
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Diagnostic și tratament chirurgical complex în cancerul endometrial

Doctorand **Florin Laurențiu Ignat**

Conducător de doctorat **Prof. Dr. Nicolae Costin**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Epidemiologia cancerului endometrial	17
1.1. Date epidemiologice	17
1.2. Factori de risc epidemiologici	17
1.2.1. Hiperestrogenism	17
1.2.2. Factori socio-economici	18
1.2.3. Comorbidități	18
1.2.4. Factori genetici	18
2. Rolul limfadenectomiei în tratamentul cancerului endometrial	19
2.1. Rol terapeutic și prognostic	19
2.2. Impact asupra managementului clinic	21
2.3. Considerații economice	21
3. Factori predictivi pentru metastazarea ganglionară	23
3.1. Stadializarea FIGO a cancerului endometrial	23
3.2. Evaluarea preoperatorie	25
3.2.1. Factori clinici	25
3.2.1.1. Vârsta	25
3.2.1.2. Imagistica	26
3.2.2. Factori histo-patologici	28
3.2.2.1. Grading histologic	28
3.2.2.2. Tip histologic	28
3.2.2.3. Imunohistochimia	29
3.3. Evaluarea intraoperatorie	29
3.3.1. Examinarea vizuală și palpatorică	29
3.3.2. Examinarea extemporanee	30
3.3.3. Examinarea ultrasonografică intraoperatorie	30
3.3.4. Tehnica detectării ganglionului santinelă	30
4. Tactica chirurgicală	31
4.1. Tipul chirurgiei	31
4.2. Nivelul limfadenectomiei	33
4.3. Morbiditatea procedurilor	34

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

1. Ipoteza de lucru/obiective	37
2. Studiul 1- Factori predictivi pentru diseminarea ganglionară în cancerul endometrial	39
2.1. Introducere	39
2.2. Ipoteza de lucru/obiective	43
2.3. Material și metodă	43
2.4. Rezultate	44
2.5. Discuții	59
2.6. Concluzii	62
3. Studiul 2 - Imagistica prin Rezonanță Magnetică (IRM) în evaluarea preoperatorie a pacientelor cu carcinom endometrial	63
3.1. Introducere	63
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	63
3.3. Material și metodă	64
3.4. Rezultate	65
3.5. Discuții	71
3.6. Concluzii	73
4. Studiu 3 - Tabloul imunohistochimic – factor de prognostic în cancerul endometrial	75
4.1. Introducere	75
4.2. Ipoteza de lucru/obiective	77
4.3. Material și metodă	79
4.4. Rezultate	80
4.5. Discuții	88
4.6. Concluzii	90
5. Discuții generale	91
6. Concluzii generale	95
7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	97
REFERINȚE	99

CUVINTE CHEIE: cancer endometrial, biomarkeri, imunohistochimie

INTRODUCERE

Cancerul endometrial reprezintă cea mai frecventă malignitate ginecologică în țările dezvoltate.

Stadializarea FIGO (Federația Internațională de Ginecologie și Obstetrică) din 1988, modificată în 2009, folosește factori anatomo-patologici (invazia miometrială, invazia stromei cervicale, statusul ganglionilor limfatici, prezența intraperitoneală a bolii) conferind astfel chirurgiei un rol important în stadializarea cancerului endometrial adițional rolului terapeutic.

Chirurgia cancerului endometrial cuprinde histerectomia totală și anexectomia bilaterală, proceduri la nivelul peritoneului și epiploonului – biopsii, omentectomie parțială sau totală, proceduri la nivelul retroperitoneului - biopsii ganglionare, limfadenectomie pelvina selectivă, limfadenectomie sistematică pelvină, limfadenectomie paraaortică. Deși sistemul de stadializare FIGO pledează pentru efectuarea limfadenectomiei acesta nu stabilește indicațiile, tipul și extensia limfadenectomiei generând astfel controverse discutate în numeroase studii.

În lumea medicală internațională există un interes deosebit în descoperirea unei metode de predicție fiabilă a statusului ganglionilor limfatici pelvini și paraaortici – factor cheie în stadializarea, prognosticul și orientarea tratamentul adjuvant al cancerului endometrial. Este de asemenea necesară stabilirea conduitei chirurgicale optime pentru o stadializare corectă și completă și pentru a oferi tratamentul adecvat fiecărei paciente.

Lucrarea de față evaluează factorii clinici și histo-patologici de prognostic negativ utilizați pentru stratificarea pe grupe de risc a pacientelor cu cancer endometrial stadiu incipient candidate pentru chirurgie și demonstrează corelația acestor factori cu prezenta invaziei limfoganglionare. De asemenea sunt evaluate performanțele diagnostice ale Imagisticii prin Rezonanță Magnetică (IRM) în stadializarea preoperatorie a carcinomului endometrial pe un lot de paciente stadializate chirurgical. Teza conține și date referitoare la evaluarea biomarkerilor: receptori estrogenici, receptori progesteronici (ER/PR), proteinele P53, P16 și Her2 și indicele de proliferare Ki-67 cu privire la capacitatea acestora de predicție a diseminării limfoganglionare

Am ales această temă deoarece studiul factorilor de prognostic precum și controversele legate de limfadenectomie în cancerul endometrial sunt și vor rămâne subiecte de actualitate în lumea medicală internațională cu implicații majore în managementul terapeutic al pacientelor cu acest diagnostic.

CERCETAREA PERSONALĂ

Ipoteza de lucru/obiective

Lucrarea de față, cu titlul “Diagnostic și tratament chirurgical complex în cancerul endometrial”, are ca scop principal evaluarea factorilor de prognostic pentru diseminarea limfatică în cancerul endometrial.

Teza are la bază trei studii de cercetare clinică retrospective, observaționale și analitice cu domeniu de cercetare analiza factorilor clinici și histo-patologici implicați în evoluția naturală a cancerului endometrial cu importanță majoră în stadializarea, stabilirea prognosticului și adaptarea tratamentului oncologic multimodal al acestor paciente.

