invasione e lo spessore normale dell'adiacente parete cervicale.

-Campionamento:

Marcare con nero di china se il tumore interessa la sierosa, il margine chirurgico cervicale o vaginale. Inserire uno specillo nel canale cervicale e sondare la cavità endometriale. Sezionare con coltello a lama lunga sul piano frontale ottenendo due metà (anteriore e posteriore), poi il corpo trasversalmente con sezioni di 5 mm di spessore e la cervice longitudinalmente sino all'O.U.I.

Prelievi per esame definitivo

Vanno eseguiti dopo fissazione overnight o per 24 ore. Una fissazione prolungata può compromettere alcune reazioni immunostochimiche.

- tumore
- emi-istmo anteriore e posteriore
- endometrio indenne
- cervice anteriore e posteriore
- margine vaginale e paracervicale
- annessi
- linfonodi
- omento
- biopsie peritoneali

Tumore: almeno quattro prelievi in cui viene incluso l'intero spessore della parete e la sierosa nel punto di massima invasione miometriale.

Nel caso di biopsia positiva ma nessun tumore visibile devono essere campionati i corni e l'intero endometrio.

Margine paracervicale: se c'è interessamento cervicale da parte del tumore.

Ovaio: almeno 2 sezioni trasversali.

Salpinge: i prelievi devono comprendere l'istmo, l'ampolla ed interamente le fimbrie.

I *linfonodi* devono essere separati dal grasso e deve essere riportato il numero delle nodosità isolate da ciascuna specifica sede anatomica. Se il linfonodo è singolo deve essere riportato il diametro massimo, se multipli il diametro massimo del maggiore e del minore. Ciascun linfonodo con dimensioni superiori a 5 mm sezionato e se necessario posto in più biocassette. Devono essere processati tutti i linfonodi isolati macroscopicamente indenni in toto e preferibilmente anche il grasso residuo. Se il linfonodo è metastatico è sufficiente eseguire un prelievo rappresentativo.

Omento: un campione è sufficiente nel caso di noduli tumorali visibili. Se macroscopicamente indenne eseguire 5 campioni random.

(The Royal College of Pathologist. February 2014, (CAP) 2013, The Royal College of Pathologists of Australasia)

Tutti i blocchetti di inclusione devono essere identificati in base alla sede di prelievo; il dato deve essere documentato e si raccomanda che sia *riportato nel referto. (ICCR)*

8 - DESCRIZIONE MICROSCOPICA

-Descrizione, se necessaria, dei parametri morfologici correlati alla diagnosi:

Atipia, necrosi, indice mitotico, pattern di crescita, tipo di invasione neoplastica, invasione vascolare.

-Grading:

Il grado istologico della neoplasia fornisce preziose indicazioni prognostiche e terapeutiche.

La valutazione si basa sui seguenti criteri morfologici:

- pattern architetturale;
- atipia nucleare.

Tumori endometrioidi: si utilizza il sistema a tre gradi FIGO, sulla base della percentuale della componente ghiandolare rispetto alla crescita solida; una maggiore atipia nucleare, indipendentemente dall'architettura, fa aumentare di un grado la neoplasia.

Grado 1: $\leq 5\%$ di aree solide, non squamose

Grado 2: 6%-50% di aree solide non squamose

Grado 3: $> 50\%$ di aree solide non squamose

Nei tumori che mostrano differenziazione squamosa, gli elementi squamosi devono essere esclusi dalla valutazione architetturale. La presenza di notevole atipia nucleare (nuclei altamente pleomorfi e macronucleoli identificati a piccolo ingrandimento) in più del 50% del tumore giustifica la risalita del tumore di un grado.

Marcata discordanza tra grado architetturale e nucleare si verifica raramente negli adenocarcinomi endometrioidi e se questo accade deve essere considerata la possibilità di un carcinoma sieroso.

Per il **carcinoma mucinoso** si utilizza lo stesso sistema di gradazione applicato nel carcinoma endometrioide.

Carcinoma sieroso, a cellule chiare, carcinoma indifferenziato e carcinosarcoma: NON si effettua la graduazione (sono considerati tutti di alto grado). (TNM Classification of Malignant Tumours – ottava edizione).

Il grading system della FIGO ha dimostrato utilità prognostica, ma è sfortunatamente poco riproducibile. La sua scarsa riproducibilità ha portato a tentativi di concepire un sistema di grading a 2 binari, che è probabilmente più riproducibile semplicemente riducendo il numero di categorie. Comunque fino ad oggi è raccomandato di continuare ad usare il grading system della FIGO sebbene imperfetto.

-Invasione linfovaskolare (LVI):

Sebbene LVI non faccia parte della stadiazione TNM o FIGO del carcinoma dell'endometrio, è un importante fattore prognostico sfavorevole che influenza decisioni terapeutiche. Deve essere riportata come presente, assente o dubbia. Nel caso sia presente indicare anche la sua estensione (focale verso diffusa).

Non vi è alcuna definizione AJCC, FIGO o GOG dell'invasione linfovaskolare. In generale, per molti organi, i patologi definiscono LVI come la presenza di cellule tumorali in uno spazio rivestito da endotelio.

Quando la presenza di endotelio è incerta, può essere utile la conferma immunoistochimica. D2-40 marca l'endotelio linfatico mentre il CD34, CD31 and Fattore VIII marca l'endotelio vascolare.

La valutazione della LVI è in teoria semplice, ma in pratica vi sono scenari problematici in cui va *distinta dalla invasione artefattuale*.

