

Università degli Studi di Torino

Scuola di Medicina

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia



Tesi di Laurea

“Caratterizzazione diagnostica preoperatoria della cisti ovarica sospetta mediante l’utilizzo combinato di marcatori ecografici e sierici”.

Relatore:

Ch.ma Professoressa Chiara Benedetto

Candidato:

Silvia Zagami

Anno Accademico 2019/2020

Indice

Incidenza, prevalenza ed epidemiologia

Fattori di rischio

Classificazione WHO

Diagnosi:

- Presentazione clinica
- Diagnostica per immagini
- IOTA - ADNEX model
- Biomarcatori
- Analisi istopatologica intraoperatoria
- Screening

Stadiazione

Trattamento

Follow up

Parte sperimentale

Referenze bibliografiche e sitografia

Ringraziamenti

Vorrei dedicare questa pagina del presente elaborato alle persone che mi hanno supportato nella redazione dello stesso.

Un sentito grazie al mio relatore, la Professoressa Chiara Benedetto, per la sua infinita disponibilità e per avermi dato questa possibilità di apprendimento.

Ringrazio il Dottor. Stefano Cosma che è stato una guida pronta a fornirmi strumenti e suggerimenti utili ai fini della stesura dell'elaborato.

Ringrazio infinitamente i miei genitori che mi hanno sempre sostenuto, appoggiando ogni mia decisione e sostenendomi nella realizzazione dei miei progetti. Non finirò mai di ringraziarvi per avermi permesso di arrivare fin qui.

Un grazie speciale a mio fratello Andrea, per essere stato la mia ragione di vita.

Grazie a Marco per tutto il tempo che mi ha dedicato. Grazie per esserci sempre stato. Senza di te, la mia carriera universitaria e la mia vita non sarebbe potute essere la stesse.

Grazie ad Alessia, Giorgia, Giulia, Martina, Tania, Valentina e Veronica per essermi state accanto nei momenti felici e, soprattutto, nei giorni più difficili.

Grazie ai miei meravigliosi nonni e a tutti coloro che mi sono stati accanto in questo lungo e faticoso percorso.

Infine, ringrazio me stessa, i miei sacrifici e la mia tenacia, che mi hanno permesso di raggiungere questo traguardo, nella speranza che sia un punto di partenza.

Incidenza, prevalenza ed epidemiologia

La neoplasia ovarica rappresenta circa il 30% di tutti i tumori maligni dell'apparato genitale femminile e occupa il decimo posto tra tutti i tumori femminili (3%) [1].

Nel 2016 le diagnosi di tumore dell'ovaio in Italia sono state circa 5.200, pari al 3% dei tumori femminili. Per quanto riguarda l'età, il tumore dell'ovaio rappresenta il 3%, il 4% e il 3% di tutti i tumori femminili, rispettivamente, nelle fasce 0-49, 50-69 e 70+ anni.

Si stima che il rischio di sviluppare un tumore dell'ovaio nell'arco della vita di una donna sia di 1 su 74: il rischio è estremamente basso nelle donne giovani (1 caso su 499) ed è pari nelle due fasce di età successive (1 caso su 170 donne, circa). Il trend di incidenza appare in diminuzione, in maniera statisticamente significativa: -1,4% per anno. L'incidenza di questo tumore presenta un gradiente Nord-Sud: i nuovi casi, per 100.000 donne/anno, sono pari a 12,0, 11,4 e 11,0, rispettivamente, nelle Regioni del Nord, Centro e Sud Italia [B].

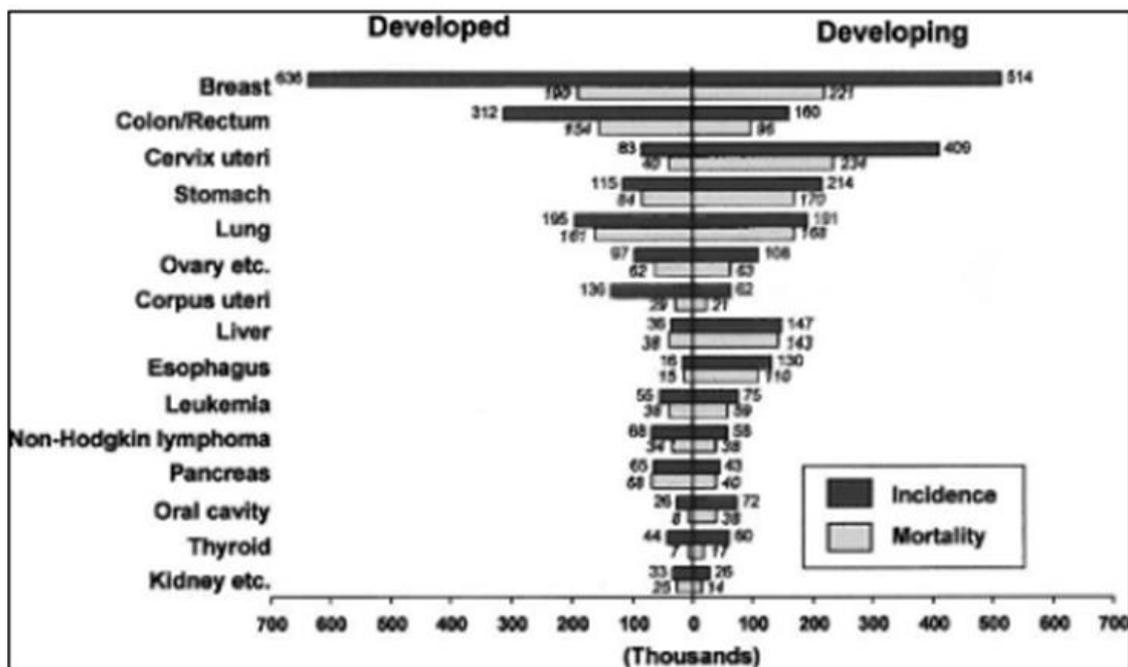


Figura 1. Incidenza delle neoplasie maligne nel sesso femminile[7]

L'80-90% dei tumori ovarici insorge in donne di età compresa fra i 20 e i 65 anni e meno del 5% in età pediatrica. Nella maggior parte dei casi (circa l'80%), si tratta di tumori benigni: il 60% circa è diagnosticato in donne con età inferiore a 40 anni.

Il 15-20% delle diagnosi di tumore ovarico è rappresentato da neoplasie maligne e, di questi, il 90% è diagnosticato in donne con età superiore a 40 anni.

Infine, il 5-10% delle diagnosi riguarda i tumori con malignità intermedia, definiti borderline. Questi ultimi si osservano maggiormente in donne giovani, con un picco di incidenza nella quarta e quinta decade.

L'incidenza delle neoplasie maligne varia nelle diverse aree geografiche, con tassi più elevati in Europa e nel Nord America [2,3]. L'incidenza è circa di 15 nuovi casi l'anno per 100.000 donne. Invece, in Africa e nel Sud-Est asiatico l'incidenza è di circa 1-2 casi l'anno per 100.000 donne. [2,3]

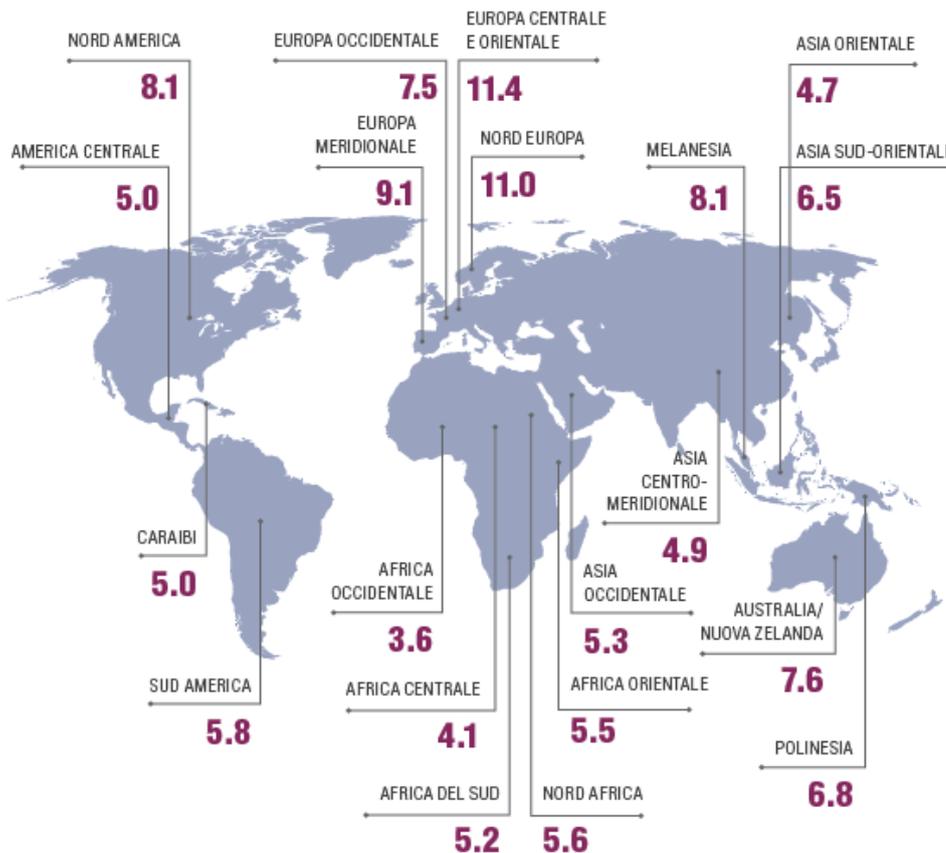


Figura 2. Nuovi casi di cancro ovarico diagnosticati nel 2012 per ogni 100.000 abitanti in ogni regione [55].

In Italia, le donne vive con diagnosi di tumore dell'ovaio sono circa 42.500, pari al 2% del totale delle donne con pregressa diagnosi tumorale. Il tasso di prevalenza per 100.000 donne è pari a 164 e 151 nelle Regioni del Nord-Ovest e Nord-Est e 141 e 116 per 100.000 rispettivamente nelle aree del Centro e Sud Italia. Oltre il 60% dei casi prevalenti ha affrontato la diagnosi da oltre 5 anni. La proporzione maggiore di casi prevalenti si osserva nella fascia di età 60-74 anni (326/100.000) [4, II].

La sopravvivenza a 5 anni delle donne con tumore dell'ovaio in Italia è pari al 38,1%, poco più elevata rispetto alla media europea (37,6%), ma più bassa rispetto al Nord Europa (41,1%). Nei Paesi del Sud Europa, tra cui l'Italia, esiste una stratificazione dei pazienti in base all'età: la sopravvivenza a 5 anni passa dal 73,4% registrato nelle donne giovani (15-44 anni) al 18,1% nelle donne anziane (75+).

Trattandosi di quadri clinici ad esito spesso infausto nel breve periodo, non sorprende come, allontanandosi dal momento della diagnosi, la probabilità di sopravvivere a 5 anni incrementi notevolmente nel medio-lungo periodo (50% dopo 1 anno, 80% dopo 5 anni). Non si evidenziano peraltro differenze significative di sopravvivenze tra le Regioni del Nord Italia (38%), quelle del Centro (41%) e quelle del Sud (35%) [4].

Per quanto concerne la mortalità per neoplasia ovarica, nel 2016 i decessi in Italia sono stati 3.302, pari al 5% dei decessi per tumore nelle genere femminile. Per quanto riguarda l'età, il tumore dell'ovaio rappresenta la quinta (6%), la quarta (7%) e l'ottava (4%) causa di morte, rispettivamente, nelle fasce di età 0-49, 50-69 e 70+ anni.

Si stima che il rischio di morire per un tumore dell'ovaio nell'arco della vita sia di 1 su 139. Il trend di mortalità del tumore dell'ovaio appare in lieve diminuzione (-0,7% per anno) [4].

Fattori di rischio ed etiologia

Negli ultimi decenni, alcuni studi epidemiologici avevano portato ad elaborare tre teorie riguardo alla eziologia dei tumori ovarici:

1. Una storia familiare di malattia è un fattore associato ad un aumentato rischio di neoplasia (fattori genetici familiari)
2. L'ovulazione incessante e la stimolazione gonadotropinica può portare a mutazioni cellulari e favorire la trasformazione neoplastica (fattori endocrini)
3. L'ovaio può essere esposto all'azione di cancerogeni attraverso la vagina e le tube di Falloppio (fattori ambientali).

Per i tumori sierosi di alto grado si ipotizza che il tumore origini da una lesione precancerosa (STIC) localizzata nella tuba. La fimbria tubarica è esposta allo stress ossidativo indotto dal ferro derivato dalla lisi dei globuli rossi durante la mestruazione retrograda (ipotesi della “mestruazione incessante”).

I processi di ossido-riduzione del ferro ($Fe^{3+} - Fe^{2+}$) generano specie reattive dell'ossigeno (ROS) che causano perossidazione lipidica, rotture delle eliche del DNA, attivazione e oncogeni e inibizione di geni oncosoppressori [34, 35].

FATTORI CHE AUMENTANO IL RISCHIO	FATTORI CHE RIDUCONO IL RISCHIO
Avere più gravidanze	Pillola contraccettiva orale
Comparsa precoce delle mestruazioni e menopausa tardiva	Legatura delle tube di Falloppio (sterilizzazione femminile)
Obesità	Allattamento
Storia familiare	
Mutazione di BRCA1 o BRCA2	

Figura 3. Fattori di rischio e protettivi per carcinoma ovarico[55]

Fattori genetici familiari

Studi recenti hanno evidenziato che le pazienti affette da carcinoma ovarico presentano una prevalenza di varianti patogenetiche costituzionali BRCA >10%, indipendentemente dall'età alla diagnosi e dalla presenza di storia familiare per tumore della mammella/ovaio [49].

La prevalenza di tali varianti patogenetiche aumenta nelle pazienti con carcinoma ovarico sieroso (17- 20%) [36, 37] e nelle pazienti platino-sensibili (30-40%). Inoltre, circa il 25% delle portatrici di variante patogenetica BRCA hanno una diagnosi di carcinoma ovarico ad un'età superiore ai 60 anni [36, 38, 39].

La maggior parte dei tumori ovarici epiteliali è sporadica, tuttavia nel 5-10% si riscontra un pattern familiare o ereditario.

I fattori di rischio biomolecolari interessano, in particolare, le mutazioni di due geni, BRCA1 e BRCA2.

Il gene BRCA1 risulta mutato nel 5% delle pazienti con insorgenza del cancro entro i 70 anni, mentre la presenza di una mutazione di uno dei 2 geni si associa nelle pazienti anziane (>70 anni) ad un rischio compreso tra il 20 ed il 60% [56, 57, 58].