Primul studiu realizat cuprinde pacientele tratate chirurgical pentru carcinom endometrial în Institutul Oncologic “Prof. Dr. Ion Chiricuță” Cluj-Napoca (IOCN) într-o perioadă de 5 ani (Ianuarie 2008 – Decembrie 2012) și analizează principalii factori de prognostic negativ cunoscuți dar și unii factori mai puțin studiați și asocierea acestora cu cel mai important factor de prognostic – afectarea ganglionară (N+). De asemenea primul studiu evaluează practicile chirurgicale ale medicilor chirurghi și ginecologi oncologi din cadrul IOCN cu referire la limfadenectomie și evoluția acestora pe parcursul intervalului de timp studiat.

Al doilea studiu efectuat este un studiu retrospectiv, analitic al unei cohorte de paciente tratate chirurgical pentru carcinom endometrial în Institutul Oncologic “Prof. Dr. Ion Chiricuță” Cluj-Napoca (IOCN) în perioada Ianuarie 2008 – Decembrie 2012 examinate prin Imagistică prin Rezonanța Magnetică (IRM) preoperator și stadializate chirurgical în instituția noastră. Studiul are ca obiectiv evaluarea performanțelor diagnostice IRM în stadializarea preoperatorie a cancerului endometrial cu referire la capacitatea metodei de a identifica preoperator unii factorii cunoscuți de prognostic negativ.

Cel de-al treilea studiu este un studiu de imunohistochimie care cuprinde un lot de paciente cu diagnosticul de cancer endometrial stadializate chirurgical în Institutul Oncologic “Prof. Dr. Ion Chiricuță” Cluj-Napoca (IOCN). În acest studiu este analizat un set de markeri moleculari cu privire la utilitatea acestora (individuală și combinată) în procesul de stratificare a pacienților în grupe de risc pentru metastazarea limfatică.

Studiu 1. Factori predictivi pentru diseminarea ganglionară în cancerul endometrial

Introducere

Cancerul endometrial este global cea mai frecventă afecțiune malignă ginecologică dar prezintă variații geografice ale incidenței. Astfel ratele de incidență cele mai înalte sunt atinse în țările din America de Nord și din Europa de Nord și de Vest precum și în alte societăți dezvoltate economic.

Obiective

Obiectivul principal al studiului de față este să evalueze factorii clinici și histo-patologici predictivi pentru diseminarea limfatică a cancerului endometrial. De asemenea, ca obiectiv secundar, sunt evaluate practicile chirurgicale ale medicilor chirurghi și ginecologi oncologi din cadrul IOCN cu referire la limfadenectomie și evoluția acestora pe parcursul intervalului de timp studiat.

Material și metodă

Studiul este un studiu retrospectiv, analitic al unui lot de paciente tratate chirurgical pentru adenocarcinom endometrial în cadrul secțiilor chirurgicale ale IOCN.

Au fost analizate Registrul Malign Teritorial al IOCN, Registrul DRG al IOCN și fiile de observație ale pacientelor cu evaluarea factorilor prognostici cunoscuți – tip histologic, grading tumoral (G), parametrul T (invazia miometrială, invazia stromei cervicale), diseminarea intraperitoneală a bolii dar și invazia spațiului limfo-vascular (ISLV) și vârsta la momentul diagnosticului. Buletinele histo-patologice au fost revizuite și cazurile au fost reîncadrate stadial conform sistemului de stadializare FIGO 2009.

Studiul a beneficiat de aprobarea Comitetului de etică al spitalului și toate pacientele au semnat un formular de consimțământ informat – model instituțional.

Analiza statistică a fost efectuată folosind programele Microsoft Excel și Epiinfo. După calcularea indicilor descriptivi, testele statistice aplicate au fost testul Student și testul Hi2. Valoarea indicelui p a fost considerată semnificativă statistic dacă $p < 0,05$.

Rezultate

În perioada de 5 ani analizată au fost înregistrate în Registrul Malign Teritorial al IOCN și tratate în diverse secții ale instituției noastre 1227 cazuri noi de cancer endometrial. Dintre acestea 870 de paciente au fost operate în cadrul secțiilor

chirurgicale ale IOCN (cazuri raportate în Registrul DRG). După aplicarea criteriilor de excludere menționate 709 cazuri au fost declarate eligibile pentru studiu.

La toate cele 709 paciente s-a practicat histerectomie totală simplă sau radicală și anexectomie bilaterală și s-au asociat proceduri de staging peritoneal – biopsii peritoneale, omentectomie totală sau infracolică precum și proceduri retroperitoneale pelvine și/sau paraaortice în 206 cazuri, cu un număr mediu de 15,6 ganglioni excizați. Rata globală de afectare ganglionară metastatică în lotul de paciente analizat a fost de 4,4%.

Vârsta medie a pacientelor luate în studiu a fost de 60 de ani cu limite cuprinse între 35 și 83 de ani. Cel mai puțin afectată a fost decada 35-44 de ani cu doar 20 de cazuri iar decada cea mai afectată a fost 55-64 de ani cu 50,6% dintre paciente situate în acest interval de vârstă. De remarcat că aproximativ 80% dintre paciente au o vârstă peste 55 de ani. Aceste date demografice sunt în concordanță cu datele din literatura de specialitate.

Tipul histologic adenocarcinom endometrioid a fost prezent în 85% din cazuri pe când alte tipuri histologice epiteliale non-endometrioide - carcinom cu celule clare, carcinom papilar seros, carcinom adenoscuamos, carcinom mucinos, adenocarcinom mixt – au reprezentat 15% din cazuri.

A fost analizată statistic influența prezenței parametrilor histo-patologici studiați (invazia miometrială, parametrul T, ISLV, prezența intraperitoneală a bolii) asupra afectării ganglionare. Prezența fiecărui factor de risc studiat a fost asociată semnificativ statistic cu metastazarea limfoganglionară ($p < 0,05$).

La pacientele cu invazie miometrială superficială s-au efectuat proceduri retroperitoneale în 73 de cazuri (26%) fără a decela adenopatii pozitive. În grupul pacientelor care au prezentat invazie miometrială profundă s-au practicat 123 de limfadenectomii cu o rată de afectare ganglionară de 8% decelându-se astfel o diferență puternic semnificativă statistic ($p < 0,05$) între ratele de metastazare limfatică.