- 1 Nel carcinoma dell'endometrio non è infrequente la retrazione artefattuale. Questa è spesso più diffusa rispetto alla vera LVI ed è caratterizzata da un contorno liscio. Nella vera invasione, gli spazi tipicamente hanno un contorno più slit-like o angolato e sono rivestiti da cellule endoteliali.
- 2 Nel caso di marcata autolisi tumorale l'invasione vascolare può essere sproporzionata rispetto allo stadio e grado del tumore e spesso i vasi coinvolti sono nella metà esterna del miometrio, laddove il tumore può anche essere osservato sulla sierosa.
- 3 La tecnica laparoscopica con l'uso di un manipolatore uterino determina un artefattuale dislocamento di tumore entro spazi linfovaskolari. Vi è discrepanza tra il basso grado e stadio del tumore e l'alto volume di invasione vascolare, l'interessamento preferenziale di grossi vasi nella metà esterna del miometrio e la presenza di tessuto sia benigno che maligno dentro i vasi e l'assenza di aderenza del tumore all'endotelio.

Sono stati proposti da alcuni autori criteri per distinguere la vera LVI dalla artefattuale LVI:

Vera LVI

- clusters coesivi di cellule tumorali a bordi lisci
- contorni dei clusters tumorali conformi agli spazi vascolari
- cambiamento nella morfologia tumorale, spesso citoplasma più eosinofilo
- interessamento di linfatici adiacenti a vasi più grossi
- aggregati linfocitari o cellule infiammatorie miste in sede peri-vascolare

Artefattuale LVI

- cellule tumorali disaggregate
- cellule tumorali miste a cellule infiammatorie
- cellule tumorali che ricordano il tumore

- presente in spazi adiacenti al tumore invasivo con artefatti da retrazione
- presente solo in spazi vascolari superficiali

Raccomandazioni

In un tumore di basso grado, endometriode e non significativamente mioinvasivo, la probabilità di vera LVI è minima. Invece se è un carcinoma endometriode di alto grado o carcinoma sieroso/a cellule chiare o profondamente mioinvasivo, allora la vera LVI è una reale possibilità.

E' da ricordare inoltre che raramente tessuto endometriale benigno può essere presente in spazi linfovaskolari dovuto a mestruo, presenza di adenomiosi o endometriosi. La distinzione dalla vera LVI si basa sul riconoscimento dell'epitelio citologicamente blando e/o la presenza di stroma.

(The Royal College of Pathologist. February 2014, Joseph T)

-Aspetti patologici addizionali

Iperplasia tipica, iperplasia atipica, neoplasia endometriale intraepiteliale (EIC), neoplasia sierosa intraepiteliale (SEIC).

-Linfonodi

Specificare il numero totale di linfonodi isolati, il numero per sede (pelvica, para-aortica), il numero totale di linfonodi metastatici, il numero di linfonodi metastatici per sede, se metastasi unica la dimensione massima, se metastasi multiple il diametro massimo e minimo.

(CAP 2013, The Royal College of Pathologists of Australasia)

-Risposta alla terapia neoadiuvante

Non è ancora disponibile un sistema unanimemente concordato per la classificazione della regressione tumorale (TRG) dei carcinomi endometriali trattati con la chemioterapia neoadiuvante.

Il TRG fornisce già preziose indicazioni prognostiche nei pazienti trattati con carcinoma della mammella, stomaco, esofago e colon-retto.

L'applicabilità di tali sistemi per la valutazione del TRG è stata testata in alcuni lavori per i carcinomi pelvici ginecologici, ma per il momento nel caso dell'endometrio, è proponibile solo una valutazione di *aspetti morfologici regressivi riconducibili a terapia*, sulla base di precedenti classificazioni, che tengono conto dei seguenti aspetti:

- prevalenza fibrosi o cellule tumorali (Mandard);
- percentuale di cellule tumorali residue (<10%; 10-50%, >50%) (Pinder);
- flogosi xantogranulomatosa (-/+++);

-necrobiosi tumorale (-/++++).

La valutazione conclusiva (Boehm, Sassen) può essere espressa in forma descrittiva come segue:

-Neoplasia prevalentemente vitale con limitati foci di modificazioni fibro-infiammatorie di tipo regressivo (risposta tumorale assente o limitata).

-Modificazioni fibro-infiammatorie di tipo regressivo multifocali o diffuse, con neoplasia residua facilmente identificabile (risposta tumorale parziale).

-Regressione prevalente, con presenza di poche cellule neoplastiche singole sparse irregolarmente o disposte in piccoli gruppi (globalmente del diametro inferiore a 2 mm) o con assenza di neoplasia residua (risposta completa o quasi completa).

9 - TECNICHE DIAGNOSTICHE ANCILLARI

-Immunoistochimica

E' una tecnica ancillare di supporto alla diagnosi morfologica e prevede l'utilizzo di un pannello di marcatori dal momento che nessun anticorpo è totalmente specifico per un dato tumore.

La diagnosi istologica rimane essenzialmente morfologica.