Gli istotipi sierosi di basso grado appaiono più spesso correlati a mutazioni dei geni KRAS e BRAF [56].

Significativa è anche l'associazione fra carcinoma ovarico e tumore mammario per la presenza di loci comuni di suscettibilità genetica [56].

Le sindromi genetiche individuate sono:

- La Breast-ovarian cancer syndrome (legate a una mutazione dei geni BRCA1/BRCA2);
- La site specific ovarian cancer syndrome (legata a una mutazione dei geni BRCA1/BRCA2);
- La Sindrome di Lynch 2 (HNPCC) che include carcinoma del colon non associato a poliposi, carcinomi endometriali, mammari, ovarici e altri con minore frequenza;
- Sindrome di Cowden, legata a una mutazione di PTEN, con associazione tra tumori ovarici e tumori cerebrali ;
- Sindrome di Gorlin, legata a una mutazione di PTC, con associazione tra tumori ovarici

e nevi multipli.

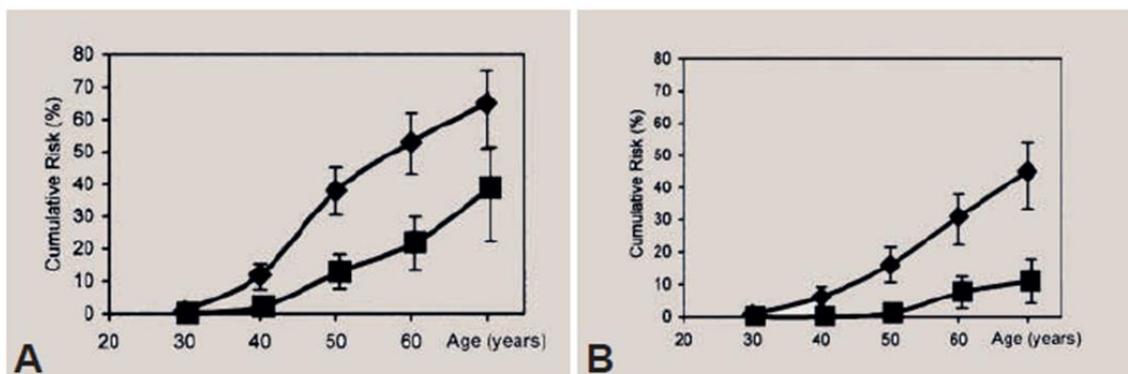


Figura 4 Rischio cumulativo di sviluppare cancro alle ovaie (■) e alla mammella (◆) A: mutazione di BRCA1. B: mutazione di BRCA2 [33].

Fattori endocrini

La multiparità, l'allattamento al seno e un prolungato impiego di contraccettivi orali riducono il rischio di tumore ovarico. In particolare, donne multipare presentano una riduzione del rischio del 30% circa rispetto a donne che non hanno partorito.

Un ampio studio caso-controllo scandinavo ha evidenziato un aumentato rischio di carcinoma ovarico in donne con parto pretermine (durata della gravidanza ≤ 30 settimane *versus* 39-41 settimane, OR 1.33 (95%CI= 1.06-1.67). Il rischio aumentava al diminuire della lunghezza della gravidanza ($p < 0.001$) [40].

L'aumento del numero dei parti mostra un effetto protettivo (≥ 4 parti *versus* 1; OR =0.63, 95%CI= 0.59-0.68) per tutti gli istotipi, ma soprattutto per le neoplasie a cellule chiare (OR= 0.30, 95%CI =0.21-0.44).

Una recente meta-analisi ha dimostrato un effetto protettivo dell'allattamento al seno (RR=0.68, 95% CI= 0.61–0.76), che è dipendente dalla durata (RR=0.85, 0.73, e 0.64 per una durata complessiva di allattamento <6 mesi, compresa tra 6 e 12 mesi, >12 mesi) [41].

Analogamente, l'effetto protettivo dei contraccettivi orali è direttamente

proporzionale alla durata di assunzione.

Nella analisi della Bertal, che ha esaminato retrospettivamente 45 studi epidemiologici comprendenti 23.257 donne con carcinoma ovarico e 87.303 controlli, il rischio relativo di questa neoplasia era 0.78 (IC 95% =0.73–0.83), 0.64 (IC 95% , 0.59–0.69), 0.56 (95%IC= 0.50–0.62) e 0.42 (IC=95%=0.36–0.49), a seconda che la durata di utilizzo della pillola fosse, rispettivamente, di 1-4 anni, 5-9 anni, 10- 14 anni, e di 15 o più anni [42].

La riduzione del rischio persiste anche dopo 20 o 30 anni dalla sospensione del farmaco. I contraccettivi orali hanno un effetto protettivo anche nei confronti della carcinogenesi ovarica anche nelle donne con mutazioni dei geni BRCA1-2 [42].

L'impiego di dispositivi intrauterini con rilascio di levonorgestrel (LNG-IUS) sembra ridurre l'incidenza di neoplasie epiteliali dell'ovaio. In uno studio Finlandese, le utilizzatrici di LNG-IUS avevano una SIR significativamente ridotta sia di tumori borderline (0.76; 95%CI, 0.57-0.99) sia di carcinomi invasivi dell'ovaio (0.59; 95%CI= 0.47-0.73) rispetto alla popolazione generale [43]. Il rischio era ridotto sia per il carcinoma mucinoso (0.49, 95% CI 0.24-0.87), sia per quello endometrioidico (0.55, 95%CI=0.28-0.98) sia per quello sieroso (0.75, 95%CI= 0.55-0.99) [43].

Recenti studi su ampie casistiche sembrerebbero evidenziare che la terapia ormonale sostitutiva possa aumentare l'incidenza di carcinoma ovarico [44, 45]. Ad esempio uno studio di coorte danese condotto su 909,946 donne tra 50 e 79 anni ha riscontrato 2681 casi di tumore ovarico dopo un follow-up medio di 8 anni, e ha calcolato che, rispetto a donne che non avevano mai assunto terapia ormonale, le *current users* avevano un rischio relativo [RR] per i tumori ovarici di 1.38 (IC 95%, 1.26-1.51) e per i carcinomi ovarici di 1.44 (IC 95%, 1.30-1.58) [45]. Tuttavia il rischio diminuiva progressivamente alla sospensione del trattamento, essendo di 1.22 (IC 95% = 1.02-1.46) dopo un tempo inferiore a 2 anni, 0.98 (IC 95%, 0.75-1.28) dopo 2 -4 anni, 0.72 (IC 95% = 0.50-1.05) dopo 4-6 anni e 0.63 (IC 95% = 0.41-0.96) dopo più di 6 anni.

Alcuni autori hanno suggerito che il rischio di carcinoma ovarico è aumentato maggiormente nelle donne in trattamento con estrogeni da soli o con terapia estrogeno-progestinica sequenziale rispetto a quelle che assumono terapia estrogeno-progestinica

combinata continua [46, 47].

Un recente studio di coorte statunitense condotto su 54.436 donne in postmenopausa sembra confermare l'effetto protettivo dei progestinici sulla carcinogenesi ovarica. [48].

Fattori ambientali

E' stata descritta un'associazione tra cancro ovarico ed esposizione di asbesto e talco, abuso di alcol, obesità e una dieta ricca di grassi, mentre la caffeina non sembra avere alcuna rilevanza [49, 50].

Secondo un recente studio dell'Ovarian Cancer Cohort Study comprendente 5584 carcinomi invasivi dell'ovaio, il fumo di sigaretta si associava ad un aumentato rischio di tumori mucinosi (RR = 1.26, 95% CI=1.08-1.46) e ad un diminuito rischio di tumori a cellule chiare (RR= 0.72; 95%CI = 0.55 -0.94) [50]. L'eterogenea associazione dei fattori di rischio con i diversi istotipi sottolinea l'importanza di condurre studi etiologici distinti per le differenti varianti istologiche di carcinoma ovarico.

L'attività fisica sembra dare un qualche beneficio, che è indipendente dal tipo istologico. Una metanalisi del 2007 dimostrava un RR di 0.81 (95% CI= 0.72–0.92) per le donne più attive rispetto a quelle meno attive [51].

Tuttavia i dati in letteratura sono insufficienti per trarre conclusioni certe [51].

La valutazione di 13 studi caso–controllo dell' Ovarian Cancer Association Consortium (OCAC) ha dimostrato che una storia clinica di malattia infiammatoria pelvica (pelvic inflammatory disease, PID) aument il rischio di tumore ovarico borderline (OR = 1.32, 95% CI= 1.10, 1.58) e che donne con almeno due episodi di PID hanno un rischio doppio di insorgenza questa neoplasia (OR = 2.14, 95% CI= 1.08, 4.24) [52].

Molti autori hanno riportato una aumentata incidenza di tumori ovarici endometrioidi e a cellule chiare in donne con endometriosi e soprattutto in quelle con una storia clinica di lunga durata (>10 anni) e diagnosi prima dei 30 anni di età [53, 54]. La trasformazione maligna dell'endometriosi è un evento non comune, che si verifica nello 0.7-2.5% dei casi, ma quando avviene, interessa di solito l'ovaio.

Un recente studio di coorte danese, che ha analizzato 45,790 pazienti con diagnosi

clinica di endometriosi tra il 1977 e il 2012, ha riportato che queste donne avevano un SIR (standardized incidence ratio) di 1.34 (95% CI=1.16-1.55) di sviluppare questa neoplasia [8]. Il rischio era particolarmente elevato per gli istotipi endometrioidi (SIR =1.64; 95% CI=1.09-2.37) e a cellule chiare (SIR= 3.64; 95% CI= 2.36-5.38) [53, 54].

Classificazione

Le neoplasie ovariche possono derivare dall'epitelio celomatico di superficie di derivazione Mulleriana, dal tessuto germinale e da quello stromale. Attualmente è raccomandata la terminologia del sistema classificativo riformulato nel 2002 dalla WHO (World Health Organization), che prevede la differenziazione fra tumori ovarici primari e secondari. I primari originano dagli elementi che costituiscono l'ovaio (epitelio di superficie, lo stroma ovarico e i cordoni sessuali, le cellule germinali totipotenti). I tumori secondari sono quelli che metastatizzano l'ovaio a partire da una neoplasia primitiva extraovarica, da organi e tessuti addominali o extraddominali [5,6].

Tra i tumori ovarici primitivi, i tumori epiteliali sono i più comuni e ne rappresentano l'80% circa. Il restante 20% è costituito da tumori a cellule germinali e dei cordoni sessuali [8].

Inoltre, le neoplasie ovariche epiteliali maligne rappresentano il 30% dei carcinomi del tratto genitale femminile [5].

Tumori epiteliali

Focalizzeremo la nostra attenzione sui tumori epiteliali, poiché rappresentano circa **l'80% delle neoplasie ovariche**. Colpiscono sia le donne in età riproduttiva che quelle di età avanzata.

Derivano dall'epitelio di superficie di origine mesoteliale e sono classificate secondo il **tipo cellulare (sieroso, mucinoso, endometriode, a cellule chiare, transizionale)**. Inoltre sono sottoclassificate in base agli aspetti architetturali, alle caratteristiche nucleari e alla presenza/assenza di invasione stromale (aspetto fondamentale per la scelta del trattamento e la definizione prognostica). Dunque sono sottoclassificati in borderline, basso, medio, alto grado di malignità.

I tumori epiteliali dell'ovaio rappresentano un gruppo eterogeneo di neoplasie con differenti caratteristiche morfologiche e biologiche. Sulla base dell'istologia, dell'immunoistochimica e delle caratteristiche molecolari, attualmente sono stati identificati cinque gruppi principali di carcinomi ovarici: carcinoma sieroso di alto grado (70%), carcinoma endometriode (10%), carcinoma a cellule chiare (10%), carcinoma mucinoso (3%), carcinoma sieroso di basso grado (<5%)[9].

Ipotesi del modello dualistico di carcinogenesi ovarica [211].

Il cancro ovarico è la quinta causa di morte al mondo, nel sesso femminile, per neoplasia [177]. Inoltre il 70% di casi viene diagnosticato in una fase avanzata. La prognosi per il cancro ovarico rimane complessivamente sfavorevole, con un 46% di tasso di sopravvivenza a 5 anni [178].

La prognosi è strettamente correlata allo stadio alla diagnosi: tasso di sopravvivenza > 70% dopo 5 anni per lo stadio I o II, tassi di sopravvivenza tra il 20 e il 40% per lo stadio III o IV [179].

Nelle donne in premenopausa, più del 90% dei tumori sottoposti ad intervento chirurgico sono benigni, invece nelle pazienti in postmenopausa solo il 60% dei tumori sono benigni [180].

Più di dieci anni fa è stato proposto un modello dualistico di carcinogenesi ovarica

epiteliale (tumori di tipo I e di tipo II), nel tentativo di svelare le complesse vie genetiche e molecolari coinvolte nella patogenesi dei carcinomi ovarici primari e di correlarli con l'istopatologia.

Negli anni successivi, sono stati pubblicati un grande numero di studi molecolari e istopatologici che hanno fornito importanti approfondimenti sull'origine e sullo sviluppo di questi tumori.

Siamo ora a una crocevia, dove la morfologia e le scoperte molecolari si intersecano, dunque l'importanza di una classificazione molecolare sta diventando sempre più evidente.

Il nuovo modello tiene conto dell'attuale classificazione istopatologica e la integra con le scoperte genetico-molecolari [211].