În grupul pacientelor încadrate în stadiul T1a s-a efectuat limfadenectomie în 23% dintre cazuri cu o rată nulă de ganglioni pozitivi. Pacientele stadializate tumoral T1b au beneficiat de limfadenectomie în 28,2% dintre cazuri depistându-se 14 cazuri (5%) cu adenopatii pozitive. La cazurile încadrate într-un stadiu $\geq T2$ s-au efectuat proceduri ganglionare retroperitoneale într-un procent ridicat (41,2%) cu o rată de afectare ganglionară de 10%. Analiza statistică a arătat o importantă asociere semnificativă statistic a parametrului T cu rata de diseminare limfo-ganglionară ($p < 0,05$) cu șanse duble de a dezvolta metastaze ganglionare a pacientelor din stadii $\geq T2$ față de pacientele stadializate T1b (odds ratio = 2).

Diseminarea extrauterină a cancerului endometrial a fost prezentă în 60 de cazuri dintre care 23 (38,3%) au beneficiat de limfadenectomie decelându-se 11 cazuri (18%) cu adenopatii metastatice. Din grupul de paciente care nu au prezentat boala intraperitoneală doar în 3% din cazuri s-a evidențiat afectarea ganglionară cu toate că rata de efectuare a limfadenectomiei a fost destul de ridicată (28,2%).

Prezența ISVL a fost depistată în 161 de cazuri dintre care la 55 (34,2%) de paciente s-a efectuat limfadenectomie cu o rată de afectare ganglionară de 12%. Absența ISLV s-a asociat cu o rată scăzută de metastazare limfatică (2%) scădere semnificativă statistic ($p < 0,05$). În urma analizei statistice am observat corelarea între prezența acestui factor cu prezența stadiilor tumorale avansate – factor de prognostic negativ demonstrat anterior. S-a remarcat că în grupul de paciente ISLV pozitive proporția stadiilor tumorale avansate $\geq T2$ a fost de 45,3% pe când în grupul de paciente ISVL negative aceste stadii au fost decelate în doar 15,8% dintre cazuri.

Analiza statistică univariată a demonstrat influența gradului de diferențiere asupra diseminării limfatice a cancerului endometrial ($p < 0,05$) și a evidențiat o corelație puternică între acesta și prezența factorilor histo-patologici de prognostic negativ evaluați în acest studiu (coeficient de corelație $r^2 > 0,81$).

Vârsta peste 55 de ani a fost asociată semnificativ statistic ($p < 0,05$) cu prezența factorilor de prognostic negativ urmăriți în studiu.

Am decelat procente în creștere de efectuare a unor limfadenectomii extinse în perioada de timp analizată. Astfel dacă pentru pacientele operate în anul 2008 s-au recoltat mai mult de 10 limfoganglioni în 12,7% dintre cazuri, în anii următori s-au înregistrat proporții în constantă creștere ale limfadenectomiilor extinse, pentru ca în anul 2012 rata de efectuare a acestora să atingă cota de 24,6%.

Studiul statistic a arătat că diferența de 4,6% în favoarea cazurilor cu limfadenectomie extinsă a prezentat semnificație statistică ($p < 0,05$) dovedind astfel că amploarea gesturilor chirurgicale are o pondere însemnată în procesul de stadializarea adecvată a pacienților cu cancer endometrial.

Concluzii

Factorii de prognostic evaluați în studiu au fost asociați semnificativ statistic cu diseminarea limfatică în cancerul endometrial.

Studiul subliniază importanța parametrilor cunoscuți preoperator atât histo-patologici (tip histologic, grad de diferențiere celulară) cât și clinici (vârsta) demonstrând o asociere semnificativă statistic între aceștia și factorii de prognostic negativ prezenți în analiza anatomo-patologică definitivă.

Limfadenectomia pelvină și/sau paraaortică este justificată la cazurile cu risc crescut de invazie limfoganglionară.

Studiu 2. Imagistica prin Rezonanță Magnetică (IRM) în evaluarea preoperatorie a pacientelor cu carcinom endometrial

Introducere

Având în vedere ratele globale scăzute de afectare ganglionară la pacientele cu boală limitată la nivelul uterului este evidentă utilitatea unei metode noninvazive cu acuratețe înaltă în predicția preoperatorie a metastazării ganglionare. Pe măsură ce metodele imagistice devin tot mai sofisticate există speranța că acestea vor oferi informații precise despre starea ganglionilor limfatici ajutând astfel la selectarea pacientelor în vederea stadializării chirurgicale complexe.

Dovezile existente în literatură recomandă IRM ca metoda cu cea mai înaltă acuratețe în stadializarea cancerului endometrial atât în ceea ce privește invazia miometrială sau cervicală cât și referitor la statusul ganglionilor limfatici.

Ipoteza de lucru. Obiective

Studiul de față are ca obiectiv evaluarea performanțelor diagnostice ale Imagisticii prin Rezonanța Magnetică (IRM) în stadializarea preoperatorie a cancerului endometrial cu referire strictă la capacitatea metodei de a identifica preoperator unii factori cunoscuți de prognostic negativ: invazia miometrială profundă, invazia stromei cervicale și afectarea limfoganglionară.

Material și metodă

Studiul este un studiu retrospectiv, analitic al unei cohorte de paciente tratate chirurgical pentru carcinom endometrial în Institutul Oncologic "Prof. Dr. Ion Chiricuță" Cluj-Napoca (IOCN) în perioada Ianuarie 2008 – Decembrie 2012. Au fost incluse în studiu paciente cu diagnosticul de carcinom endometrial confirmat histopatologic prin chiuretaj uterin sau biopsie endometrială histeroscopică, examinate prin IRM preoperator și stadializate chirurgical în instituția noastră.

Analiza statistică a comparat rezultatele IRM cu rezultatele histo-patologice folosind tabele de contingență și calculând conform formulelor standard parametrii statistici: acuratețe, sensibilitate (S_n), specificitate (S_p), valoare predictiv pozitivă (VPP) și valoare predictiv negativă (VPN). S-au folosit programele Microsoft Excel și Epiinfo. După calcularea indicilor descriptivi, testele statistice aplicate au fost testul Student și testul Hi2, valoarea indicelui p fiind considerată semnificativă statistic dacă $p < 0,05$.