Secondo le indicazioni WHO2014 e ICCR (2015) l'immunoistochimica può essere utile in alcune evenienze per differenziare:

- adenoca endometriode: ER+, PR +, p16 + (disomogenea), p53 +/-
- ca sieroso: ER +/-, PR +/-, p16 - o + (omogenea), p53 elevata o assente
- ca a cellule chiare: ER + sporadico, PR -, p16 - o sporadico, p53 +/-
- carcinoma mucinoso: ER -, PR -, CDX2 +
- adenoca dell'endometrio: vimentina +, CA 125 +, CEA -, ER +, PR +, CEA -, p16 + (disomogenea)
- adenoca endocervicale tipo usuale: vimentina -, CA 125 -, CEA +, ER -, PR +, p16 + (omogenea)
- adenoca: p53 +/-, Mib1 elevato
- iperplasia/metaplasia: p53 -, Mib1 basso
- ca sieroso dell'utero WT-1 -
- ca sieroso dell'ovaio WT-1 +

N.B. La reazione della p53 può essere intensa nel 75-80% dei nuclei (mutazione missense), o completamente negativa con controllo (p53 null type) (mutazione nonsense o delezione). (Kurman, WHO 2014, The Royal College of Pathologist. February 2014, Colombo N , Rabban J)

E' raccomandato eseguire la determinazione dei recettori per Estrogeni e Progesterone, utili per eventuali terapie ormonali, e la determinazione della percentuale di cellule tumorali in ciclo con anticorpo anti-Ki67 che, insieme con la conta mitotica, consente di valutare l'attività proliferativa cellulare del tumore.

Biologia molecolare:

Si conoscono due sindromi da suscettibilità genetica per il carcinoma dell'endometrio:

-la sindrome di Lynch (HNPCC, carcinoma colon-rettale ereditario non-polipoide) dovuta alla trasmissione germinale autosomica dominante di un difetto di un gene del DNA mismatch repair (MSH2, MLH1, MSH6, PMS2). E' la causa più comune di carcinoma endometriale familiare ed è associato anche ad un aumentato rischio di carcinoma del colon. Il rischio di tumore stimato è 25-60%.

-la sindrome di Cowden, con trasmissione autosomica dominante, è determinata da una mutazione di PTEN che determina un rischio stimato del 28% di sviluppare un carcinoma dell'endometrio.

Il carcinoma endometriale sporadico è associato a diverse mutazioni geniche; le più frequenti sono: metilazione o inattivazione di PTEN (>50%), mutazioni di PIK3CA (30%), PIK3R1 (20-43%), ARID1A (40% nei carcinomi di basso grado), KRAS (20-26%) e TP53 (30% dei carcinomi G3).

Circa il 35% dei tumori mostra instabilità dei microsatelliti per lo più dovuta ad ipermetilazione del promotore del gene MLH1.

Circa il 10% dei tumori presenta mutazioni di POLE che determina un'elevata frequenza di mutazioni.

10 - FATTORI DI RISCHIO PROGNOSTICI

Relativamente agli aspetti anatomico patologici (sec. UICC, TNM 2017):

FATTORI PROGNOSTICI ESSENZIALI

- Profondità di invasione miometriale
- Grado di differenziazione
- Istotipo tumorale

-Invasione linfovaskolare

-**Lo stadio patologico** della neoplasia endometriale rappresenta il parametro prognostico più importante e valuta l'estensione anatomica della neoplasia primitiva dopo rimozione chirurgica. Il sistema di *staging* è quello FIGO e **pTNM** (applicabile solo in caso di pM1. **pM0 e pMX non sono categorie valide**) (UICC, TNM 2017). La classificazione è applicabile a neoplasie maligne di origine sia epiteliale che mista.

FATTORI PROGNOSTICI ADDIZIONALI:

-Metastasi linfonodali locoregionali

-Metastasi a distanza

NUOVI FATTORI PROGNOSTICI:

-Profilo molecolare

Diversi lavori hanno dimostrato che l'indice mitotico, Ki-67 e ER/PG sono fattori prognostici indipendenti, anche se saranno necessari ulteriori studi per capire fino a che punto tali biomarkers possano essere utilizzati per migliorare l'identificazione della categoria di rischio dei pazienti (Cheepsumon Suthipintawong, Mandira Dasgupta, Horn LC , Stefansson IM , Salvesen H).

-Indice mitotico

L'indice mitotico è il n° mitosi/10 HPF nelle aree più cellulate a maggior indice mitotico. (Brunner A)

Si segnala l'importanza della metodologia come indicato, data la scarsa riproducibilità inter-osservatore di questo parametro dovuto alla scelta soggettiva delle aree, all'eterogeneità dell'attività mitotica in differenti aree del tumore ed alla difficoltà nel distinguere la cromatina in mitosi dall'apoptosi e picnosi. (Tornos C, Abdulmohsen Al Kushi)

-Ki-67 (Mib-1)

Marker di proliferazione cellulare è utilizzato sempre più frequentemente in studi finestra pre-chirurgici per determinare se esso soddisfa tutti i criteri per essere utilizzato come biomarker di risposta alla terapia.

Dai risultati di numerosi studi effettuati si evince che oltre ad essere correlato a variabili clinicopatologiche uno score alto è associato ad una riduzione significativa nella sopravvivenza cancro specifica.

Usando un cutt-off del 40% la sopravvivenza cancro specifica a 5 anni è decisamente migliore nelle pazienti con Mib-1 < o uguale al 40% (88% versus 58%).

Non vi sono linee guida che standardizzano la sua misurazione, si suggerisce quindi di seguire gli standard per la colorazione, score e analisi del Ki-67 nel cancro della mammella:

- il solo uso di anticorpo Mib-1;
- inclusione sui vetrini di controlli negativi e positivi;
- valutare almeno 3 HPF incorporando il fronte invasivo del tumore e hot spots;
- stima della sola colorazione nucleare (intensità della colorazione non rilevante);
- contare almeno 500 (e preferibilmente 1000) cellule maligne;
- esprimere il Ki-67 score come la percentuale delle cellule colorate sul totale delle cellule maligne contate.