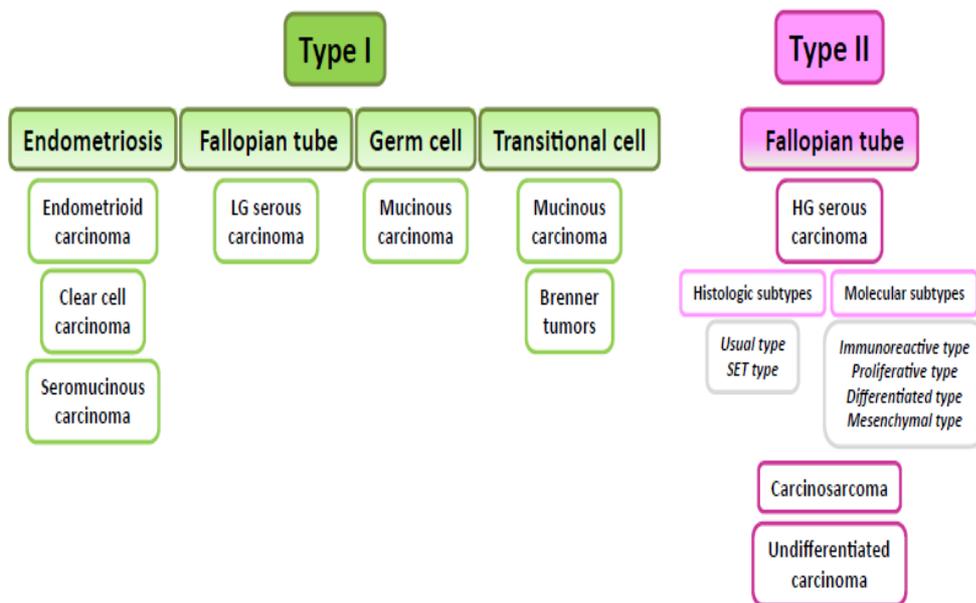


Figure 1 Expanded dualistic model of ovarian carcinogenesis. Ovarian carcinomas derive from endometrial tissue, fallopian tube tissue, germ cells, and transitional epithelium. Type I carcinomas comprise endometrioid, clear cell, LG serous, and mucinous carcinomas. Seromucinous carcinomas and malignant Brenner tumors are rare. It was recently proposed that seromucinous neoplasms be designated mixed Müllerian tumors. Type II carcinomas are largely composed of HG serous carcinoma, carcinosarcoma, and undifferentiated carcinoma. Transitional cell indicates metaplastic transitional epithelium at the tuboperitoneal junction. HG, high-grade; LG, low-grade; SET, solid pseudoendometrioid transitional.

I tumori di tipo I sono di basso grado e si trovano i sierosi, gli endometrioidi, i tumori a cellule chiare, mucinosi e tumori maligni di Brenner. I tumori di tipo II includono carcinoma sieroso di alto grado (HGSC), carcinosarcoma e carcinoma indifferenziato.

Nel modello aggiornato, il sottotipo sieromucinoso è stato aggiunto al gruppo di tipo I e questo comprende cistoadenomi e tumori proliferativi (borderline) atipici. Nel gruppo di tipo II, gli HGSC sono stati suddivisi in due sottoinsiemi morfologici: il tipo più frequente e un cosiddetto Variante SET (solido, pseudoendometrioido, di transizione) [211].

I tumori di tipo I si presentano solitamente come grandi, unilaterali, cistici. Ad eccezione dei carcinomi a cellule chiare, che tendono comportarsi in modo indolente. Quando la patologia è limitata all'ovaio, ha una prognosi eccellente, ma in stadio avanzato i tumori hanno un esito sfavorevole.

I tumori di tipo I rappresentano solo il 10% dei decessi per cancro ovarico.

Tumori di tipo II in stadio avanzato si presentano in più del 75% dei casi.

I carcinomi di alto grado si sviluppano rapidamente e sono altamente aggressivi. Il volume del tumore nelle ovaie (tipicamente bilaterale) è sostanzialmente inferiore a quella dei tumori di tipo I. Tuttavia, il volume della malattia extraovarica è generalmente molto maggiore, spesso con una estensione di malattia a livello di omento e mesentere, rispetto ai tumori di tipo I. L'ascite accompagna frequentemente i tumori di tipo II, ma è rara nei tumori di tipo I. I tumori di tipo II rappresentano 90% dei decessi per cancro ovarico [211].

Le differenze clinico-patologiche e molecolari salienti tra i tumori di tipo I e di tipo II sono mostrati nella Tabella sottostante [211].

Table 1 Clinicopathologic and Molecular Features of Type I and Type II Ovarian Carcinomas

Features	Type I	Type II
Stage	Frequently early stage	Almost always advanced stage
Tumor grade	Low grade* [†]	High grade
Proliferative activity	Generally low	Always high
Ascites	Rare	Common
Response to chemotherapy	Fair	Good (but recur later)
Early detection	Possible	Challenging
Progression	Slow and indolent	Rapid and aggressive
Overall clinical outcome	Good	Poor
Risk factors	Endometriosis	Lifetime ovulation cycles; BRCA germline mutations
Origin	See <i>Morphologic and Molecular Features of Precursor Lesions</i>	Mostly tubal
Precursors	Atypical proliferative (borderline) tumors	Mostly STICs
Chromosomal instability	Low	High
TP53 mutation	Infrequent	Almost always
Homologous recombination repair	Rarely defective	Frequently defective
Actionable mutations	Can be present	Rare

*Clear cell carcinoma is not graded, but many consider the tumor as high-grade.

[†]Occasional progression to high grade can be observed.

BRCA, breast cancer; STIC, serous tubal intraepithelial carcinoma.

E' importante studiare l'immunoprofilo del tumore; ad esempio, i tumori sieromucinosi sono caratterizzati dalla frequente espressione di ER (100%), PR (67%), antigene tumorale 125 (CA125; 92%), espressione rara di WT1 (8%) e mancanza di espressione di citocheratina 20 (CK20) [211].

In generale, da un punto di vista molecolare, le neoplasie di tipo I insorgono da cellule ben differenziate e sono caratterizzate da mutazione di geni quali KRAS, BRAF, PTEN e b-catenina, con attivazione del pathway ERB2 / KRAS / BRAF / MEK, ma anche della via PI3K / AKT e Wnt, con inattivazione del pathway di PTEN, rimodellamento della cromatina correlato all'ARID1A.

In contrasto, le neoplasie di tipo II originano direttamente dal tessuto epiteliale, senza una fase precancerosa, e sono principalmente caratterizzate dall'inattivazione di vie correlate a p53 e l'attivazione nella ciclina E1 e delle vie Notch3 e FOXM1. Inoltre, almeno un terzo dei tumori di tipo II mostra carenza delle proteine di riparazione del danno al DNA.

L'inattivazione della via p53 e anche l'attivazione della via della ciclina E1 contribuiscono all'instabilità cromosomica delle cellule tumorali, che è il caratteristica molecolare cardinale dei tumori ovarici di tipo II, insieme alle mutazioni dei geni BRCA 1 e 2 [211].

Quindi, in sintesi, recenti studi molecolari sottolineano l'eterogeneità del cancro ovarico, sia per il tipo I che per il tipo II, dimostrando che il cancro ovarico è una famiglia di tumori correlati, ma distinti, con differenze sostanziali nelle caratteristiche molecolari, nelle caratteristiche etiopatogenetiche e nel comportamento clinico. Le drammatiche differenze tra il tipo I e i tumori di tipo II, infatti, descrivono due gruppi di malattie completamente diversi [211].

L'ipotesi patogenetica più accreditata, prevede che i carcinomi originino da una trasformazione neoplastica delle cellule staminali embrionali dell'epitelio ovarico di superficie[10].

In ogni caso si ritiene che il carcinoma sieroso di alto grado possa in alcuni casi originare da lesioni intraepiteliali a livello della porzione fimbriata delle tube.

Allo stesso modo, è stato dimostrato che alcuni tumori endometrioidi e a cellule chiare possono originare da foci di endometriosi ovarica [11, 12].

Queste neoplasie mostrano importanti differenze in termini di epidemiologia e fattori di rischio, pattern di disseminazione, alterazioni genetiche, risposta alla chemioterapia e prognosi.

Carcinoma sieroso di alto grado

Rappresenta l'istotipo più comune di carcinoma ovarico e nella maggioranza dei casi si presenta in stadio avanzato. Il coinvolgimento bilaterale delle ovaie si osserva in circa 2/3 dei casi e le neoplasie limitate alle ovaie sono molto rare (<10%) [9].

Le dimensioni medie di questa neoplasia risultano spesso inferiori a quelle osservate negli altri carcinomi ovarici, ma, in ogni caso, il carcinoma sieroso di alto grado mostra usualmente una maggiore propensione alla disseminazione extra-ovarica e al coinvolgimento estensivo dell'omento [13].

All'esame macroscopico si osservano delle masse prevalentemente solide con aree necrotiche ed emorragiche.

Istologicamente, si tratta di neoplasie a crescita papillare e solida con associate formazioni simil-ghiandolari. Le cellule tumorali presentano solitamente un marcato pleomorfismo.

L'attività mitotica è in genere elevata e, per definizione, deve essere superiore a 12 mitosi/10 campi microscopici ad alto ingrandimento [14,15].

Varianti morfologiche meno frequenti del carcinoma sieroso di alto grado sono rappresentate dai tumori classificati come SET (solido, pseudo-endometrioidi e transizionale) costituiti da masse solide di cellule neoplastiche che simulano i carcinomi endometrioidi e transizionali [9].

Queste neoplasie mostrano lo stesso immunoprofilo della variante classica di carcinoma sieroso, anche se di solito presentano una attività mitotica più elevata ed un maggiore numero di linfociti infiltranti il tumore (TILs).

Il carcinoma Transizionale rappresenta un'ulteriore variante di carcinoma sieroso caratterizzata istologicamente dalla presenza di nidi solidi e di formazioni papillari rivestite da cellule simil-uroteliali con marcate atipie cito-nucleari, nucleoli evidenti e citoplasma chiaro-granulare [9].

Il profilo immunohistochimico dei tumori sierosi di alto grado prevede una positività per p53, WT1, p16, BRCA1 e per i recettori estrogenici.

Bisogna sottolineare che la positività per p53 deve considerarsi tale solo quando si osservi una diffusa espressione immunohistochimica di questa proteina in oltre il 75% delle cellule neoplastiche.

In alcuni casi, le cellule neoplastiche possono presentare una completa negatività immunohistochimica per p53, configurando il cosiddetto “*null-pattern*”, fortemente indicativo una mutazione di p53 [9, 14, 15].

Sotto il profilo genetico, a parte le mutazioni di p53, i carcinomi sierosi di alto grado possono presentare mutazioni germline o somatiche di *BRCA1* e *BRCA2*.

Le donne con mutazioni germline di *BRCA1* o *BRCA2* presentano un rischio variabile dal 30% al 70% di sviluppare un carcinoma ovarico nel corso della vita e, per tale motivo, viene spesso proposta in queste donne l'annessiectomia bilaterale profilattica[16].



Figura 5. Carcinoma sieroso di alto grado con porzione solida e porzione cistica [33].

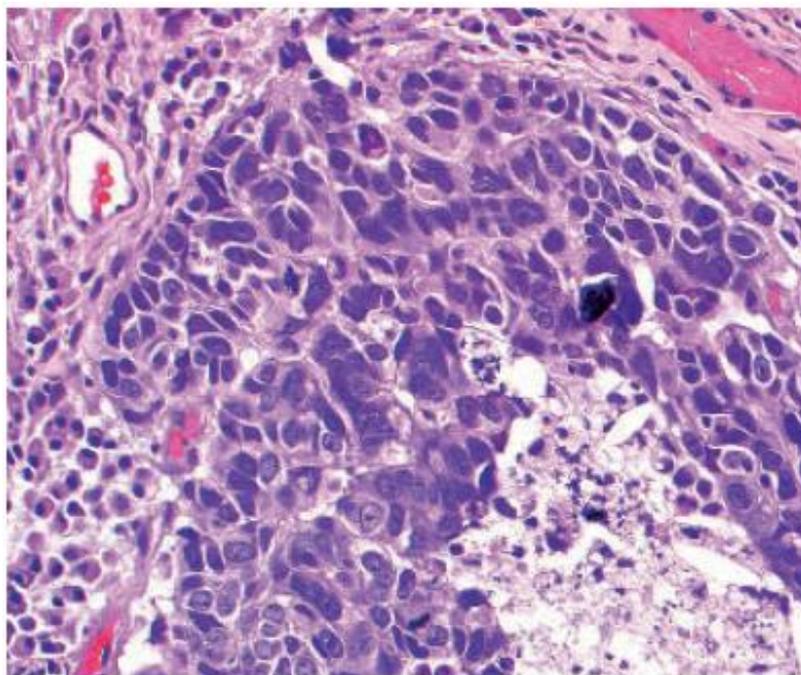


Figura 6. Carcinoma sieroso di alto grado. Si osservano atipia citologica, figure mitotiche e necrosi [33].

Carcinoma sieroso di basso grado

Il carcinoma sieroso di basso grado rappresenta meno del 5% dei carcinomi ovarici.

Si ritiene che questo carcinoma rappresenti una sorta di progressione neoplastica di un tumore borderline sieroso, che spesso si trova associato a questa neoplasia.

In ogni caso, la maggior parte dei tumori borderline mantiene la propria morfologia anche nelle recidive e non progredisce in un carcinoma francamente invasivo.

La progressione neoplastica di un tumore borderline in un carcinoma sieroso di basso grado si osserva infatti solo nel 6-7% delle pazienti e di solito si verifica tardivamente [17].

La presenza di piccoli foci di carcinoma sieroso di basso grado nel contesto di un tumore borderline è associata con una prognosi eccellente; tuttavia i pazienti con una neoplasia in stadio avanzato, presentano una prognosi peggiore [9].

Istologicamente, questi tumori mostrano delle strutture papillari rivestite da cellule tumorali con nuclei piccoli e uniformi associate ad uno stroma variabilmente ialinizzato, in cui si possono osservare corpi psammomatosi.

Le caratteristiche nucleari “di basso grado” e il basso indice mitotico sono i parametri fondamentali per distinguere tra un carcinoma sieroso di basso e di alto grado.

Il profilo immunoistochimico è infatti sovrapponibile tra le forme di alto e di basso grado ad eccezione del KI67 che nei carcinomi di basso grado è pari a circa il 2,5% contro il 22% circa riscontrato nei carcinomi di alto grado [9, 14, 15].

La disseminazione peritoneale di un carcinoma sieroso di basso grado rappresenta una estensione dello spettro degli impianti invasivi dei tumori borderline.

Infatti, queste lesioni presentano le stesse caratteristiche morfologiche e si differenziano esclusivamente per il volume di tessuto peritoneale interessato dalla neoplasia. Gli impianti invasivi rappresentano lesioni precoci e solitamente superficiali delle dimensioni inferiori a 2 cm, mentre il carcinoma sieroso di basso grado si presenta spesso in forma disseminata con un coinvolgimento peritoneale più estensivo [9].

A differenza delle forme di alto grado, il carcinoma sieroso di basso grado non si associa a mutazioni di *BRCA* e di *p53*, ma, in circa i 2/3 dei casi, presenta mutazioni di *BRAF* e *KRAS* e, meno frequentemente mutazioni di *ERBB2* [31, 32].

Le mutazioni di *KRAS*, *BRAF* ed *ERBB2* sono mutuamente esclusive e sembrano svilupparsi precocemente durante la carcinogenesi come suggerito dal riscontro di mutazioni di *KRAS* e *BRAF* nei cistoadenomi sierosi adiacenti a tumori borderline [9, 18, 19].