Rezultate

La toate cele 46 paciente s-a practicat histerectomie totală simplă sau radicală și anexectomie bilaterală la care s-au asociat proceduri de stadializare peritoneală – biopsii peritoneale, omentectomie totală sau infracolică și limfadenectomie pelvină și/sau paraaortică cu un număr mediu de 22,3 (limite 10-51) ganglioni excizați. Vârsta medie a fost de 63 de ani cu limite cuprinse între 37 și 83 de ani.

Repartiția cazurilor în funcție de tipul histologic a evidențiat faptul că adenocarcinomul endometrioid a fost prezent în 80,4% din cazuri dintre care 13,1% carcinoame slab diferențiate, pe când alte tipuri histologice epiteliale non-endometrioide (HENE) - carcinom cu celule clare, carcinom papilar seros, carcinom adenoscuamos, carcinom mucinos, adenocarcinom mixt – au reprezentat 19,6% din cazuri.

Încadrarea stadială histo-patologică conform parametrului T (tumoră) FIGO 2009 a încadrat pacientele astfel: 31 de cazuri cu boală limitată la nivelul corpului uterin – T1a/T1b, 10 cazuri cu invazia stromei cervicale – T2 și 5 cazuri cu afectarea anexială sau parametrială – T3a/T3b.

Rata de invazie miometrială superficială (<50% din grosimea miometrului) a fost de 37% pe când invazia miometrială profundă (>50% din grosimea miometrului) a fost decelată în 63% dintre cazuri.

Rata globală de afectare ganglionară metastatică în lotul de paciente analizat a fost de 19,6%.

S-au calculat parametrii statistici ai examinării IRM: acuratețe, sensibilitate (Sn), specificitate (Sp), valoare predictiv pozitivă (VPP) și valoare predictiv negativă (VPN) pentru fiecare parametru histo-patologic evaluat.

Concluzii

Rezultatele acestui studiu sunt concordante cu cele din literatură și demonstrează utilitatea IRM în bilanțul preoperator al pacientelor cu carcinom endometrial care însă deocamdată nu poate înlocui stadializarea chirurgicală complexă incluzând limfadenectomia – „gold-standard” la momentul actual, dar poate oferi informații importante, utile în adaptarea tacticii chirurgicale adresate unor paciente vârstnice, cu patologie asociată dar cu un prognostic oncologic în general favorabil.

Sunt necesare studii prospective care să analizeze atât acuratețea IRM în stadializarea cancerului endometrial cât și impactul acestei examinări asupra managementului terapeutic chirurgical și oncologic al acestor paciente.

Studiu 3. Tabloul imunohistochimic – factor de prognostic în cancerul endometrial

Introducere

Studiile imunohistochimice reprezintă probabil domeniul cu cel mai mare potențial în cercetarea acestei malignități. Pentru a îmbunătăți managementul terapeutic al acestor paciente la ora actuală sunt studiați o gamă largă de markeri moleculari și se încearcă într-o anumită măsură aplicarea acestora în tentativa de individualizare a tratamentului. Dezideratul principal al acestor cercetări este identificarea cazurilor cu prognostic negativ dintre cazurile cu risc clinic aparent scăzut preoperator pentru a le oferi o chirurgie extensivă celor cu tumori agresive.

Ipoteza de lucru/obiective

Obiectivul acestui studiu este evaluarea biomarkerilor receptori estrogenici, receptori progesteronici (ER/PR), proteinele P53, P16 și Her2 și indicele de proliferare Ki-67 cu privire la capacitatea acestora de predicție a diseminării limfoganglionare și utilitatea tabloului imunohistochimic analizat în stratificarea pe grupe de risc a pacienților cu cancer endometrial.

De asemenea este propus un model de scor imunohistochimic obținut prin cuantificarea datelor raportate despre expresiile diferitelor alterări genetice studiate.

Material și metodă

Studiul este un studiu retrospectiv, analitic al unei cohorte de paciente tratate chirurgical pentru carcinom endometrial în Institutul Oncologic "Prof. Dr. Ion Chiricuță" Cluj-Napoca (IOCN) în perioada Ianuarie 2008 – Decembrie 2012. Au fost incluse în studiu paciente cu diagnosticul de carcinom endometrial confirmat histopatologic prin chiuretaj uterin sau biopsie endometrială histeroscopică și stadializate chirurgical în instituția noastră. Au fost definite două loturi de paciente, lotul A (de studiu) care cuprinde pacientele cu adenopatii metastatice și lotul B (martor) care a cuprins paciente cu caracteristici clinice și histopatologice asemănătoare dar fără afectare ganglionară.

S-au folosit programele Microsoft Excel și MedCalc v.12.7.0.0. După calcularea indicilor descriptivi, testele statistice aplicate au fost testul χ^2 sau testul exact al lui Fisher în cazul în care au existat variabile mai mici decât valoarea absolută 5, valoarea indicelui p fiind considerată semnificativă statistic dacă $p < 0,05$.

Rezultate

Inițial au fost incluse în studiu 62 de paciente distribuite astfel: 31 de paciente în lotul de studiu (lot A) care a cuprins paciente cu adenopatii metastatice (N+) și 31 de paciente în lotul martor (lot B) – lot care a cuprins paciente cu caracteristici clinico-patologice asemănătoare dar fără afectare limfoganglionară (N0). După aplicarea criteriilor de excludere au fost declarate eligibile pentru studiu 55 de cazuri (27 în lotul de studiu respectiv 28 în lotul martor).

Rezultatele studiului imunohistochimic cuprinzând ratele de expresie ale biomarkerilor utilizați sunt prezentate detaliat pentru cele două loturi de paciente. O analiză comparativă și detaliată a celor două loturi din punct de vedere al ratelor de expresie a markerilor moleculari studiați este prezentată.

Pentru a analiza influența combinată a biomarkerilor studiați și corelația acestor combinații de caracteristici moleculare asupra comportamentului clinic agresiv (diseminarea limfatică în studiul de față) al tumorilor din lotul A comparativ cu cele din lotul B am imaginat un sistem de cuantificare a datelor imunohistochimice obținute. Am atribuit valori numerice ratelor de expresie a biomarkerilor obținând astfel pentru fiecare caz un scor imunohistochimic (Scor IHC) cuprins între 0 și 9.

Este demonstrată o puternică corelație între Scorul IHC și factorul de discriminare a celor două grupuri de paciente – statusul ganglionar.