(Kitson S)

-PR/ER

La determinazione dell'assetto recettoriale di un tumore viene eseguita mediante immunocistochimica ed espressa come percentuale di cellule positive su 100.

Qualsiasi intensità di colorazione in un nucleo è sufficiente per considerarlo positivo, mentre esistono discordanze sul numero minimo di nuclei colorati per considerare la reazione positiva. Per gli estrogeni la maggior parte degli autori concordano su un cut-off del 10%. Il progesterone viene considerato negativo quando nessuna colorazione è presente.

La loro espressione é correlata prevalentemente all'istotipo e grado del tumore.

La maggior parte dei carcinomi endometrioidi di basso grado ma anche quelli di alto grado esprimono ER e PR. I carcinomi sierosi sono tipicamente negativi con rari casi che dimostrano debole positività.

I carcinomi ER-/PR- sono quelli a prognosi peggiore poiché più frequentemente recidivano, danno metastasi linfonodali ed hanno una sopravvivenza ed un tempo di sopravvivenza minore.

Nella recidiva secondo lo studio GOG 119 prima di effettuare la terapia ormonale va testato l'assetto recettoriale del tumore perché correla con la risposta.

(Trovik J, Jutta Huvila)

11 - DIAGNOSI

La diagnosi fa riferimento ai campioni pervenuti e deve sinteticamente riassumere i dati derivanti da tutte le fasi del processo.

Campione bioptico

Laddove la biopsia conferma la malignità il referto deve comprendere:

- istotipo
- grado

Diagnosi intraoperatoria

- istotipo
- grado
- invasione miometriale
- interessamento cervicale e/o annessiale
- dimensioni del tumore

Pezzo operatorio

- sede
- tipo istologico
- grado
- profondità di invasione miometriale in mm
- spessore del miometrio nell'area di massima invasione tumorale in mm
- miometrio non neoplastico
- invasione linfovaskolare
- endometrio non neoplastico
- estensione cervicale
- estensione agli annessi
- numero di linfonodi totali / numero di linfonodi metastatici
- estensione extranodale
- margini (vaginale e paracervicale)
- stadio pTNM (2017)
- citologia peritoneale*

*L'esame citologico del fluido proveniente dalla cavità addominale, eseguito in contemporanea all'intervento chirurgico, è raccomandato in corso di isterectomia per carcinoma endometriale (concetto introdotto per la prima volta dalla classificazione FIGO nel 1986), anche se non modifica più lo stadio, e deve essere riportato a parte. Il vantaggio di questa procedura sta nel dimostrare una diffusione neoplastica anche in assenza di lesioni visibili.

-Correlazione pre-postoperatoria:

Il grado del tumore sulla biopsia può non essere concordante con quello delle sezioni definitive. Questo è dovuto al fatto che il grado sec. FIGO si basa sulla percentuale di componente solida presente in un campione e questa può variare una volta che un maggior volume di tessuto viene esaminato.

La concordanza del grado tumorale con le sezioni definitive riportata da molteplici studi varia notevolmente (57%-98%).

La maggior parte degli autori sono comunque concordi nell'affermare che per i G3 è significativamente più alta (80%) rispetto a quella per i G1 (57%).

La correlazione per il tipo tumorale comunque è buona (80-96%). (Mitchard, Pabashi Poddar, Kisielewski, Behiye Pinar Çilesiz Göksedef)

Quindi i carcinomi endometrioidi mostrano frequenti spostamenti nei gruppi di rischio quando si confronta l'istologia pre e postoperatoria. Infatti solo il grado tumorale e l'istotipo non sono sufficienti fattori predittivi del comportamento tumorale e possono in effetti sottostimare il rischio tumorale.

Comunque quando anche la profondità di invasione miometriale è inclusa nella stratificazione di rischio quasi 1/4 – 1/2 dei casi G1-G2 è riclassificata intraoperatoriamente in un rischio intermedio sulla base di una invasione miometriale > 50%. (Pabashi Poddar)

Inoltre una significativa proporzione di casi diagnostici come iperplasia atipica sulle biopsie diventeranno adenocarcinomi endometrioidi G1 nell'isterectomia (42,6% sec GOG 167). L'alto tasso di carcinomi sulle sezioni permanenti nelle pazienti con iperplasia atipica è correlato sia all'interpretazione istopatologica sia all'adeguatezza del campione. La scarsa riproducibilità nella diagnosi di iperplasia atipica è ben nota. Ma questo non rappresenta un problema per le pazienti in post-menopausa o donne di età superiore a 50 anni in quanto andranno incontro ad isteroannessiectomia bilaterale. (BGCS Uterine Cancer Guidelines, Karuna Garg)



E' utile ricordare che i carcinomi, soprattutto di istotipo endometrioide mostrano frequenti spostamenti nei gruppi di rischio quando si confronta l'istologia pre e postoperatoria, mentre la correlazione per il tipo tumorale comunque è buona (80-96%). (Pabashi Poddar, Filip Kisielewski, Behiye Pınar)

In caso di terapia neoadiuvante può non essere correttamente valutabile istotipo e grading: in tal caso meglio definirlo Carcinoma post-terapia multimodale.