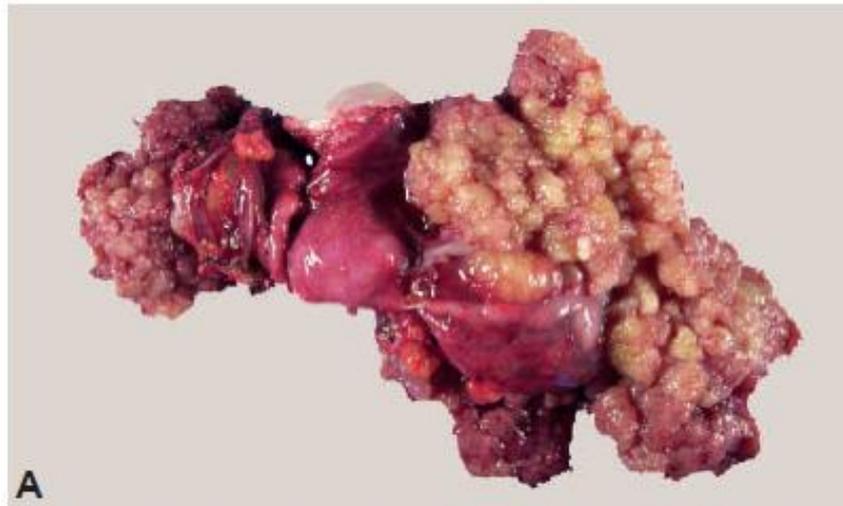


Figura 7. Carcinoma sieroso di basso grado bilaterale, con ampia crescita papillare esofitica [33].

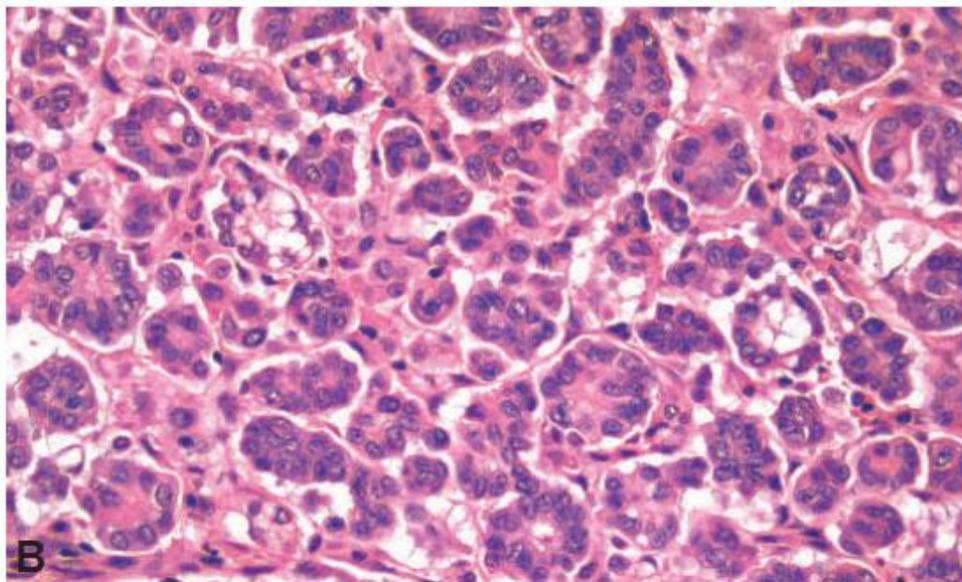


Figura 8. Microscopia di neoplasia ovarica sierosa di basso grado. Si osservano nuclei piccoli, rotondi e uniformi. Si nota l'assenza di mitosi [33].

Carcinoma mucinoso

I tumori mucinosi rappresentano il 10-15% di tutti i tumori ovarici e l'origine di queste neoplasie è tuttora sconosciuta; circa l'80% di questi sono tumori benigni e i restanti

sono per la maggior parte tumori Borderline [9, 20].

I carcinomi mucinosi primitivi ovarici sono molto rari e, una volta escluse le possibilità di una metastasi ovarica, solamente il 3-4% di tutti tumori ovarici possono essere considerati dei carcinomi mucinosi primitivi.

La presenza di una massa di grandi dimensioni (>13 cm) e l'unilateralità della neoplasia, sono ad oggi i parametri principali per differenziare un tumore primitivo mucinoso da una metastasi.

Inoltre, i tumori mucinosi primitivi, sono solitamente confinati all'ovaio e non presentano un coinvolgimento della superficie ovarica o dei quadri di pseudomyxoma peritonei.

I carcinomi mucinosi sono tipicamente delle lesioni eterogenee dove coesistono, nel contesto della stessa neoplasia, aree benigne, aree borderline, aree di carcinoma intraepiteliale e aree francamente invasive. Di conseguenza, un campionamento macroscopico estensivo è essenziale per formulare una diagnosi corretta [21].

Questi tumori hanno un rischio di recidiva inferiore al 5%.

I tumori mucinosi borderline rappresentano uno stadio intermedio della carcinogenesi dei tumori mucinosi e, anche se di per sé sono delle neoplasie essenzialmente benigne, possono spesso essere associate o progredire verso un carcinoma intraepiteliale o francamente invasivo. Inoltre, sebbene i tumori mucinosi borderline recidivino meno frequentemente rispetto alla controparte sierosa, queste recidive sono più frequentemente rappresentate da un carcinoma invasivo [22].

Istologicamente, sulla base del pattern di crescita, i carcinomi mucinosi sono stati classificati in due tipi:

a) tumori a crescita espansiva, associati a una prognosi più favorevole, che non mostrano aree di invasione stromale ma presentano un'architettura ghiandolare complessa e ghiandole del tipo "back-to-back" con minimo o assente stroma interposto

b) tumori a crescita di tipo infiltrativo, che mostrano evidente infiltrazione stromale con associata reazione desmoplastica [9, 20, 21].

Per quanto riguarda il profilo immunohistochimico, i tumori ovarici mucinosi sono positivi in oltre l'80% dei casi alla citocheratina 7 (CK7) mentre i carcinomi metastatici del colon-retto sono CK7 negativi.

Circa il 65% dei tumori ovarici mucinosi è inoltre positivo per la citocheratina 20 (CK20) e per il CDX2 ma, a differenza dei tumori del tratto gastro-intestinale, la positività per questi anticorpi è solitamente debole e focale [9, 20, 21].

La ricerca del DNA del papilloma virus e la ricerca immunohistochimica di p16 sono utili per la diagnosi differenziale con un tumore mucinoso metastatico della cervice. Inoltre, i carcinomi mucinosi ovarici sono sempre negativi per WT1 e per i recettori estrogenici (ER) a differenza dei carcinomi endometrioidi (ER+) e sierosi (ER+; WT1+) [9, 20, 21].

Sotto il profilo genetico, le mutazioni più frequentemente riscontrate nei tumori mucinosi, sono quelle che interessano il *KRAS*, riscontrate in circa il 43% dei carcinomi mucinosi e nel 78% dei tumori borderline. Mutazioni meno frequenti sono rappresentate dall'over espressione/amplificazione di *HER2* che, sono mutuamente esclusive con le mutazioni del *KRAS* [23, 24].

Il 34% circa dei tumori mucinosi non presenta mutazioni di *KRAS* o amplificazioni di *HER2* e queste neoplasie sembrano essere associate ad un maggiore rischio di recidive e ad una prognosi peggiore rispetto ai tumori associati ad alterazioni genetiche.

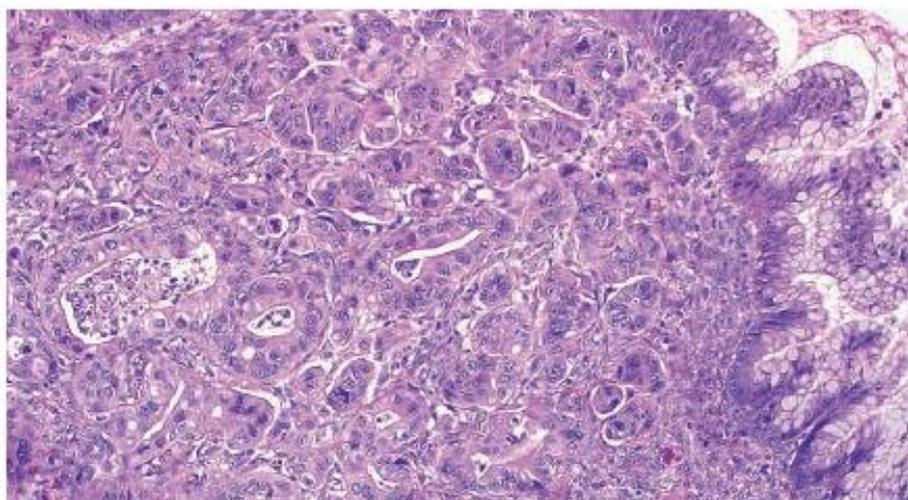


Figura 9. Tumore mucinoso borderline con carcinoma microinvasivo [33].

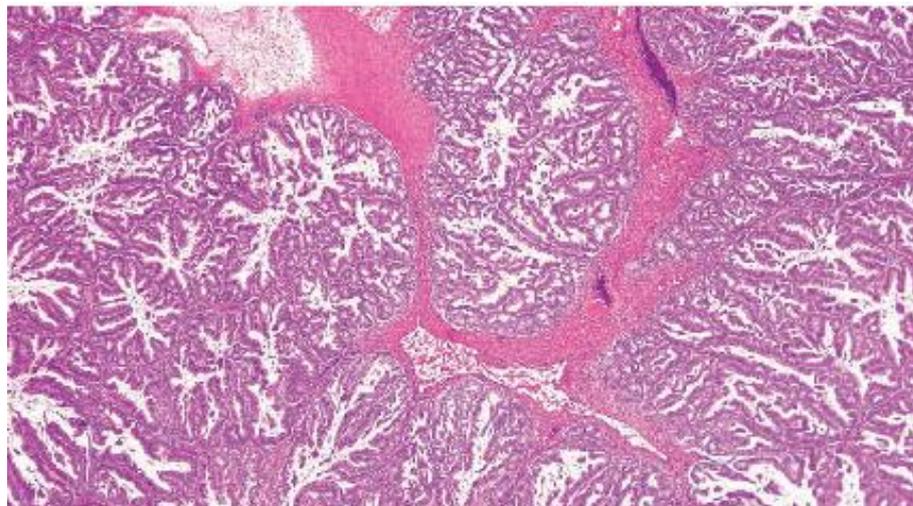


Figura 10 Carcinoma mucinoso invasivo con atipia citologica [33].

Carcinoma endometriode

I tumori ovarici endometrioidi rappresentano il 10% di tutti i tumori ovarici. Insorgono nelle donne nel periodo perimenopausale e spesso vengono diagnosticati in stadio precoce [9].

Istologicamente si tratta di adenocarcinomi di basso grado (G1-G2), che frequentemente si associano a focolai di endometriosi ovarica o pelvica e ad aree di adenofibroma endometriode o di tumore borderline endometriode [9, 12].

In circa il 50% dei casi si osservano focolai di metaplasia squamosa.

Secondo quanto emerso da recenti studi, anche i carcinomi definiti “sieromucinosi”, rappresenterebbero delle varianti di carcinoma endometriode con differenziazione mucinosa [9, 25].

Per quanto riguarda i carcinomi endometrioidi di alto grado, la loro distinzione con un carcinoma sieroso di altro grado è spesso problematica anche per la coespressione immunoistochimica del WT1 in entrambe, oltre che per le similarità in termini di gene expression profiling [9].

Secondo l'ipotesi patogenetica più accreditata, i focolai di endometriosi atipica rappresentano i precursori dei carcinomi endometrioidi e a cellule chiare; in letteratura,

è infatti riportata una percentuale variabile dal 15 al 32% di casi in cui è stata dimostrata una diretta transizione da endometriosi atipica a carcinoma endometriode o a cellule chiare [9, 12].

Diversi studi hanno dimostrato come l'inattivazione dell'oncosoppressore PTEN possa rappresentare uno degli eventi precoci nella trasformazione maligna dei focolai di endometriosi.

Anche le mutazioni che coinvolgono *ARID1A* (AT-rich interactive domain 1A gene), documentate nei carcinomi endometrioidi e a cellule chiare, sono state riscontrate nei focolai di endometriosi adiacenti al tumore [9, 26, 27].

Un'altra comune alterazione genetica in queste neoplasie è rappresentata dalle mutazioni somatiche di beta- catenina (*CTNNB1*), identificabili anche attraverso l'immunoistochimica sotto forma di un'espressione nucleare aberrante.

Queste mutazioni di beta-catenina sembrano essere associate alla presenza di metaplasia squamosa, a tumori di basso grado e ad una prognosi favorevole [28].

Similarmente alla loro controparte endometriale, anche i tumori endometrioidi ovarici possono essere associati all' instabilità dei microsatelliti in una percentuale di casi variabile dal 12 al 19% [9].

Per quando riguarda il profilo immunoistochimico, queste neoplasie sono positive per CK7, EMA, vimentina, p16 (focalmente) e per i recettori di estrogeni e progesterone.

Il riscontro simultaneo di carcinomi endometrioidi nel corpo uterino e nell' ovaio, può, in alcuni casi, determinare importanti difficoltà nello stabilire quale sia il tumore primitivo. Sebbene infatti una corretta valutazione delle caratteristiche patologiche come le dimensioni della neoplasia, l'invasione vascolare, l'infiltrazione del miometrio, la presenza di foci di iperplasia complessa atipica o di endometriosi, possano permettere di stabilire quale delle neoplasie sia primitiva, alcuni carcinomi endometrioidi presentano caratteristiche morfologiche sovrapponibili sia in utero che in ovaio, rendendo impossibile la distinzione [9, 29].