Pentru a calcula valoarea statistică a Scorului IHC folosit am calculat parametrii statistici standard (sensibilitate, specificitate, valoare predictiv pozitivă și valoare predictiv negativă) pentru valorile acestuia ≤ 4 și > 4 . Datele celor 55 de paciente luate în calcul au fost introduse într-un tabel de contingență cu valori de referință statusul ganglionar la examinarea histopatologică. Astfel Scorul IHC propus și folosit în acest studiu a arătat o sensibilitate de 77,77%, o specificitate de 85,71%, valoare predictiv pozitivă de 84% și valoare predictiv negativă de 80%.

Concluzii

Biomarkerii utilizați în studiul de față au fost asociați semnificativ statistic cu tumori cu un comportament clinic agresiv (N+). Markerii moleculari studiați se asociază cu tumori cu proprietăți clinico-patologice agresive sugerând un potențial prognostic negativ al acestora în cancerul endometrial.

Scorul imunohistochimic propus și utilizat în studiu a dovedit valoare statistică și poate constitui un punct de pornire pentru cercetări viitoare cu privire la capacitatea predictivă a unor astfel de scoruri în vederea stabilirii prognosticului și adaptării managementului terapeutic al pacientelor cu cancer endometrial.

Concluzii generale

Factorii de prognostic clinici (vârsta), histo-patologici (tip histologic, grad de diferențiere celulară, invazia miometrială profundă, parametrul T FIGO, invazia spațiului limfo-vascular, boala intraperitoneală) și terapeutici (amploarea limfadenectomiei) evaluați în studiu au fost asociați semnificativ statistic cu diseminarea limfatică în cancerul endometrial.

Potențialul acestor parametri este augmentat de faptul că majoritatea pot fi evaluați preoperator prin investigații imagistice și intraoperator prin examinare extemporanee.

Factorii clinico-patologici nou studiați – vârsta, invazia spațiului limfovacular și amploarea actului chirurgical – au demonstrat asociere statistică cu metastazarea limfatică și este justificată recomandarea de introducere a lor în sistemele de stratificare a gradului de risc ale pacientelor cu cancer endometrial.

Limfadenectomia pelvină și/sau paraaortică este justificată la cazurile cu risc crescut de invazie limfoganglionară.

Este recomandat ca tratamentul cancerului endometrial să fie oferit pacientelor în centre specializate, cu posibilități de evaluare pre- și intraoperator a factorilor de prognostic, de către chirurghi sau ginecologi-oncologi cu experiență în chirurgia extensivă peritoneală și retroperitoneală.

Datele concrete prezentate referitoare la practicile chirurgicale constituie dovezile unor îmbunătățiri ale tehnicilor chirurgicale și ale unei adaptări a conduitei chirurgicale în cancerul endometrial, în rândul chirurgilor din IOCN, în conformitate cu ghidurile internaționale.

Teza prezintă date concordante cu cele din literatură în ceea ce privește utilitatea IRM în bilanțul preoperator al pacientelor cu carcinom endometrial care însă deocamdată nu poate înlocui stadializarea chirurgicală complexă incluzând limfadenectomia – „gold-standard” la momentul actual, dar poate oferi informații importante, utile în adaptarea tacticii chirurgicale.

Biomarkerii utilizați în studiul de față au fost asociați semnificativ statistic cu tumori cu un comportament clinic agresiv (N+).

Scorul imunohistochimic propus și utilizat în studiu a dovedit valoare statistică și poate constitui un punct de pornire pentru cercetări viitoare cu privire la capacitatea predictivă a unor astfel de scoruri în vederea stabilirii prognosticului și adaptării managementului terapeutic al pacientelor cu cancer endometrial.

SUMMARY OF THE PhD THESIS

Diagnosis and complex surgical treatment in endometrial cancer

PhD student Florin Laurențiu Ignat

Thesis advisor **Prof. Dr. Nicolae Costin**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

SUMMARY

INTRODUCTION	13
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	
1. Epidemiology of endometrial cancer	17
1.1. Epidemiological data	17
1.2. Epidemiological risk factors	17
1.2.1. Hyperestrogenism	17
1.2.2. Socio-economic factors	18
1.2.3. Comorbidities	18
1.2.4. Genetic factors	18
2. Lymphadenectomy role in the treatment of endometrial cancer	19
2.1. Therapeutic and prognostic role	19
2.2. Impact on clinical management	21
2.3. Economic considerations	21
3. Predictors of lymph node metastasis	23
3.1. FIGO staging of endometrial cancer	23
3.2. Preoperative assessment	25
3.2.1. Clinical factors	25
3.2.1.1. Age	25
3.2.1.2. Imaging	26
3.2.2. Histo-pathological factors	28
3.2.2.1. Grading	28
3.2.2.2. Histological type	28
3.2.2.3. Immunohistochemistry	29
3.3. Intraoperative assessment	29
3.3.1. Visual examination and palpation	29
3.3.2. Extemporaneous examination	30
3.3.3. Intraoperative ultrasonography	30
3.3.4. Sentinel lymph node detection technique	30
4. Surgical tactics	31
4.1. Type of surgery	31
4.2. Extent of lymphadenectomy	33
4.3. Morbidity of the procedures	34

PERSONAL RESEARCH

1. Work theory / objectives	37
2. The 1st study Predictive factors for the dissemination of lymph nodes in endometrial cancer	39
2.1. Introduction	39
2.2. Work theory / objectives	43
2.3. Material and method	43
2.4. Results	44
2.5. Discussions	59
2.6. Conclusions	62
3. The 2nd study The MRI (Magnetic Resonance Imaging) in preoperative evaluation of patients with endometrial carcinoma	63
3.1. Introduction	63
3.2. Work theory / objectives	63
3.3. Material and method	64
3.4. Results	65
3.5. Discussions	71
3.6. Conclusions	73
4. The 3rd study. The immunohistochemical panel - a prognosis factor in endometrial cancer	75
4.1. Introduction	75
4.2. Work theory / objectives	77
4.3. Material and method	79
4.4. Results	80
4.5. Discussions	88
4.6. Conclusions	90
5. General discussions	91
6. General conclusions	95
7. Originality and innovative contributions of the thesis	97

REFERENCES	99
-------------------	----

KEY WORDS: endometrial cancer, biomarkers, immunohistochemical score

INTRODUCTION

Endometrial cancer is the most frequent gynaecological malignity in developed countries.