12 - BIBLIOGRAFIA

- Abdulmohsen Al Kushi, Peter Lim, Christina Aquino-Parsons, C. Blake Gilks. Markers of Proliferative Activity Are Predictors of Patient Outcome for Low-Grade Endometrioid Adenocarcinoma But Not Papillary Serous Carcinoma of Endometrium. *Mod Pathol* 2002;15(4):365–371;
- AGOG committee opinion. The Role of Transvaginal Ultrasonography in the Evaluation of Postmenopausal Bleeding. Number 440, August 2009;
- Behiye Pınar Çilesiz Göksedef, Özgür Akbayır, Aytül Çorbacıoğlu, Hakan Güraslan, Fatmagül Şencan, Onur Erol, and Ahmet Çetin. Comparison of preoperative endometrial biopsy grade and final pathologic diagnosis in patients with endometrioid endometrial cancer. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2012; 13(2): 106–110;
- Berretta R., Patrelli T.S., Migliavacca C., Rolla M., Franchi L., Monica M., Bacchi Modena A., Gizzo S. Assessment of tumor size as a useful marker for the surgical staging of endometrial cancer. *Oncology Reports* 31: 2007-2412, 2014;
- BGCS Uterine Cancer Guidelines: Recommendations for Practice;
- Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 15: 10-7, 1983;
- Brunner A, Riss P, Heinze G, Brustmann H. pHH3 and survivin are co-expressed in high-risk endometrial cancer and are prognostic relevant. *Br J Cancer.* 2012 Jun 26;107(1):84-90. doi: 10.1038/bjc.2012.198. Epub 2012 May 29;
- Brierley JD, Mary K., M.D. Gospodarowicz. TNM Classification of Malignant Tumours – ottava edizione 2016;
- Cancer Council Australia 2014. What is the role of intra-operative assessment of the uterus in low and high risk apparent early stage endometrial cancer?;
- Cheepsumon Suthipintawong, Charnyut Wejaranayang, Chroen Vipupinyo. Prognostic significance of ER, PR, Mib-1, c-erbB2 and p53 in endometrial cancer. *J Med Thai* 2008; 891 (12):1779-85;
- College of American Pathologists. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Endometrium. (CAP) 2013;

- Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, Gonzalez-Martín A, Ledermann J, Marth C, Nout R, Querleu D, Raza M, Sessa C: ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer Diagnosis, Treatment and Follow-up. and the ESMO-ESGO-ESTRO Endometrial Consensus Conference Working Group. *International Journal of Gynecological Cancer* & Volume 26, Number 1, January 2016;
- Fanning J, Tsukada Y, Piver MS. Intraoperative frozen section diagnosis of depth of myometrial invasion in endometrial adenocarcinoma. *Gynecol Oncol*.1990. Apr;37(1):47-50;
- Filip Kisielewski, Małgorzata Ewa Gajewska, Maja Janina Marczevska, Grzegorz Panek, Mirosław Wielgoś, Paweł Kamiński Comparison of endometrial biopsy and postoperative hysterectomy specimen findings in patients with atypical endometrial hyperplasia and endometrial cancer. *Ginekologia Polska* 2016, vol. 87, no. 7, 488–492;
- Ghiringhello B, Pariso F, Piccoli E, Privitera S. Citologia endometriale: un'alternativa all'isteroscopia? *La Colposcopia in Italia Anno XX – N. 1 pag. 27-29*;
- Horn LC, Meinel A, Handzel R, Einkenkel J. Histopathology of endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma: an update, *Ann Diagn Pathol*, 2007, 11(4):297–311;
- Jutta Huvila, Turun Yliopiston Julkaisuja: Prognostic biomarkers in endometrioid endometrial carcinoma. – *ANNALES UNIVERSITATIS TURKUENSIS Sarja - ser. D osa - tom. 1282 | Medica - Odontologica | Turku* 2017;
- Karuna Garg, MD. University of California San Francisco. Common pitfalls in the evaluation of gynecologic frozen sections;
- Kitson S, Sivalingam VN, Bolton J, McVey R, Nickkho-Amiry M et al. Ki-67 in endometrial cancer: scoring optimization and prognostic relevance for window studies. *Mod Pathol*. 2017 Mar; 30(3): 459–468;
- Kurman, R.J., Carcangiu, M.L., Herrington, C.S., Young, R.H. WHO Classification of Tumors of Female Reproductive organs. Fourth Edition. 2014;
- Kurman 2011 Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract: sixth edition J;
- Luerti M. 2010. Manuale per un'isteroscopia moderna gruppo isteroscopisti della Scuola Italiana di Chirurgia Mini Invasiva Ginecologica;
- Mahul B., M.D. Amin, Stephen B., M.D. Edge. *AJCC Cancer Staging Manual – ottava edizione* 2016;