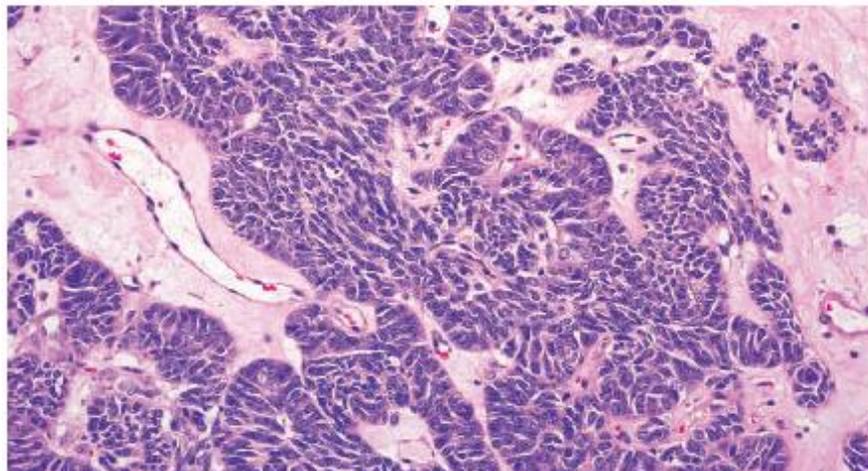


Figura 11. Carcinoma endometriode [33].

Carcinoma a cellule chiare (CCC)

Il carcinoma a cellule chiare rappresenta il 10% dei tumori ovarici e solitamente si manifesta in stadio FIGO 1 o 2 [9]. Anche per queste neoplasie è stata dimostrata una stretta associazione con l'endometriosi e, inoltre, è stato dimostrato come in questi casi i pazienti presentino una prognosi favorevole [9, 30].

Frequentemente i CCC presentano una componente borderline del tipo adenofibromatoso, caratterizzata da atipie dell'epitelio ghiandolare in assenza di invasione stromale. All'esame microscopico, la caratteristica principale di queste neoplasie è la presenza di cellule a citoplasma chiaro, associate a cellule di tipo hobnail con nuclei eccentrici e rotondi [9, 31].

La diagnosi di carcinoma a cellule chiare non può basarsi esclusivamente sul riscontro di queste cellule caratteristiche che possono infatti essere osservate anche in altri istotipi.

I parametri diagnostici principali sono rappresentati da:

- a) presenza di multiple formazioni papillari
- b) materiale eosinofilo-ialino denso, del tipo membrana basale che si espande a partire dal centro delle papille

c) globuli ialini, presenti incirca il 25% dei casi [9, 31].

L' indice mitotico risulta sicuramente inferiore rispetto alle altre neoplasie ovariche ed è pari a 5/10 HPF. Il profilo genetico dei CCC è caratterizzato da mutazioni di *PTEN* (perdita di espressione, mutazioni inattivanti o attivanti) e da mutazioni di *ARID1A*. Recentemente è stato inoltre dimostrato come le mutazioni attivanti di *PIK3CA*, spesso riscontrate nei CCC siano correlate con una prognosi favorevole [9, 31, 32]

Per quanto riguarda il profilo immunohistochimico, tipicamente i CCC sono positivi per CK7, EMA, HNF1- beta, napsina-A e sono negativi per ER, PR e WT1 [9, 31].

Sebbene i CCC siano considerati dei carcinomi di alto grado, i pazienti in stadio IA presentano un outcome relativamente favorevole con sopravvivenza a cinque anni pari all' 80-90%. Al contrario, i tumori in stadio avanzato, sono associati ad una prognosi sfavorevole [9, 31, 32].

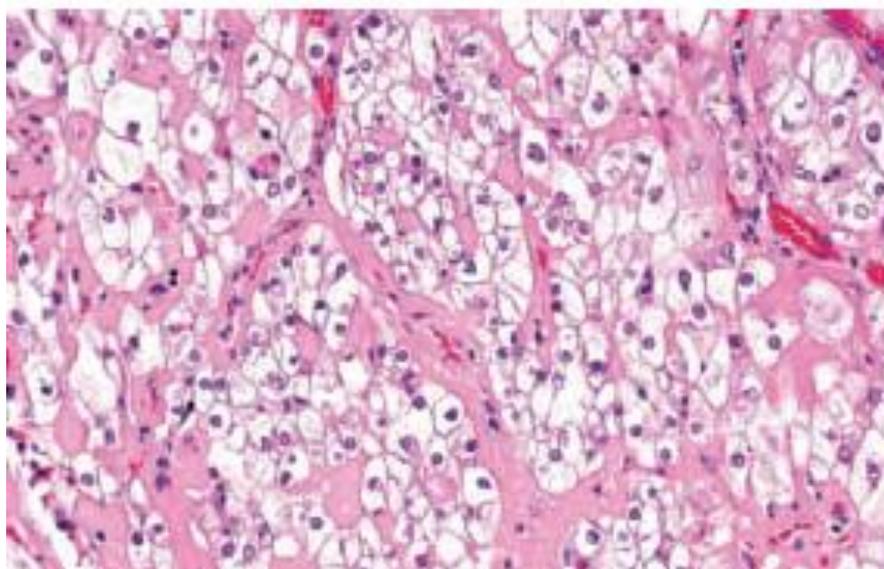


Figura 12. Carcinoma a cellule chiare con ialinizzazione stromale [33].

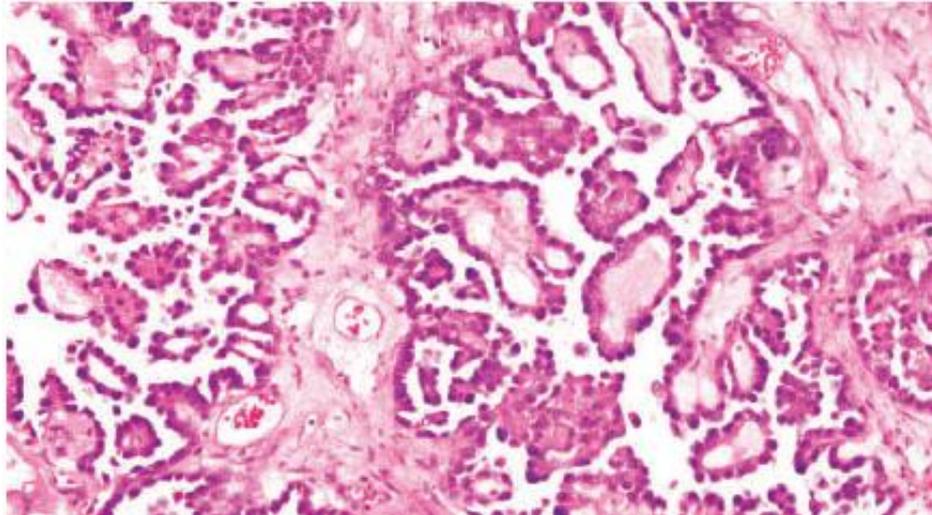


Figura 13. Carcinoma a cellule chiare con architettura papillare [33].

Tumore di Brenner

Il tumore di Brenner benigno rappresenta circa il 5% delle neoplasie epiteliali benigne dell'ovaio.

E' un tumore costituito da cellule transizionali , poliedriche, allungate, con citoplasma chiaro.

I nuclei sono ovoidali con fine cromatina.

La maggior parte di questi tumori si sviluppa in donne fra la quinta e la settima decade di vita, sebbene si sono verificati casi anche in donne di età di trenta e ottanta anni.

La maggior parte delle pazienti è asintomatica; però, se le dimensioni della neoplasia fossero importanti, si potrebbero avvertire dolore o senso di gonfiore addominale.

Raramente questi tumori sono associati a produzione endocrina con relativi segni e sintomi.

La maggior parte di queste neoplasie è di dimensioni inferiori ai due centimetri, raramente raggiungono dimensioni superiori ai dieci centimetri. Nel 10% dei casi è bilaterale.

Macroscopicamente, alla sezione, appare di colore grigio-biancastro; è possibile riscontrare alcune calcificazioni [33].

Immunoistochimica: questo tumore esprime CK7, p63, S100P, GATA3, uroplakina e trombomodulina. Possono invece esprimere parzialmente o non esprimere CK20.

Alcuni studi hanno messo in evidenza come, nelle forme benigne, ci sia una mutazione nel codone 12 di kRAS e/o l'amplificazione di 12q14-21 [33].

Nella forma maligna, le dimensioni possono raggiungere i sedici-venti centimetri. Nel 12% dei casi è bilaterale.

Macroscopicamente appare solido, cistico o entrambe, con calcificazioni.

Per quanto concerne il profilo genetico, spesso si sono osservate mutazioni di PIK3CA, soprattutto sull'esone 9; dunque si ha la attivazione della via PI3K/ AKT tramite EGRF, che non sembra essere amplificato [33].

Le pazienti con uno stadio Ia presentano una sopravvivenza a 5 anni dell'88% [33].



Figura 14. Macroscopia di un tumore di Brenner maligno [33].

Diagnosi

Negli stadi iniziali, il cancro epiteliale dell'ovaio può essere associato a nessuno o a pochi sintomi, e ciò rende più difficile formulare una diagnosi [55].

La presenza di una patologia ovarica funzionale, neoplastica o di altra natura è una condizione spesso asintomatica e dunque riscontrata accidentalmente durante l'esame obiettivo addominale o durante un esame ecografico dell'addome.

Nei restanti casi, la sintomatologia delle lesioni ovariche è variabile e non rappresenta un utile parametro per differenziare le forme maligne da quelle benigne.

Il dolore addominale è sempre il sintomo più comune [59, 60, 61].

Sintomi secondari includono anoressia, nausea, vomito, poliuria e urgenza minzionale.

I sintomi che si osservano più frequentemente in corso di malattia, in tutti gli stadi, possono includere:

- Dolore addominale o pelvico.
- Sanguinamento vaginale
- Stipsi
- Distensione addominale
- Diarrea
- Astenia
- Poliuria, pollachiuria

In stadio avanzato, si osservano più frequentemente:

- Aumento della circonferenza addominale (gonne o pantaloni possono diventare più stretti)
- Sazietà precoce
- Senso di nausea
- Anoressia
- Difficoltà digestive
- Vomito
- Urgenza minzionale
- Dispnea

Tuttavia, è importante ricordare che questi sintomi possono essere causati anche da altre condizioni e/o patologie ovariche benigne o condizioni patologiche extraovariche [55]. E' stata dimostrata la presenza di attività endocrina nel 10% di lesioni ovariche sia neoplastiche che non neoplastiche, dunque potrebbero presentarsi sintomi endocrinologici come sindromi paraneoplastiche [62].

La presenza di una massa annessiale deve, indipendentemente dall'età della paziente, far sospettare una patologia.

Nel caso in cui alla visita ginecologica si evidenzi:

- **Massa pelvica** mono o bilaterale di consistenza solida o solida-cistica, spesso **fissa** nella pelvi;
- Massa pelvica associata a **disturbi da compressione sulle strutture pelviche** quali pollacchiuria, stipsi, dolore pelvico
- Presenza di **distensione addominale**

Si rendono necessarie **ulteriori indagini**, principalmente:

- Accurata raccolta dei dati anamnestici
- Ecografia transvaginale, eventualmente associata alla ecografia dell'addome superiore
- Dosaggio dei marcatori sierici: CA125 e HE-4 eventualmente associato al dosaggio del CEA e del CA 19.9.

Ovarian Tumor Markers			
	CA 125	AFP	hCG
Germ Cell Tumors			
Dysgerminoma	+/-	-	+/-
Yolk sac tumor*	+/-	+	-
Choriocarcinoma	+/-	-	+
Embryonal carcinoma	+/-	+/-	+/-
Immature teratoma	+/-	+/-	-
Mixed germ cell tumor	+/-	+/-	+/-
Epithelial-Stromal Tumors			
Serous carcinoma	+	-	-
Mucinous carcinoma	+/-	-	-
Endometrioid carcinoma	+	-	-
Sex Cord-Stromal Tumors			
Granulosa cell tumor	+/-	-	-
Thecoma-fibroma	+/-	-	-
Sertoli-Leydig cell tumor	+/-	+/-	-

Alla domanda se esista un razionale per l'uso dei biomarcatori, come per qualsiasi altro tipo di neoplasia, non è possibile dare una risposta dicotomica: la domanda va declinata per ciascuna delle diverse fasi di malattia. Nella stadiazione della

neoplasia, a diagnosi certa, così come nel suo monitoraggio, il carcinoma dell'ovaio non si discosta significativamente da altre neoplasie; in questi scenari i marcatori sono considerati genericamente utili [127, 128, 129].

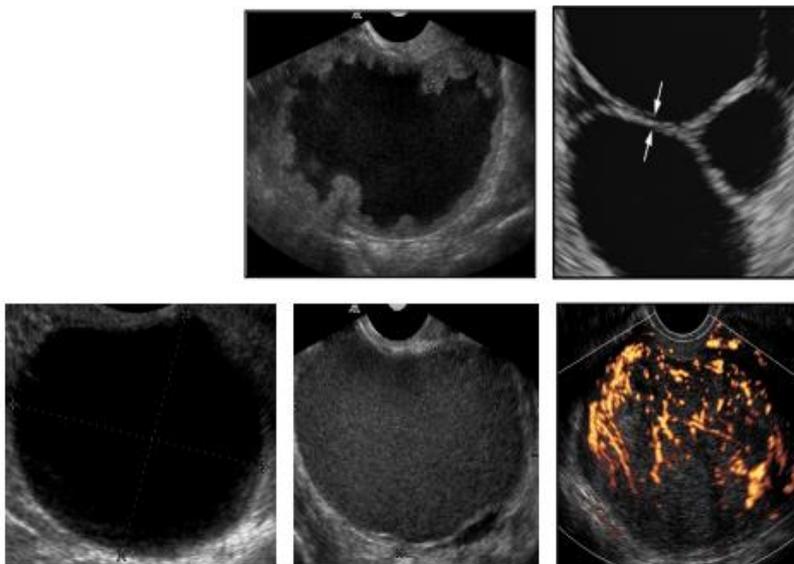
I marcatori tumorali rappresentano dunque uno strumento diagnostico per differenziare i vari istotipi e per scegliere l'approccio terapeutico più appropriato, anche per preservare la fertilità delle giovani pazienti.

In particolare, sono utili nella stadiazione per acquisire informazioni aggiuntive sull'estensione e, in parte, sull'aggressività della neoplasia; nel monitoraggio dopo terapia con intenti curativi per riconoscere precocemente la ricaduta; nel monitoraggio del trattamento per ottenere informazioni precoci sulla non-risposta alla chemioterapia [127, 128, 129]. Molti tumori ovarici sono associati con la secrezione di specifici marcatori tumorali [70]. Il loro ruolo nella patologia ovarica rimane però controverso [69] e, per tale motivo, è consigliabile associare sempre una valutazione clinica, ultrasonografica ed eventualmente un'analisi istologica intraoperatoria per ottenere una diagnosi più accurata.

Imaging

• **L'ecografia transvaginale:** si esegue inserendo in vagina uno strumento che permette al medico di ispezionare le ovaie per determinarne le dimensioni e la forma e rilevare alcune caratteristiche della lesione. E' il primo esame strumentale da eseguire.