The stadialization of FIGO (The International Federation of Gynaecology and Obstetrics) from 1988, modified in 2009, uses anatomo-pathological factors (myometrial invasion, cervical stromal invasion, the lymph nodes status, the intraperitoneal presence of the disease), giving thus the surgery an important role in endometrial cancer stadialization, additionally to the therapeutical role.

The surgery of endometrial cancer comprises the total hysterectomy and the bilateral anexectomy, procedures at the level of the peritoneum and epiploon - biopsies, partial or total omentectomy, procedures at the level of retroperitoneum - lymph nodes biopsies, selective pelvic lymphadenectomy, paraaortic lymphadenectomy. Although the FIGO stadialization system pleads for the lymphadenectomy, it doesn't establish the indications, the type and the extension of the lymphadenectomy, leading to controversies discussed in numerous studies.

There is a great interest in the international medical environments in discovering a reliable prediction method of paraaortic and pelvic lymph nodes status - key factors in stadialization, prognosis and orientation of adjuvant treatment of endometrial cancer. There is a need for establishing an optimal surgical behaviour in order to have a correct and complete stadialization, and to offer the adequate treatment for each patient.

This thesis evaluates the clinical and histopathological factors of negative prognosis, used for stratifying risk groups for patients with early endometrial cancer, candidates for surgery, and demonstrates the correlation of these factors with the presence of lymphatic and ganglionic invasion. We also evaluated the diagnostic performances of MRI in preoperative stadialization of endometrial carcinoma on a batch of patients surgically stadialized. The thesis contains data about biomarker evaluation: estrogen receptors, progesteron receptors (ER/PR), P53, P16 and Her2 and the proliferaton index Ki-67 regarding their ability to predict the dissemination of lymph nodes.

We chose this subject for our thesis because the study of prognostic factors and the controversies about the lymphadenectomy in endometrial cancer are and will remain actual subjects in the medical world, with great implications in the therapeutic management of patients having this diagnosis.

PERSONAL RESEARCH

Work theory / objectives

This thesis "Diagnosis and complex surgical treatment in endometrial cancer" has as a main purpose to evaluate the prognostic factors for the dissemination of lymph nodes in endometrial cancer.

The thesis is based on three retrospective, observational and analytic research studies having the research domain the analysis of clinical and histopathological factors involved in the natural evolution of endometrial cancer with a major importance in stadialization, establishing a prognosis and adapting the multimodal oncological treatment of patients.

The first study comprises patients surgically treated for endometrial carcinoma in the Oncology Institute "Prof. Dr. Ion Chiricuta" Cluj-Napoca (IOCN) on a period of 5 years (January 2008 - December 2012), and analyses the main known negative prognostic factors, but also factors less studied, and their association with the most important prognostic factor - the lymph node alteration (N+). The first study evaluates the surgical practices of surgeons and oncological gynaecologists from IOCN - the lymphadenectomy and its evolution in the studied interval.

The second study is a retrospective one, analysing a cohort of patients surgically treated for endometrial carcinoma in the Oncology Institute "Prof. Dr. Ion Chiricuta" Cluj-Napoca in January 2008 - December 2012, examined through preoperative MRI and surgically stadialized in our institution. The objective of the study is to evaluate the diagnostic performances of MRI in the preoperative evaluation of endometrial cancer in reference to the ability of the method to preoperatively identify some known factors of negative prognosis.

The third study is a immunohistochemical study which comprises a batch of patients diagnosed with endometrial cancer, surgically stadialized at the Oncology Institute "Prof. Dr. Ion Chiricuță" Cluj-Napoca (IOCN). The study analyses a set of molecular markers as to their utility (individual and combined) in the process of stratifying patients in risk groups, for lymphatic metastases.

The 1st study Predictive factors for the dissemination of lymph nodes in endometrial cancer

Introduction

Endometrial cancer is globally the most frequent gynaecological malignant disease, but the incidence depends on the geographic variations. Thus, the highest incidence rates are met in the countries in Northern America and Northern and Eastern Europe, and in other developed societies.

Objectives

The main objective of the study is to evaluate predictive clinical and histopathological factors for lymphatic dissemination of endometrial cancer. Also, as a secondary objective, the study evaluates the surgical practices of surgeons and oncological gynaecologists from IOCN - the lymphadenectomy and its evolution in the studied interval.

Material and method

The study is a retrospective one, analysing a cohort of patients surgically treated for endometrial adenocarcinoma in the Oncology Institute.

We analysed the Territorial Cancer Registry of the Oncology Institute, the DRG medical registry of the IOCN, and the observation sheets of patients with known prognosis factors evaluation - histology type, tumoral degree (G), T parameter (myometrial invasion, cervical stromal invasion), intraperitoneal dissemination of the disease and the invasion of lymphatic-vascular space (ILVS), and the age at the moment of diagnosis. We revised the histopathological bulletins, and we reconsidered the cases according to the stadialization system FIGO 2009.

The study was approved by the hospital's Ethical Committee and all the patients signed an Informed Consent form - an institutional model.

The statistical analysis was made using Microsoft Excel and Epiinfo. After calculating the descriptive values, the applied statistic tests were Student and Hi2. The value of "p" was considered significantly statistic if $p < 0,05$.

Results

In the analysed period of 5 years, the Territorial Cancer Registry of the Oncology Institute registered 1227 new endometrial cancer cases treated in the Institute. From these patients, 870 were surgically treated at IOCN (cases reported in the DRG

Registry). After applying the mentioned exclusion criteria, 709 cases were declared eligible for the study.

All the 709 patients had simple or radical total hysterectomy and bilateral anexectomy, with associated peritoneal staging procedures - peritoneal biopsies, total or infracolic omentectomy and pelvic and/or paraaortic retroperitoneal procedures in 206 cases, with an average number of 15.6 excised nodes. The global rate of metastatic lymph node alteration in the batch of patients was of 4.4%.

The average age of patients in the study was 60 years old, with limits of 35 and 80 years old. The decade the least affected was the one of 35-44 years old with only 20 cases, and the most affected was the one of 55-64 years old with 50.6%. Approximately 80% of patients are over 55 years old. These demographic data are in concordance with the ones in the literature.