- Mandard AM, Dalibard F, Mandard JC, Marnay J, Henry-Amar M, Petiot JF, et al. Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of esophageal carcinoma. Clinicopathologic correlations. *Cancer* (1994) 73(11):2680–610;
- Mandira Dasgupta. The Estrogen and Progesterone Receptors in Endometrial Carcinoma - An Update *Endocrinology & Metabolism International Journal* Volume 5 Issue 2 – 2017;
- Mavromatis ID, Antonopoulos CN, Matsoukis IL, Frangos CC, Skalkidou A, Creatsas G and Petridou ET. Validity of intraoperative gross examination of myometrial invasion in patients with endometrial cancer: a meta-analysis. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*. 2012;
- Menoni, PL. Venturini, A. Papadia. Frozen section pathology at time of hysterectomy accurately predicts endometrial cancer in patients of atypical endometrial hyperplasia. *Gynecologic Oncology*. 2012;
- Mitchard J, Hirschowitz L Concordance of FIGO grade of endometrial adenocarcinomas in biopsy and hysterectomy specimens. *Histopathology*. 2003 Apr;42(4):372-8;
- Morotti M, M.V. Meneda, M. Maioli, P. Sala, I. Maffeo, L. Abete, E. Fulcheri, S. Frozen section pathology at time of hysterectomy accurately predicts endometrial cancer in patients with preoperative diagnosis of atypical endometrial hyperplasia. *Gynecol Oncol*. 2012 Jun;125(3):536-40;
- Pabashi Poddar, Pariseema Dave, Meeta Mankad, Shilpa Patel, Ava Desai, Bijal Patel, Anusha Kamath. Endometrioid Endometrial Cancer: Concordance Between Preoperative and Final Surgical Histopathology. *Indian J Gynecol Oncolog* (2017) 15:2;
- Pinder SE, Provenzano E, Earl H, Ellis IO. Laboratory handling and histology reporting of breast specimens from patients who have received neoadjuvant chemotherapy. *Histopathology* 2007; 50: 409–417;
- Prat J M.D. Molecular Pathology of Endometrial Carcinoma. XV Pathology Meeting Sao Paulo, Brazil, August 8 -11, 2012;
- Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Endometrium. College of American Pathologists (CAP) 2013;
- Rabban JT MD MPH Associate Professor A Contemporary Approach to Pathologic Diagnosis of Endometrial Cancer., Department of Pathology University of California San Francisco joseph.rabban@ucsf.edu;

- Rabban JT MD MPH. Uterine Cancer: Practical Approach to Histologic Subtyping;
- Salvesen H, Ingeborg B. Engelsen, Jone Trovik. ESGO eAcademy. Use of Preoperative Biomarkers to Identify High Risk Endometrial Carcinoma Patients;
- Stefansson IM, Salvesen HB, Immervoll H, Akslen LA. Prognostic impact of histological grade and vascular invasion compared with tumour cell proliferation in endometrial carcinoma of endometrioid type. *Histopathology*, 2004, 44(5):472–479;
- The Royal College of Pathologists of Australasia Endometrial cancer structured reporting protocol. (1st Edition 2011);
- The Royal College of Pathologist. Standards and datasets for reporting cancers. Dataset for histological reporting of endometrial cancer. The Royal College of Pathologist. February 2014;
- The Royal College of Pathologist. Tissue pathways for gynaecological pathology. January 2015;
- TNM Classification of Malignant Tumours – ottava edizione 2017;
- Tornos C, Silva EG, el-Naggar A, Burke TW. Aggressive stage I grade 1 endometrial carcinoma. *Cancer*. 1992;70:790–798;
- Trovik J, Wik E, Werner H.M.J, Krakstad C, Helland H et al. Hormone receptor loss in endometrial carcinoma curettage predicts lymph node metastasis and poor outcome in prospective multicentre trial. Eur J Cancer. 2013. Volume 49, Issue 16, Pages 3431–3441. 2013 Nov.



ALLEGATO A: RACCOMANDAZIONI PER LE MODALITA' DI INVIO DEL MATERIALE

NOTIZIE CLINICHE

Per agevolare la diagnosi cito/istologica il materiale inviato in laboratorio di anatomia patologica dovrebbe essere corredato delle seguenti informazioni:

- 1) eventuale stato di gravidanza, AUB, precedenti terapie (ormonali o uso di Tamoxifene, RT, CHT), precedenti interventi chirurgici rilevanti, storia familiare di neoplasia);
- 2) esami radiologici e di laboratorio con particolare riferimento ai dati utili per le correlazioni con i reperti anatomico-patologici;
- 3) diagnosi/sospetto clinico;
- 4) precedenti biopsie;
- 5) tipo di procedura effettuata/ tipo di isterectomia e l'approccio chirurgico (addominale, vaginale, laparoscopico) (preferibilmente atto operatorio);
- 6) tipo di materiale-sede del materiale opportunamente identificati (Linee Guida CAP).

TIPO DI MATERIALE IN ESAME

- 1) prelievo citologico diretto
- 2) prelievo istologico "alla cieca"
- 3) prelievo istologico sotto guida isteroscopia
- 4) resezioni chirurgiche escissionali
- 5) free fluid e washing peritoneale

MODALITA' DI INVIO DEL CAMPIONE

Campione citologico

Invio dell'intera quantità di liquido prelevato in contenitori a parete rigida a chiusura ermetica. Se è prevista la consegna in laboratorio in tempi brevi conservazione in frigorifero a 4° centigradi; se prevista entro 24 ore aggiungere etanolo 50 in rapporto 1/1 (per ottenere un buon incluso) (Daniel, Koss). (Koss). Per prelievi da spazzolato o aspirazione è consigliato l'utilizzo dei Kit per citologia in strato sottile.

Campione istologico (biopsie, pezzi chirurgici)

Il materiale operatorio deve essere inviato integro, senza tagli e dissezioni preliminari, in liquido fissativo (formalina al 10%), in adeguata quantità e contenitore idoneo, oppure a fresco con invio tempestivo; piccole biopsie in liquido fissativo o in soluzione fisiologica (se inviate tempestivamente). (Koss)

Sottovuoto: possibile utilizzo **solo per l'invio del materiale**, di sistemi sottovuoto con controllo della conservazione, con successiva apertura e fissazione secondo i tempi e le modalità consuete.