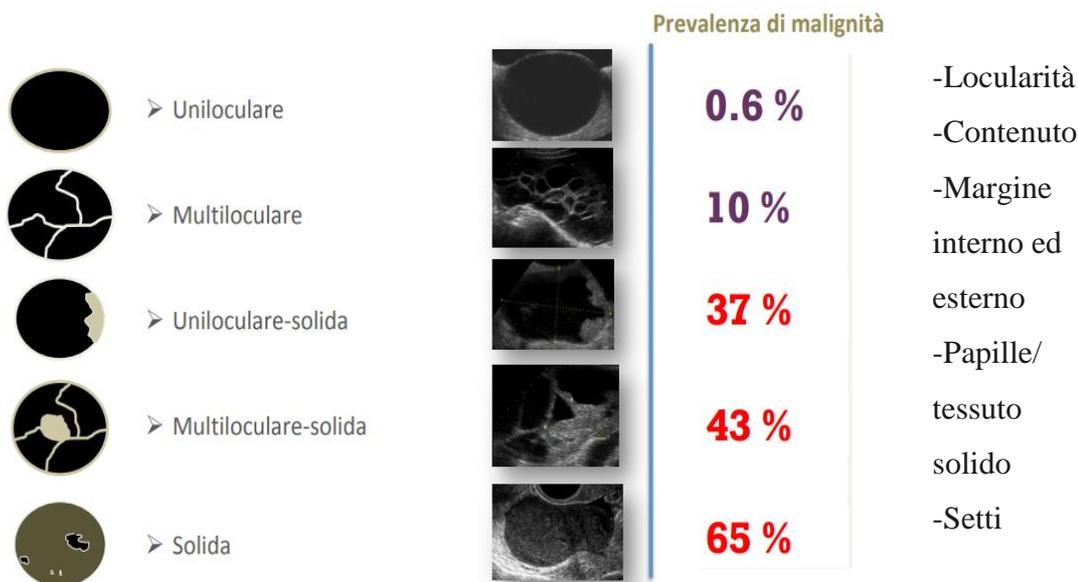
Nelle mani di un operatore esperto, l'ecografia transvaginale presenta una sensibilità del 92% e una specificità del 93% nel discriminare fra patologia benigna e maligna [55].



La refertazione dell'esame ecografico intravaginale deve seguire i criteri internazionali IOTA.

Lo IOTA (International Ovarian Tumor Analysis) ha standardizzato la metodologia di studio consigliando i parametri ultrasonografici da rilevare, uniformandone così la terminologia.

Nell'esecuzione dell'esame in modalità IOTA, è necessario valutare:

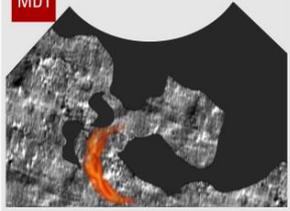
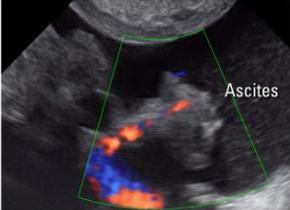
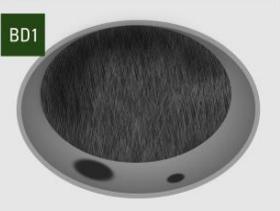
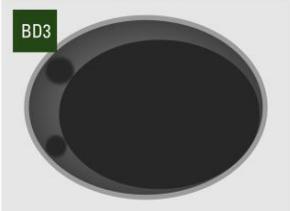
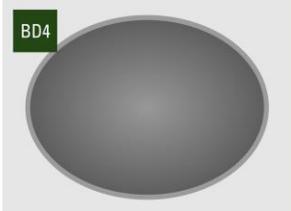
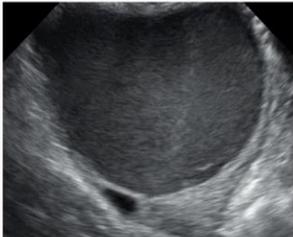
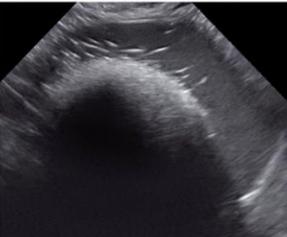
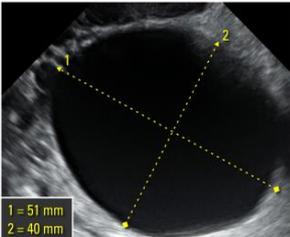


-Vascolarizzazione

Dunque, l'ecografia transvaginale consente di:

- Porre una diagnosi differenziale fra cisti funzionale e massa ovarica, tramite l'utilizzo dei criteri IOTA
- Di valutare il rischio di malignità, di carcinoma maligno primario (I-IV stadio), carcinoma metastatico, tumore borderline, tramite l'ADNEX score.

International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) "easy descriptors"

<p>MD1 Tumor with ascites and at least moderate color Doppler blood flow in postmenopausal woman</p> <p>MD2 Age > 50 years and CA 125 > 100 U/mL</p>	<p>MD1</p>  <p>MD2</p> 		
<p>BD1 Unilocular tumor with ground glass echogenicity in premenopausal woman (suggestive of endometrioma)</p> <p>BD2 Unilocular tumor with mixed echogenicity and acoustic shadows in premenopausal woman (suggestive of benign cystic teratoma)</p> <p>BD3 Unilocular tumor with regular walls and maximal diameter < 10 cm (suggestive of simple cyst or cystadenoma)</p> <p>BD4 Remaining unilocular tumor with regular walls</p>			
<p>BD1</p> 	<p>BD2</p> 	<p>BD3</p> 	<p>BD4</p> 
			 <p>X = Intestinal loops</p> <p>Iliac artery</p>

International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) simple rules			
B1	Unilocular cyst	M1	Irregular solid tumor
B2	Presence of solid components, maximal diameter < 7 mm	M2	Presence of ascites
B3	Presence of acoustic shadows	M3	At least four papillary structures
B4	Smooth multilocular tumor, maximal diameter < 100 mm	M4	Irregular multilocular solid tumor, maximal diameter >100mm
B5	No blood flow (color score 1)	M5	Very strong blood flow (color score 4)
B1		M1	
B2		M2	
B3		M3	
B4		M4	
B5		M5	

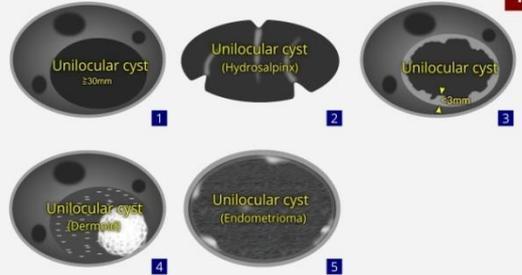


TABLE OF LESIONS

Terms and definitions from the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) group

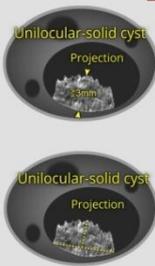
Unilocular cyst

- 1 A unilocular cyst without septa and without solid parts or papillary structures.
- 2 If a cyst has only incomplete septa and no real septa, it is recorded as unilocular. An incomplete septum as seen in hydrosalpinges is defined as a thin strand of tissue running across the cyst cavity from one internal surface to the contralateral side, but which is not complete in some scanning planes.
- 3 If there is irregular internal cyst wall without a solid papillary projection, then the cyst is also unilocular by definition. The height of excrescences should be less than 3 mm.
- 4 The hyperechoic and avascular area ("white ball") in the center of dermoid cyst should not be classified as a solid papillary projection.
- 5 Similarly, "sludge" on the internal walls is not regarded as a papillary projection.



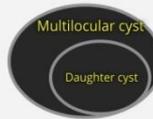
Unilocular-solid cyst

A unilocular cyst with a measurable solid component or at least one papillary structure. This category may include pyo- or hydrosalpinges with the so-called "beads-on-a-string" or "cogwheel" appearance if their height is greater than or equal to 3 mm. If the solid components comprise 80% or more of the tumor than the mass is called a solid tumor.



Multilocular cyst

A cyst with at least one septum but no measurable solid components or papillary projections. A septum is not classified as a solid component and is defined as a thin echogenic strand of tissue running across the cyst cavity from one internal surface to the contralateral side.



Multilocular-solid cyst

A multilocular cyst with a measurable solid component or at least one papillary projection.



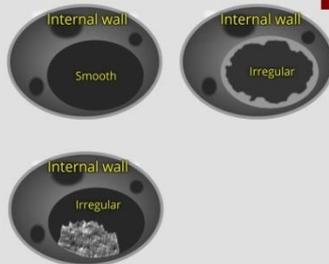
Solid tumor

A tumor where the solid components comprise 80% or more of the tumor when assessed in a two-dimensional section. A solid tumor may contain papillary projections protruding into the small cysts of the solid tumor.



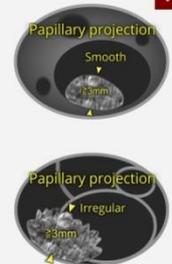
Internal cyst wall

The internal cyst wall is described as being "smooth" or "irregular". If there is a solid papillary projection, then the wall is irregular by definition. In cases of "sludge" (as seen in endometriotic cysts), the internal walls are also called "irregular".



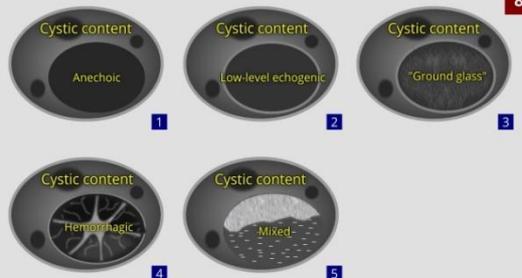
Solid papillary projection

Solid papillary projections are defined as any solid projections protruding into the cyst cavity from the cyst wall with a height greater than or equal to 3 mm. The hyperechoic avascular area of a dermoid cyst or sludge on the internal walls are not regarded as a papillary projection. Solid papillary projections are described as being "smooth" or "irregular" (e.g. califlower-like).



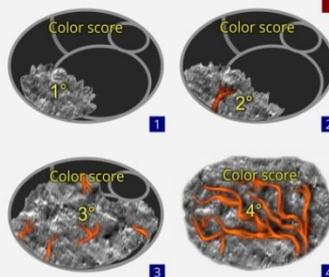
Cystic contents

- The dominant feature of the cystic contents is described as:
- 1 anechoic (black)
 - 2 low-level echogenic (i.e. homogeneous low-level echogenic as seen in mucinous tumors)
 - 3 "ground glass" appearance (homogeneously dispersed echogenic cystic contents, as often seen in endometriotic cysts)
 - 4 hemorrhagic (with internal thread-like structures, representing strands)
 - 5 or mixed (as often seen in teratomas).



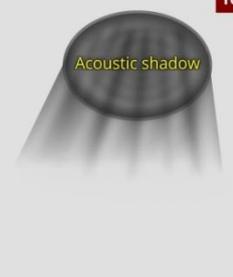
Subjective assessment of blood flow

- 1 Color score of 1 is given when no blood flow within the septa, cyst walls, or solid tumor areas.
- 2 Color score of 2 is given when only minimal flow can be detected.
- 3 Color score of 3 is given when moderate flow is present.
- 4 Color score of 4 is given when the adnexal mass appears highly vascular with marked blood flow.



Acoustic shadows

The presence of acoustic shadows, defined as loss of acoustic echo behind a sound-absorbing structure, is noted.



- La **tomografia computerizzata (TC)**: viene utilizzata dall'equipe di medici specialisti per determinare l'estensione della neoplasia e pianificare la chirurgia, quando necessaria.
- La **radiografia** del torace: può essere un'alternativa alla TC torace per verificare se il cancro epiteliale dell'ovaio si sia diffuso ai polmoni e alla cavità toracica.
- La **Risonanza magnetica (RM)**: benché non rientri tra le indagini di routine, la RM può essere utilizzata in aggiunta all'ecografia transvaginale, per accrescerne l'accuratezza diagnostica. Utilizza potenti campi magnetici e onde radio per generare immagini dettagliate delle strutture interne del corpo [55].

Lo studio imaging preoperatorio fornisce indicazioni al chirurgo sulle difficoltà tecniche che si troverà ad affrontare nel corso dell'intervento, come il coinvolgimento di organi adiacenti e/o l'estensione extraddominale della neoplasia.

Alcuni studi hanno evidenziato che la PET/TC rappresenta la tecnica di imaging più accurata solo nella stadiazione prechirurgica e nella pianificazione terapeutica del carcinoma ovarico in casi in cui sia dubbia la valutazione della citoreducibilità [63].

In un recente studio Italiano, la PET/TC ha dimostrato una sensibilità ed una specificità rispettivamente del 78% e 68% nella stadiazione pre-operatoria. L'integrazione della PET/TC con la laparoscopia potrebbe essere utile per identificare le pazienti con più elevata probabilità di citoreduzione chirurgica primaria ottimale [64].

In caso di dubbio clinico di infiltrazione degli organi contigui o di secondarietà della lesione ovarica (T. di Krukenberg) è raccomandata l'esecuzione di esami endoscopici quali una rettoscopia, una cistoscopia o una gastroscopia.

La diagnosi differenziale del carcinoma ovarico da neoplasie benigne del tratto genitale e da altre malattie, neoplastiche e non, del tratto gastrointestinale o addominale può rivelarsi alquanto complessa.

Biomarcatori sierici

Per quanto riguarda gli esami di laboratorio sono stati valutati diversi biomarcatori tumorali.

Il CA125 è stato descritto per la prima volta all'inizio degli anni '80. In casi del cancro ovarico, il livello sierico di CA125 può essere elevato, ma questo marker ha una bassa sensibilità nelle prime fasi di cancro ovarico [182]. Sono stati segnalati anche livelli aumentati di CA125 in altre condizioni fisiologiche o patologiche, come le mestruazioni, la gravidanza, l'endometriosi e le infiammazioni malattie del peritoneo [183].

Altri biomarcatori sono stati studiati per migliorare la specificità per i carcinomi ovarici, come Human Epididymis Protein 4 (HE4) [184]. Questo biomarcatore è sovraespresso nel cancro ovarico [185].

Sebbene la specificità di questi marcatori sia piuttosto affidabile, non sono molto sensibili. Per questo motivo, sono stati creati degli score come RMI (indice di rischio di malignità), ROMA (rischio di Ovarian Malignancy Algorithm) e ADNEX Score.