The histological type of endometrial adenocarcinoma was present in 80% of cases, while other non-endometrial epithelial histological types represented 15%: clear-cell carcinoma, serous papillary carcinoma, adenosquamous carcinoma, mucinous carcinoma, mixed adenocarcinoma.

We statistically analysed the influence of present histopathological parameters (myometrial invasion, the T parameter, ILVS, the intraperitoneal presence of the disease) upon lymph node alteration. The presence of each studied risk factor was significantly associated with lymphoganglionic metastasis.

In 73 cases (26%) we proceeded retroperitoneal procedures in patients with superficial myometrial invasion, without distinguishing positive adenopathy. In the group of patients with profound myometrial invasion, we proceeded 123 lymphadenectomies, with a rate of lymph node alteration of 8%, and we distinguished a significant statistical difference ($p < 0.05$) between the rates of lymph metastasis.

In the group of patients in stage T1, we proceeded lymphadenectomy in 23% of cases with a zero rate of positive nodes. The patients in stage T1b benefited from lymphadenectomy in 28.2%, with 14 cases (5%) of positive adenopathy. In cases falling at a stage $\geq T2$ we performed retroperitoneal lymph node procedures in a high percentage (41.2%) with nodal involvement rate of 10%. Statistical analysis showed a statistically significant association of parameter T with a node dissemination rate ($p < 0.05$) twice as likely to develop metastasis lymph node in patients prior to $\geq T2$ T1b staged patients (odds ratio = 2).

The extrauterine dissemination of endometrial cancer was present in 60 cases, of which 23 (38.3%) benefited from lymphadenectomy; we discovered 11 cases (18%) with metastatic adenopathies. The lymph node alteration was present in only 3% in the cases without intraperitoneal disease, although the rate of lymphadenectomies was high - 28.2%.

The presence of ILVS was traced in 161 cases, from which 55 patients (34.2%) benefited from a lymphadenectomy, and had a rate of lymph node alteration of 12%. The ILVS absence was associated with a low rate of lymphatic metastasis (2%), a

significant statistical reduction ($p < 0.05$). After the statistical analysis, we observed a correlation between this factor and the presence of advanced tumoral stages - negative prognostic factors previously demonstrated. It was noted that in the group of patients ISLV positive the proportion of advanced tumour stage $\geq T2$ was of 45.3%, while in the group of patients ISVL negative these stages were found in only 15.8% of cases.

Univariate statistical analysis showed the influence of the degree of differentiation upon lymphatic dissemination of endometrial cancer ($p < 0.05$) and showed a strong correlation between this and the presence of histopathological negative prognostic factors evaluated in this study (correlation coefficient $r \geq 0.81$).

Age over 55 years was statistically associated ($p < 0.05$) with the presence of negative prognostic factors followed in the study.

We detected increasing percentages of extensive lymphadenectomies during the period of time analysed. Thus, if for the patients operated in 2008 there were collected more than 10 lymph nodes in 12.7% of cases, in the coming years there have been steadily increasing proportions of extended lymphadenectomy, in 2012 their rate reaching 24.6%.

The statistical study showed that the difference of 4.6% for cases with extended lymphadenectomy was statistically significant ($p < 0.05$), confirming that the extent of surgical gestures has a significant share in the proper staging of patients with endometrial cancer.

Conclusions

The prognostic factors evaluated in the study were statistically associated with lymphatic dissemination in endometrial cancer.

The study underlines the importance of known preoperative and histopathological parameters (histological type, degree of cellular differentiation) and clinical parameters (age), demonstrating a statistically significant association between these negative prognostic factors present in the final anatomopathological analysis.

Pelvic and/or paraaortic lymphadenectomy is justified in the cases with a high risk of lymphoganglionic invasion.

The 2nd study The MRI (Magnetic Resonance Imaging) in preoperative evaluation of patients with endometrial carcinoma

Introduction

Given the low overall rates of lymph node alteration in patients with disease limited to the uterus, the utility of non-invasive methods with high accuracy in predicting lymph node metastasis before surgery is obvious. As imaging methods become more sophisticated we are hoping that they will provide accurate information about the status of lymph nodes, thus helping to select patients for a complex surgical staging.

The evidences in the literature recommend MRI as the the most accurate method in staging endometrial cancer, as to myometrial or cervical invasion and the status of lymph nodes.

Work theory. Objectives

The objective of the study is to evaluate the diagnostic performances of MRI in the preoperative evaluation of endometrial cancer in reference to the ability of the method to preoperative identify some known factors of negative prognosis: profound myometrial invasion, cervical stromal invasion and lymphoganglionic disease.

Material and method

The study is a retrospective one, analysing a cohort of patients surgically treated for endometrial carcinoma in the Oncology Institute "Prof. Dr. Ion Chiricuta" Cluj-Napoca in January 2008 - December 2012. The study included patients diagnosed with histopathologically confirmed endometrial carcinoma through uterine curettage or endometrial hysteroscopic biopsy, examined by MRI before surgery and surgically staged in our institution.

The statistical analysis compared the MRI results with the histopathological results, using contingency tables and calculating according to standard formulas the statistical parameters: accuracy, sensitivity (Sn), specificity (Sp), positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV). We used Microsoft Excel and EpiInfo. After calculating descriptive indices, the statistical tests applied were Student test and Hi2 test, the value of index p being considered statistically significant if $p < 0,05$.

Results

In all 46 patients a simple or radical total hysterectomy and bilateral anexectomy were performed, with the association of peritoneal staging procedures - peritoneal biopsies, total or infracolic omentectomy and pelvic and / or paraaortic lymphadenectomy with an average number of 22.3 (range 10-51) excised nodes. The average age was 63 years old with a range between 37 and 83 years old.

The distribution of cases by histology type revealed that endometrioid adenocarcinoma was present in 80.4% of cases from which 13.1% were poorly differentiated carcinomas, whereas other epithelial non-endometrioid histological types (HENE) - clear-cell carcinoma, papillary serous carcinoma, adenosquamous carcinoma, mucinous carcinoma, mixed adenocarcinoma - represented 19.6% of the cases.

The FIGO 2009 histopathological stage classification according to parameter T (tumour) classified the patients as follows: 31 cases with disease limited to the uterine corpus - T1a/T1b, 10 cases of cervical stromal invasion - T2 and 5 cases with adnexal or parametrial damage - T3a/T3b.