ALLEGATO B: CLASSIFICAZIONE DEI TUMORI EPITELIALI E MISTI

EPITELIALI/MESENCHIMALI (WHO 2014)

Tumori epiteliali e precursori

Precursori

Iperplasia senza atipia

Iperplasia atipica / neoplasia intraepiteliale endometriale

Carcinomi endometriali

Carcinoma endometriode

Con differenziazione squamosa

Villoglandulare

Secretorio

Carcinoma mucinoso

Carcinoma intraepiteliale endometriale sieroso

Carcinoma sieroso

Carcinoma a cellule chiare

Tumori neuroendocrini

Tumore neuroendocrino di basso grado

tumore carcinoide

Carcinoma neuroendocrino di alto grado

Carcinoma neuroendocrino a piccole cellule

Carcinoma neuroendocrino a grandi cellule

Adenocarcinoma a cellule miste

Carcinoma indifferenziato

Carcinoma dedifferenziato

Lesioni simil-tumorali

Polipo

Metaplasie

Reazione di Arias-Stella

Pseudolinfoma

Tumori epiteliali e mesenchimali misti

Adenomioma

Adenomioma polipoide atipico

Adenofibroma

Adenosarcoma

Carcinosarcoma

ALLEGATO C: STADIAZIONE UICC/TNM (2017)/FIGO 2009

TNM	FIGO	Definizioni
TX		Tumore primitivo non valutabile
T0		Nessuna evidenza di tumore primitivo
T1	I	Tumore confinato al corpo dell'utero
T1a	IA*	Tumore limitato all'endometrio o che invade meno di metà miometrio
T1b	IB	Tumore che invade metà o più del miometrio
T2	II	Tumore che invade lo stroma cervicale ma non si estende oltre l'utero
T3	III	Diffusione locale e/o regionale, come specificato di seguito
T3a	IIIA	Tumore che invade la sierosa del corpo dell'utero o gli annessi (estensione diretta o metastasi)
T3b	III B	Coinvolgimento vaginale o parametrico (estensione diretta o metastasi)
N1, N2	III C	Metastasi in linfonodi pelvici o para-aortici ^o
N1	III C1	Metastasi in linfonodi pelvici
N2	III C2	Metastasi in linfonodi para-aortici con o senza metastasi in linfonodi pelvici
T4 [^]	IV	Tumore che invade la mucosa di vescica/intestino

*Il solo coinvolgimento delle ghiandole endocervicali deve essere considerato come stadio I.

^o La positività della citologia deve essere registrata separatamente senza modificare lo stadio.

[^] La presenza di edema bolloso non è un'evidenza sufficiente per classificare come T4.

ALLEGATO D: GRADING SYSTEM

Il grado istologico della neoplasia fornisce preziose indicazioni prognostiche e terapeutiche. La valutazione si basa sui seguenti criteri morfologici:

- pattern architetturale
- atipia nucleare.

Tumori endometrioidi: *si utilizza il sistema a tre gradi FIGO analogamente a quanto avviene nei tumori uterini, sulla base della percentuale della componente ghiandolare rispetto alla crescita solida. Una maggiore atipia nucleare, indipendentemente dall'architettura, fa aumentare di un grado la neoplasia.*

- Grado 1: \leq 5% di aree solide, non squamose
- Grado 2: 6%-50% di aree solide non squamose
- Grado 3: $>$ 50% di aree solide non squamose

Nei tumori che mostrano differenziazione squamosa, gli elementi squamosi devono essere esclusi dalla valutazione architetturale. La presenza di notevole atipia nucleare (nuclei altamente pleomorfi e macronucleoli identificati a piccolo ingrandimento) in più del 50% del tumore giustifica la risalita del tumore di un grado.

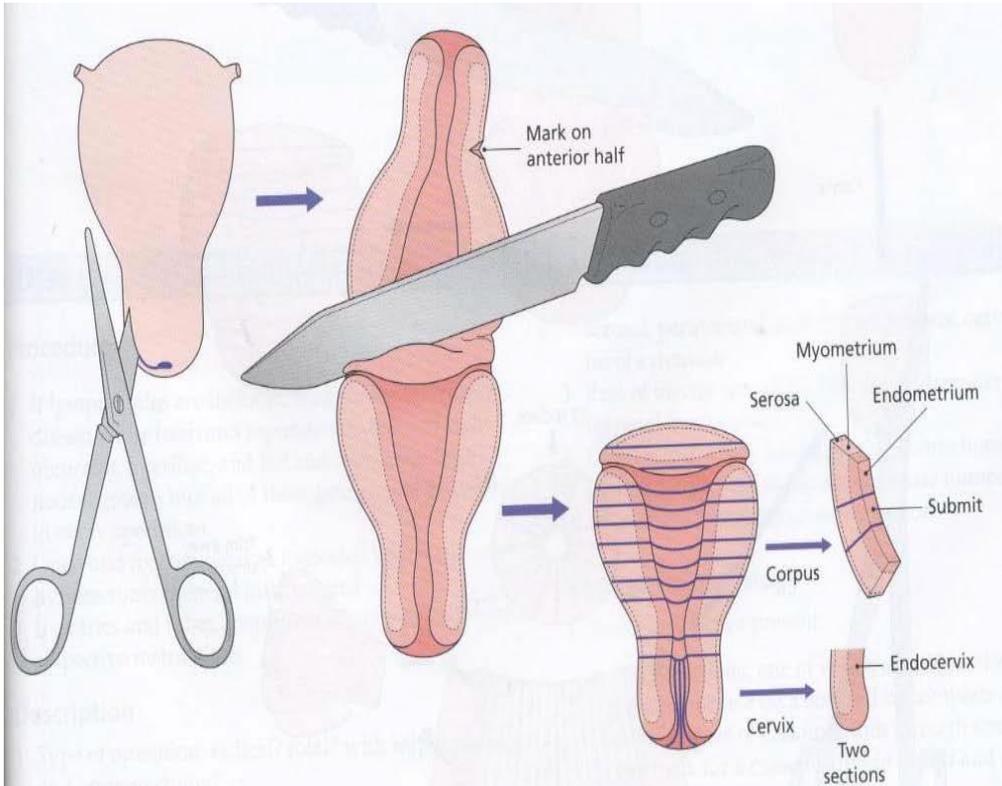
Marcata discordanza tra grado architetturale e nucleare si verifica raramente negli adenocarcinomi endometrioidi e se questo accade deve essere considerata la possibilità di un carcinoma sieroso.