CA125 (Cancer Antigen 125)

L'antigene carboidrato (o carboidratico) 125 – CA 125 – è una glicoproteina, ovvero una proteina legata ad una catena composta di carboidrati e definita glicano. Questa proteina viene prodotta da diversi tessuti in condizioni fisiologiche e patologiche: utero, ovaie, cervice uterina, tube di Falloppio e dalle cellule che rivestono gli organi delle vie respiratorie e dell'addome.

Il CA125 è prodotto dall'epitelio celomatico, da cui derivano i mesoteli (peritoneo, pleura, pericardio) e i tessuti di origine mülleriana.

Il CA125 è il miglior marcatore disponibile per i tumori epiteliali dell'ovaio, sebbene possieda una ridotta sensibilità e specificità per lesioni allo stadio I.

Infatti il CA125 non viene espresso nel 60% dei carcinomi mucinosi e nel 20% dei carcinomi sierosi. Ma il principale problema è rappresentato dal basso VPP, che rende inefficace il test se usato da solo.

Le revisioni sistematiche e le meta-analisi disponibili sul ruolo del CA125 nel

discriminare i tumori maligni dalle masse pelviche di natura benigna riportano valori di sensibilità fra 76% e 82% e di specificità fra 71% e 82% [210].

Una revisione di pazienti con tumori epiteliali ovarici ha rilevato una bassa specificità e sensibilità del CA 125 nella diagnosi di malignità [71].

Il CA125 è comunemente impiegato per la valutazione delle pazienti nelle quali è stata posta diagnosi di EOC, sia ai fini prognostici, che per stabilire i livelli basali prima di iniziare il trattamento in modo da poter utilizzare le variazioni dei livelli del marcatore come indice di risposta durante il trattamento, e nel follow-up successivo, allo scopo di identificare le recidive precocemente rispetto alla comparsa di sintomi [81, 83, 84, 85].

L'intervallo di normalità di riferimento per il CA 125 va **da 0 a 35 unità/ml**.

Livelli maggiori di 35 U/ml possono indicare tumori maligni o borderline, tuttavia tale marcatore può aumentare anche in condizioni di natura benigna e/o infiammatoria come endometriosi, miomi uterini, salpingite acuta o cronica e patologie infiammatorie pelviche [72].

In letteratura sono stati riscontrati valori elevati di marcatori tumorali non solo nelle lesioni ovariche maligne, ma anche in circa il 20.7% di quelle benigne. In particolare, si possono verificare aumenti di AFP, CA 125 e LDH nei teratomi maturi, CA 125 in caso di cistadenoma e Fosfatasi Alcalina Placentare (PLAP) in caso di fibroma [73].

Infine, in letteratura sono stati descritti livelli elevati di CA 125 in casi di torsione ovarica associata a neoplasia benigna o a cisti funzionale. L'elevazione dei marcatori tumorali in caso di torsione è probabilmente da ricercarsi nell'ischemia e nella possibile necrosi tissutale, che determinano conseguente rilascio di marcatori [74, 75, 76].

E' anche per questo che **il ruolo dei marcatori tumorali nella patologia ovarica dev'essere supportato dalla valutazione clinica, imaging e alla diagnosi istologica intraoperatoria per una corretta diagnosi.**

HE4

La proteina epididimale umana 4 (Human Epididymis Protein 4 -HE4) è stata inizialmente identificata nell'epitelio dell'epididimo distale e originariamente indicata come inibitore della proteasi coinvolto nella spermiogenesi. E' stata anche denominata WFDC2 poichè contiene due domini comuni alle "whey acid proteins" e quattro legami disulfidici costituiti da 8 residui di cisteina.

La rilevanza di questo marcatore in ginecologia oncologica è dovuta al fatto che l'espressione della proteina HE4 è poco espressa nel tessuto sano del tratto riproduttivo e dell'epitelio respiratorio, invece è iperespressa nel carcinoma ovarico epiteliale.

Essa è sovraespressa con alta frequenza nel carcinoma dell'ovaio, prevalentemente nei sottotipi sieroso, endometrioide.

La sua localizzazione subcellulare suggerisce la natura secretoria della proteina, presupposto per la presenza della stessa in circolo. Inoltre, HE4 è espressa in ~30% dei tumori negativi per CA125 [210].

I livelli di HE4 nelle donne sane mostrano un incremento graduale fisiologico legato all'aumento dell'età e alla menopausa [88, 89, 90, 91, 92].

L'intervallo di riferimento per il HE4 va **da 0 a 150 picomoli** per litro di sangue. Livelli elevati sono rilevabili nel siero di pazienti con EOC, soprattutto nel Ca sieroso e endometrioide [88], però anche nelle pazienti con carcinoma dell'endometrio, [93, 94] ma non nelle patologie ginecologiche benigne o nelle pazienti con endometriosi.

In una prima valutazione di confronto con altri marcatori sierici e urinari, HE4 ha dimostrato di possedere una **specificità del 96% ed una sensibilità dell'80%** nel confronto fra soggetti sani e pazienti oncologiche. In particolare, HE4 è risultato più sensibile rispetto a CA125 nelle pazienti con Ca ovarico, anche negli stadi iniziali [95, 96].

La migliore specificità di HE4 è stata confermata anche dalle esperienze più recenti, che hanno confermato il valore aggiunto di questa determinazione, sia nella stratificazione del rischio, che nella diagnosi di malattia, soprattutto nella differenziazione tra le cisti ovariche benigne e maligne e nelle pazienti con endometriosi [97, 98]. Sono disponibili anche degli studi di popolazione [91, 92, 97, 98] che hanno permesso di stabilirne i valori di riferimento, che devono tenere conto del suo incremento graduale con l'età e l'aumento correlato al fumo, e di verificare la possibile interferenza dovuta all'insufficienza renale cronica. La determinazione dei livelli di HE4 prima dell'intervento chirurgico appare dotata di un significato prognostico superiore rispetto ai livelli di CA125 [99,100]. Inoltre, l'utilizzo di dosaggi seriali durante e dopo la chemioterapia adiuvante può consentire un adeguato monitoraggio della sua efficacia e una identificazione precoce delle recidive [101, 102]. Dagli studi prima citati è emerso che la combinazione di HE4 e CA125 risulta possedere una maggiore sensibilità rispetto a ciascuno dei due marcatori valutati singolarmente, e ciò ha suggerito la possibile adozione di un algoritmo di calcolo che, combinando i risultati di HE4 e di Ca125, potesse stratificare il rischio di neoplasia ovarica maligna nelle pazienti con una evidenza obiettiva di massa pelvica (ovarica o annessiale). La validazione iniziale di questo algoritmo, definito ROMA (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm), effettuata mediante un trial prospettico multicentrico, ha dimostrato che l'algoritmo è riuscito a stratificare in modo accurato le pazienti in gruppi ad alto e basso rischio, con una classificazione corretta di rischio elevato per il 93,8% dei casi di carcinoma ovarico [95]. Bisogna sottolineare che questo indice non può essere usato da solo a scopo diagnostico, ma si può utilizzare per un inquadramento preliminare delle pazienti con massa pelvica, in modo da poter indirizzare le pazienti a rischio elevato presso le strutture di riferimento adeguate: a tutt'oggi infatti la sopravvivenza post-intervento per EOC è fortemente condizionata dall'esecuzione dell'intervento da parte degli specialisti in ginecologia oncologica [103, 104].

Possibili applicazioni di un test quantitativo per HE4:

1. In associazione con CA125, sia singolarmente che mediante utilizzo dell'algoritmo ROMA, per la stratificazione del rischio di carcinoma ovarico nelle pazienti con massa addominale o pelvica. Questo approccio dev'essere usato ai fini di una migliore selezione delle pazienti da indirizzare presso centri specializzati in ginecologia oncologica per gli approfondimenti diagnostici e l'eventuale terapia. E' un approccio particolarmente utile dal momento che l'ablazione chirurgica completa da parte di specialisti in ginecologia oncologica appare il fattore maggiormente predittivo di sopravvivenza.
2. In associazione con CA125 e con i mezzi di indagine strumentale (ultrasonografia, tomografia computerizzata) come ausilio nella diagnosi di carcinoma ovarico.
3. Nel monitoraggio delle pazienti con diagnosi di carcinoma ovarico, trattate chirurgicamente, al fine di rilevare l'eventuale riduzione o normalizzazione dei valori, che rappresenta un indice prognostico favorevole.
4. Nel monitoraggio delle pazienti sottoposte a trattamento chemioterapico, sia al fine di rilevare la riduzione dei livelli durante la terapia che, dopo il completamento dei cicli di terapia, per valutare eventuali incrementi dei livelli che rappresentano un indice di ripresa di malattia, al fine di porre in atto nuovi interventi terapeutici.
5. Nella diagnosi e nella gestione clinica delle pazienti con carcinoma endometriale. Due recentissimi studio italiani ha dimostrato la stretta associazione tra espressione genica e livelli elevati di HE4 e presenza di carcinoma endometriale, con una evidente correlazione tra i livelli del marcatore e la gravità della malattia ed un elevato valore prognostico.

CA 19.9

L'Antigene Carboidrato 19-9 (CA 19-9) è una proteina che viene prodotta in eccesso dalle cellule di molte forme di tumori gastrointestinali. Il CA 19-9 è impiegato, in particolare, come marcatore nella diagnosi e nel follow-up di tumori gastrointestinali. Solitamente, l'antigene viene usato per il cancro al pancreas, ma anche per altre tipologie di processi neoplastici, come quelle delle vie biliari, dello stomaco e del colon-retto. Elevati livelli di CA 19-9 si possono apprezzare in circa 1/3 delle donne affette da tumori dell'ovaio, soprattutto se di tipo mucinoso (80% dei casi).

I livelli di CA 19-9 vengono misurati in un campione di sangue venoso.

I valori normali di CA 19-9 risultano **inferiori a 40 U/ml**.

Tassi superiori a 100 U/ml sono estremamente indicativi di neoplasia. Anche patologie benigne come le pancreatiti acute e croniche, la cirrosi, l'epatite, l'ostruzione biliare, l'ittero e l'iperbilirubinemia, oppure malattie a carico del colon o dei polmoni, possono determinare elevati livelli di CA19-9.

I marcatori tumorali non vengono utilizzati da soli a scopo diagnostico; possono però essere dosati in corso di follow-up [100].

Alfafetoproteina (AFP)

L'alfafetoproteina (AFP) è una sostanza glicoproteica con funzioni simili a quelle dell'albumina, sintetizzata soprattutto durante la vita fetale dal sacco vitellino e dal fegato. Dopo la nascita, i livelli di alfafetoproteina cominciano a scendere sensibilmente, sino a raggiungere - nel giro di 12/24 mesi - i valori caratteristici dell'adulto sano (inferiori a 5-7 ng/mL).

Alte concentrazioni di alfafetoproteina possono essere prodotte da certi tipi di tumore del fegato, del testicolo e dell'ovaio. Questa caratteristica rende la proteina utile come marcatore tumorale nel supporto alla diagnosi di questi processi neoplastici. Il parametro risulta utile, inoltre, per monitorare l'andamento di patologie del fegato croniche, come la cirrosi, l'epatite B e l'epatite C [77].

Quando l'alfafetoproteina è usata nel monitoraggio, diminuite concentrazioni possono indicare una buona risposta alla terapia. Se la concentrazione dopo la terapia non diminuisce, arrivando a valori normali o vicini alla normalità, significa che il tessuto tumorale potrebbe essere ancora presente. Se la concentrazione di AFP ricomincia ad aumentare, allora è probabile che si tratti di una recidiva (ricomparsa del tumore).

È importante ricordare che non tutti i tumori epatici, ovarici o testicolari producono significative quantità di AFP. Se la concentrazione di questo marcatore non è elevata prima di iniziare il trattamento, allora il test non sarà utile nel monitoraggio dell'efficacia della terapia o della comparsa di recidive [70].

Gonadotropina Corionica Umana (β -Hcg)

La beta-hCG è una glicoproteina ad attività ormonale, nota per essere associata alla gravidanza: è **prodotto dal sincizio trofoblasto placentare**. Essa comprende due subunità, alfa e beta; quest'ultima può essere dosata in maniera attendibile [70].

La sua principale funzione consiste, infatti, nel provvedere al mantenimento della gestazione, favorendo un ambiente ormonale e tissutale adeguato allo sviluppo dell'embrione.

I normali valori della beta-hCG di uomini adulti e donne non in gravidanza sono compresi nell'**intervallo 0-5 mIU/ml** (milliUnità Internazionali per millilitro di sangue). Per le donne in post-menopausa, può essere considerato normale un livello di beta-hCG fino a 9-14 mIU/ml.

Se le beta-hCG si riscontrano aumentate al di fuori di una gravidanza o nell'uomo, oltre i valori di riferimento, dovrebbero essere considerate come campanelli d'allarme per le seguenti patologie:

- **Malattia trofoblastica gestazionale;**
- **Tumori del trofoblasto;**
- **Tumori a cellule germinali**, di cui fanno parte:
 - Seminoma testicolare;

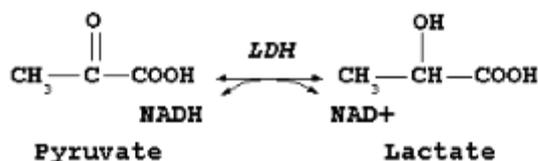
- Disgerminoma ovarico;
- Germinoma del sistema nervoso centrale (extragonadi);
- Gruppo dei tumori maligni germinali non seminomatosi:
 - Tumore del sacco vitellino;
 - Coriocarcinoma (valori maggiori di 100 ng/ml);
 - Carcinoma embrionale;
 - Teratoma.

A differenza dell'AFP, β -Hcg ha un'emivita più breve, pari a 20-30 ore.

La sua rapida riduzione è segno di una completa rimozione della neoplasia [78].

Lattico Deidrogenasi Sierica (LDH)

La lattato deidrogenasi (LDH) è un enzima citosolico che si trova nella maggior parte delle cellule dell'organismo. Il suo compito principale consiste nel metabolizzare il glucosio per renderlo energia fruibile.



La lattato deidrogenasi si trova in numerosi tessuti, ma è concentrata soprattutto a livello di muscoli scheletrici, fegato, cuore, reni, pancreas e polmoni.

Quando le cellule sono danneggiate o distrutte, l'enzima LDH è rilasciato nella frazione liquida del sangue (siero o plasma), oltre ad aumentare la propria concentrazione in altri liquidi biologici (es. liquor) in presenza di alcune patologie. L'LDH rappresenta, quindi, un indicatore generale di danno tissutale e cellulare.