The rate of superficial myometrial invasion (<50% of the thickness of the myometrium) was 37%, whereas the deep myometrial invasion (> 50% of the thickness of the myometrium) was detected in 63% of cases.

The global rate of metastatic lymph node alteration in the batch of patients was of 19.6%.

We calculated the statistical parameters of MRI examination: accuracy, sensitivity (Sn), specificity (Sp), positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) for each histopathological parameter assessed.

Conclusions

The results of this study are consistent with the literature and demonstrate the usefulness of MRI in the preoperative balance of patients with endometrial cancer, which can not currently replace the complex surgical staging including "gold-standard" lymphadenectomy at the moment, but can provide important information, useful in adapting surgical tactics of older patients with associated pathology but with a generally favourable prognostic oncology.

Prospective studies are required to examine both the accuracy of MRI in staging endometrial cancer and the impact of this examination on surgical and oncological therapeutic management of these patients.

The 3rd study. The immunohistochemical panel - a prognosis factor in endometrial cancer

Introduction

Immunohistochemical studies have probably at the greatest potential in research of this malignancy. In order to improve the therapeutic management of such patients a wide range of molecular markers are studied and in some extent efforts are made to apply them in order to have an individual treatment. The main desideratum of this research is to identify cases with negative prognosis of clinically apparent low risk preoperatively cases, in order to provide an extensive surgery to those with aggressive tumours.

Work theory / objectives

The objective of this study is to evaluate estrogen receptors biomarkers, progesterone receptors (ER / PR) protein P53, P16 and Her2 and Ki-67 proliferation index on their ability to predict the lymphoganglionic dissemination and the usefulness of the immunohistochemical panel to stratify groups of patients with endometrial cancer risk.

We also proposed a model of immunohistochemical score obtained by quantifying reported data about expressions of different genetic alterations studied.

Material and method

The study is a retrospective one, analysing a cohort of patients surgically treated for endometrial carcinoma in the Oncology Institute "Prof. Dr. Ion Chiricuta" Cluj-Napoca in January 2008 - December 2012. The study included patients diagnosed with histopathologically confirmed endometrial carcinoma through uterine curettage or endometrial hysteroscopic biopsy, and surgically staged in our institution. We defined two groups of patients, group A (group of study) comprising patients with metastatic adenopathy and group B (witness group) which included patients with clinical and histopathological features similar but without lymph node alteration.

We used Microsoft Excel and MedCalc v.12.7.0.0. After calculating descriptive indices, the statistical tests applied were χ^2 test or Fisher's exact test where there were lower variables than the absolute value of 5, the index p being considered statistically significant if $p < 0,05$.

Results

Were initially included in the study 62 patients distributed as follows: 31 patients in the study group (group A) which included patients with metastatic adenopathy (N +) and 31 patients in the witness group (group B) - batch which included patients with resembling clinic and pathological characteristics without lymphoganglionic disease (N0). After applying the exclusion criteria we declared 55 cases eligible for proper study (27 in the study group and 28 in witness group).

The results of the immunohistochemical study including the expression rates of used biomarkers are detailed in the two groups of patients. A detailed analysis and comparison of the two groups in terms of the rate of expression of molecular markers analysed is presented.

To analyse the combined influence of studied biomarkers and the correlation of these combinations of molecular features upon aggressive clinical behaviour (lymphatic dissemination in the present study) of tumours in group A than those in group B, we imagined a quantification of obtained immunohistochemical data. We assigned numerical values to expression ratios of biomarkers, thus obtaining for each case an immunohistochemical score (IHC score) between 0 and 9.

It demonstrated a strong correlation between IHC score and the factor of discrimination of the two groups of patients - nodal status.

To calculate the statistical value of the IHC score used, we calculated standard statistical parameters (sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value) for its values ≤ 4 and > 4 . The data of 55 patients considered were placed in a contingency table, having as reference values the nodal status at the histopathological examination. Thus, the IHC score proposed and used in this study showed a sensitivity of 77.77%, a specificity of 85.71%, a positive predictive value of 84% and a negative predictive value of 80%.

Conclusions

Biomarkers used in this study were significantly associated with tumours with aggressive clinical behaviour (N +). Studied molecular markers associated with aggressive clinic and pathological tumour properties, suggesting their potential negative prognosis in endometrial cancer.

The immunohistochemical score proposed and used in the study proved a statistical value and may be a starting point for future research on the predictive ability of these scores to determine prognosis and adapting therapeutic management of patients with endometrial cancer.

General conclusions

Clinical prognostic factors (age), histopathological factors (histological type, degree of cell differentiation, deep myometrial invasion, FIGO parameter T, lymphovascular space invasion, intraperitoneal disease) and therapeutic factors (extent of lymphadenectomy) evaluated in the study were significantly statistically associated with the lymphatic dissemination in endometrial cancer.

The potential of these parameters is augmented by the fact that most can be evaluated by preoperative imaging and intraoperative investigations by extemporaneous examination.

The new studied clinical and pathological factors - age, lymphovascular space invasion and extent of surgical intervention - showed a statistical association with lymphatic metastasis and the recommendation to introduce systems of risk stratification of patients with endometrial cancer is justified.

Pelvic and/or paraaortic lymphadenectomy is justified in the cases with a high risk of lymphoganglionic invasion.

It is recommended that treatment for endometrial cancer be offered to patients in specialized centres, with possibilities of pre- and intraoperative evaluation of prognostic factors by surgeons or gynaecologists, oncologists with extensive experience in peritoneal and retroperitoneal surgery.

The presented concrete data on surgical practice is evidence of improvement in surgical techniques and in the adaptation of surgical management of endometrial cancer among surgeons in IOCN according to international guidelines.

The thesis presents data consistent with the literature regarding the utility of MRI in the preoperative balance of patients with endometrial cancer, which can not currently replace complex surgical staging including "gold-standard" lymphadenectomy at the moment, but it can provide important information useful in the adaptation of surgical tactics.

Biomarkers used in this study were significantly associated with tumours with aggressive clinical behaviour (N+).

The immunohistochemical score proposed and used in the study proved a statistical value and may be a starting point for future research on the predictive ability of these scores to determine prognosis and adapting therapeutic management of patients with endometrial cancer.