Carcinoma mucinoso: *si utilizza lo stesso sistema di gradazione applicato nel carcinoma endometriode.*

Carcinoma sieroso, a cellule chiare, carcinoma indifferenziato e carcinosarcoma: *NON si effettua la graduazione (sono considerati tutte di alto grado) (TNM Classification of Malignant Tumours – ottava edizione).*

Il grading system della FIGO ha dimostrato utilità prognostica, ma è sfortunatamente poco riproducibile. La sua scarsa riproducibilità ha portato a tentativi di concepire un sistema di grading a 2 binari, che è probabilmente più riproducibile semplicemente riducendo il numero di categorie. Comunque fino ad oggi è raccomandato di continuare ad usare il grading system della FIGO sebbene imperfetto.

ALLEGATO E: TECNICHE DI CAMPIONAMENTO



ALLEGATO F: REFERTO ANATOMO-PATOLOGICO

Anagrafica

Dati relativi al paziente
Reparto inviante
Data e medico che ha eseguito il prelievo

Materiale inviato

Definizione dei campioni per sede di prelievo

Notizie cliniche

Anamnesi ed accertamenti diagnostici eseguiti (radiologici, biomarcatori)
Procedura utilizzata (biopsia, escissione chirurgica)
Sede anatomica del tumore
Precedenti terapie CT/RT
Quesito diagnostico

Descrizione macroscopica: *è consigliato venga eseguita dal patologo repertante.*

Biopsia: dimensioni, consistenza, colore

Escissione chirurgica:

- definizione delle strutture comprese nel campione
- peso del campione
- dimensioni utero e/o annessi e di altri organi eventualmente presenti
- descrizione della forma e della sierosa
- descrizione della massa neoplastica all'apertura: dimensioni, consistenza, colore, margini di crescita tumorali e rapporti con strutture adiacenti
- descrizione dei margini chirurgici (liberi o infiltrati, distanza dalla neoplasia)

Il campionamento deve essere eseguito in accordo con gli specifici protocolli (CAP), con l'indicazione delle sedi dei prelievi.

Descrizione microscopica

E' utile descrivere alcune *caratteristiche morfologiche* che permettono di definire l'istotipo ed il grading, soprattutto in caso di lesioni rare o di difficile comprensione.

In particolare: cellularità e morfologia cellulare, atipia, conta mitotica, necrosi, pattern di crescita, margini di crescita tumorale, angioinvasione, etc.

Esempio:

Parametri morfologici:

- Pattern di crescita solido: solido/ghiandolare %. Pleomorfismo nucleare:
- Attività mitotica nelle aree cellulate più attive (x10HPF; diam. campo mm.):
- Invasione vascolare peritumorale (-/+++):
- Flogosi peritumorale (-/+++):
- Flogosi intratumorale (-/+++):
- Altro..

Risposta alla terapia neoadiuvante:

Aspetti morfologici di regressione tumorale riconducibili a terapia:

- prevalenza fibrosi o cellule tumorali (Mandard):
- percentuale di cellule tumorali residue ($\leq 10\%$; 10-50%, $>50\%$) (Pinder):
- flogosi xantogranulomatosa (-/+++):
- necrobiosi tumorale (-/+++):

Aspetti morfologici di regressione tumorale riconducibili a chemioterapia: presenti/risposta parziale/assenti

Indicare le *metodiche ancillari* utilizzate ed i risultati:

Indagini immunoistochimiche: (+/-) (%)

Raccomandabili:

Percentuale di cellule positive a livello nucleare con anticorpo anti recettori per gli estrogeni.

Percentuale di cellule positive a livello nucleare con anticorpo anti recettori per il progesterone.

Attività proliferativa (Ki67) nei campi a maggiore espressione (% in >1000 nuclei).

Biologia molecolare

Altro (indagini genetiche, microscopia elettronica, citoflussimetria..)

Diagnosi

Refertazione del materiale come da campioni pervenuti e in cui indicare:

- istotipo, grado, sito primitivo del tumore
- infiltrazione/integrità di organi o tessuti adiacenti e dei margini di resezione
- infiltrazione/integrità di altri organi e tessuti prelevati separatamente
- altre patologie eventualmente presenti

SCHEDA ANALITICA:

Tipo istologico (Classificazione WHO 2014):

Pattern di crescita tumorale:

Grado istologico (sec. WHO):

Sede del tumore primitivo:

Estensione:

IHC (*): Ki67 %. Rec. Estrogeni %. Rec. Progesterone %

Mitosi: n/10 HPF

Margini di resezione:

Invasione vascolare peritumorale:

Numero totale di linfonodi regionali esaminati (*):

Numero di linfonodi regionali metastatici (*):

Esame citologico su washing:

Aspetti morfologici di risposta alla chemioterapia:

Stadio pTNM (UICC, 2017):

*compilare le voci valutabili