I valori normali di LDH sono compresi **tra 80 e 300 mU/ml**.

L'intervallo di riferimento dell'esame può cambiare in funzione di età, sesso e strumentazione in uso nel laboratorio analisi. Per questo motivo, è preferibile consultare i range riportati direttamente sul referto. Occorre ricordare, inoltre, che i risultati delle analisi devono essere valutati nell'insieme dal medico di base che conosce il quadro anamnestico del proprio paziente.

LDH è un marcatore tumorale aspecifico, dunque di limitata utilità nel valutare il tipo istologico o la risposta al trattamento di una neoplasia. Tuttavia, valori aumentati di LDH possono indicare un elevato turnover cellulare e possono essere utilizzati come indicatori aspecifici di malignità.

In particolare, il disgerminoma può presentare un aumento dei livelli sierici di LDH [79].

CEA (antigene carcino-embrionario)

Il CEA è una glicoproteina con peso molecolare approssimativo di 210.000 daltons. Viene prodotta principalmente dalle cellule fetali del tratto digerente, del fegato e del pancreas, durante i primi due trimestri di gestazione, mentre dopo la nascita è molto ridotta. **La concentrazione normale plasmatica del CEA varia da 0 a 2,5 - 3 ng/ml.**

Inoltre, è una proteina che può essere prodotta in grandi quantità dalle cellule di **molte forme**

tumorali:

colon, retto, tiroide, polmone, mammella, fegato, pancreas, stomaco ed ovaie.

Di conseguenza, il CEA viene utilizzato come marcatore per la tipizzazione iniziale del processo neoplastico e per monitorare l'insorgenza di recidive. Il valore dell'antigene carcinoembrionario è più alto in presenza di patologie neoplastiche diffuse. Tuttavia, va tenuto presente che il valore può innalzarsi anche a causa di malattie non tumorali, come epatite, poliposi intestinale, colite, enfisema e polmonite. Inoltre, nei fumatori, questo parametro è, di solito, più elevato rispetto a chi non fuma. Il CEA aumenta in modo contenuto anche con l'età.

Monitoraggio della terapia e delle recidive dei tumori:

- Quando la concentrazione di antigene carcinoembrionario è inizialmente elevata e, successivamente, decresce fino alla normalità dopo la terapia, significa che il tumore è stato trattato con successo.
- Un rialzo costante della concentrazione del CEA è spesso il primo segnale di recidiva della malattia.
- Va considerato che non tutti i tipi di tumore producono l'antigene carcinoembrionario, è possibile avere il cancro con valori normali di antigene carcino-embriionario. Se il tumore non produce CEA, allora il test non è utile nel programma di monitoraggio.
- Se il CEA è presente in un fluido corporeo che non sia il sangue, è probabile che il tumore si sia diffuso in quell'area del corpo. Ad esempio, il riscontro dell'antigene carcinoembriionario nel liquido cerebrospinale, può essere segno di metastasi al sistema nervoso centrale.

Uso combinato dei marcatori HE4 e CA125

Tre meta-analisi mostrano l'uso di HE4 e CA125, sempre con soglie differenti per HE4 [187, 188, 189]. L'uso combinato di questi marker ha individuato una specificità del 65,7% utilizzando l'ECLIA come metodo immunologico, con un valore di cut-off per HE4 di 140 pmol/L. In un altro studio, utilizzando un'altra tecnica per valutare l'HE4 sierico, la specificità dell'associazione CA125 e HE4 era molto più alta (80%). L'AUC ROC della combinazione dei due marker era alto, con una variabilità da 0,96 (IC95% 0,93–1) a 0,91 (IC95% 86,7–96,0) [190]. Pertanto, l'associazione di CA125 e HE4 è un utile strumento diagnostico nel cancro ovarico e può essere utilizzato in aggiunta a ciascun biomarcatore.

Questi risultati sono confermati da un altro studio che analizza ogni marcatore separatamente o in combinazione [191]. Cioè, in caso di aumento di HE4 e CA125, la specificità era migliore.

L'uso di un terzo pennarello, per esempio clinico, potrebbe anche migliorare la rilevazione di questi tumori ovarici.

Oltre al suo utilizzo per la diagnosi del cancro ovarico in generale, la misurazione dell'associazione HE4 + CA125 può essere utile anche nella diagnosi differenziale di diversi tumori ovarici.

Anastasi et al. [192] hanno studiato 57 pazienti con endometrioma; tutti avevano i livelli di CA125 oltre il valore soglia di normalità, invece i livelli di HE4 erano normali.

Un altro studio molto recente ha confermato la differenza significativa nei livelli sierici di HE4 e CA125 nei casi di endometrioma [193]. Dunque si potrebbe sospettare una lesione endometrioide ogni volta che i livelli di CA125 sono elevati mentre i livelli di HE4 rimangono normali. Inoltre, mentre i valori di HE4 variano nei fumatori e nelle pazienti che utilizzando contraccettivi che combinano estrogeni e progestinici, la valutazione simultanea del CA125, che non è influenzato da queste variabili, dovrebbe consentire una migliore interpretazione dei livelli anormali di HE4.

In conclusione, sembra utile misurare i marker in caso di sospetti tumori ovarici.

È possibile utilizzare modelli diagnostici basati sull'utilizzo di marcatori sierici ed ultrasuoni per prevedere la malignità nelle masse annessiali.

Complessivamente, in letteratura sono riportati oltre 80 modelli sviluppati per predire il rischio di carcinoma nelle donne con massa annessiale, basati sia sulle caratteristiche ecografiche che sull'integrazione di informazioni diverse [210].

Tra i modelli proposti in letteratura si trovano l'indice di rischio di malignità (RMI), che è stato sviluppato nel 1990, modelli più recenti, come i modelli di analisi internazionale del tumore ovarico (IOTA): modello di regressione logistica 1 (LR1), regressione logistica modello 2 (LR2), regole semplici, modello di rischio con regole semplici (SRRisk) e l'ADNEX Score.

Uso combinato dei marcatori HE4, CA125, CA19-9 e CEA

Uno studio ha analizzato i livelli sierici di HE4, CA125, CA19-9 e CEA in 458 pazienti con tumori ovarici, al fine di analizzare il valore diagnostico dell'uso combinato di markers tumorali nei tumori pelvici ginecologici.

I partecipanti sono stati divisi in tre gruppi: 386 donne sane (gruppo di controllo), 262 pazienti con tumori ovarici benigni (il gruppo benigno) e 196 pazienti con tumori maligni tumori pelvici (il gruppo maligno).

I livelli sierici di HE4, CA125, CA19-9 e CEA sono stati analizzati mediante immunodosaggio elettrochemiluminescente.

I valori limite dei marcatori sono elencati nella tabella seguente:

Tumor marker	Cutoff value
HE4 (pM)	140
CA125 (U/mL)	35
CA19-9 (U/mL)	27
CEA (ng/mL)	5

Il test è positivo quando il valore è superiore all'intervallo di riferimento.

Gli studi lo hanno dimostrato che HE4 è espresso nel 93% del carcinoma ovarico epiteliale sieroso, 100% dell'endometrio cancro epiteliale e il 50% del cancro ovarico a cellule chiare, invece il cancro ovarico mucinoso non presenta l'espressione di HE4.

Il CA125 è un marker di screening ginecologico ampiamente utilizzato per la valutazione tumori pelvici. È altamente espresso nelle cellule tumorali ovariche epiteliali ed è anche altamente espresso nell'adenocarcinoma ovarico sieroso. I valori sierici tendono ad aumentare con la progressione della patologia tumore. Però questo marcatore aumenta anche in condizioni non tumorali, come durante le mestruazioni e nella malattia endometriosa. Dunque l'uso combinato di CA125 e altri markers tumorali è volto a migliorare la sensibilità e la specificità diagnostica.

Il CA19-9 è espresso principalmente nell'adenocarcinoma e nel tumore mucinoso.

L'uso combinato di due o più markers tumorali (parallel test) aveva una maggiore sensibilità diagnostica rispetto al singolo marker tumorale. L'efficienza combinata di HE4 e CA125 è più alta rispetto ai due singoli marker tumorali.

Quando sono stati utilizzati tre o quattro markers tumorali, non sono state mostrate differenze statisticamente significative rispetto alla combinazione HE4 e CA125 ($P > 0,05$); non c'era differenza di sensibilità tra diversi usi combinati dei marker tumorali.

Tumor marker	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)
HE4	63.78 (125/196)**	96.56 (253/262)	82.53 (378/458)
CA125	62.75 (123/196)**	70.61 (185/262)*	67.25 (308/458)
CA19-9	35.71 (70/196)	79.01 (207/262)	60.48 (277/458)
CEA	38.78 (76/196)	88.55 (232/262)	67.25 (308/458)
HE4 + CA125	80.10 (157/196)	69.08 (181/262)*	73.80 (338/458)
ROMA	81.12 (159/196)	83.97 (220/262)	82.75 (379/458)
HE4 + CA125 + CEA	88.52 (167/196)	65.27 (171/262)	73.80 (338/458)
HE4 + CA125 + CA19-9 + CEA	90.82 (178/196)	56.49 (148/262)**	71.18 (326/458)

Notes: * $P < 0.01$ (compared with HE4). ** $P < 0.01$ (compared with HE4 + CA125).

Come mostrato nella figura sottostante, le AUC (area sotto la curva) ROC dei markers tumorali CA125, CA199 e HE4 erano rispettivamente 0,967 (IC 95%, 0,947-0,985), 0,717 (95% CI, 0,673-0,758), 0,624 (95% CI, 0,578-0,668) e 0,777 (IC 95%, 0,736-0,814) (Figura 1).

Quando sono stati combinati HE4, CA125 e CEA, l'AUC era 0,972 (IC 95%, 0,942–0,978).

Invece l'AUC era 0,973 (95% CI, 0,949-0,989) quando HE4 e CA125 sono stati combinati (Figura 2).

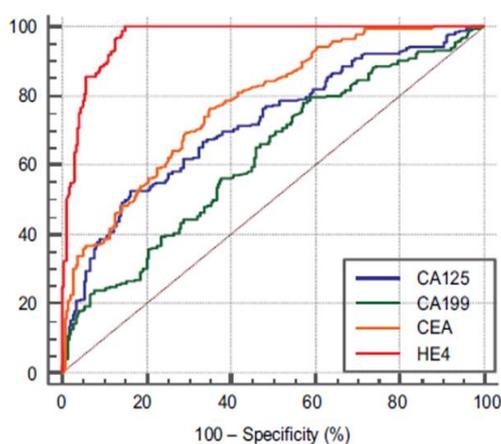


Figure 1 The detection of the ROC curve of ovarian cancer by four tumor markers. Abbreviation: ROC, receiver operator characteristic.

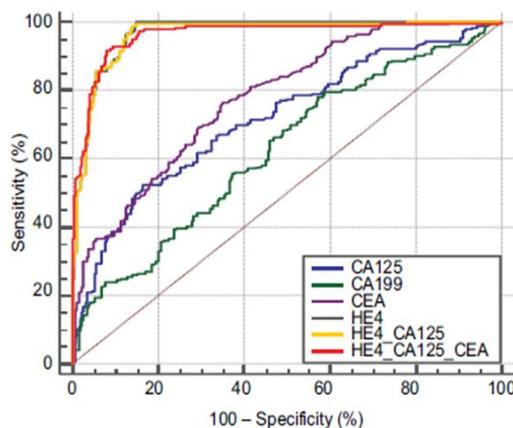


Figure 2 The ROC curve of four tumor markers in single and combined detections of ovarian cancer. Abbreviation: ROC, receiver operator characteristic.

In conclusione, lo studio ha dimostrato che i livelli di espressione di HE4, CA125, CA19-9 e CEA nel siero di pazienti con neoplasia ovarica erano significativamente più alti di quelli riscontrati nelle pazienti con tumori ovarici benigni.

Ulteriori analisi hanno dimostrato che, nell'iter diagnostico del cancro ovarico, la sensibilità e la specificità dei quattro marcatori tumorali differivano tra loro.

La sensibilità e la specificità di HE4 erano rispettivamente 63,78% e 96,56%. La sensibilità e la specificità di CA125 a sua volta erano 62,75% e 70,61%, rispettivamente. La sensibilità e la specificità di CA19-9 erano 35,71% e 79,01%, rispettivamente. La sensibilità e la specificità di CEA erano rispettivamente 38,78% e 88,5%.

Per la diagnosi di tumori ovarici maligni, i risultati hanno mostrato che HE4 ha una specificità più alta, CA125 ha la più alta sensibilità e CA19-9 e CEA hanno una sensibilità inferiore.

Dopo vari test combinati, è stato osservato che l'uso combinato di due marcatori tumorali ha una sensibilità diagnostica maggiore rispetto a marker tumorale singolo. Quando HE4 e CA125 sono stati combinati, la specificità e la sensibilità della diagnosi erano dell'80,1% e 69,08%, rispettivamente. La sensibilità diagnostica è aumentata all'88,52% e al 90,82% quando tre o quattro marcatori tumorali sono stati usati insieme. L'AUC ha mostrato che la combinazione di tre o quattro marker tumorali non hanno migliorato significativamente il efficacia diagnostica rispetto alla combinazione di HE4 e CA125.

Nello studio sono stati analizzati i valori sierici di HE4 e CA125 in combinazione con l'algoritmo ROMA in 63 pazienti con tumore maligno. La specificità complessiva di HE4 (96,56%) nella diagnosi di cancro ovarico era significativamente più alto di quello del CA125 (70,61%). L'algoritmo ROMA ha dimostrato una sensibilità dell'81,12% e una specificità dell'83,97%.

La combinazione dei valori sierici di HE4 e CA125 con l'algoritmo ROMA può essere utilizzata come strumento efficiente per la diagnosi clinica dei tumori ovarici e il rilevamento combinato dei livelli sierici di HE4 e CA125 è consigliato per tutte le pazienti di sesso femminile con massa pelvica sospetta.

Un antigene tumorale sierico, *Human epididymal secretory protein* (HE4), sembra

offrire promettenti risultati nella diagnosi differenziale delle tumefazioni annessiali. [65, 66]. Questo marcatore sembra avere una sensibilità per il carcinoma ovarico superiore a quella del Ca125.

Sono in corso studi prospettici multicentrici che valutano l'utilità del dosaggio di HE4 in aggiunta a quello del CA 125 nella diagnostica delle masse pelviche.

Analisi istopatologica intraoperatoria

Nella patologia ovarica, la biopsia intraoperatoria è fondamentale per ottenere una diagnosi di certezza riguardo la natura istologica della lesione ed è determinante nella scelta dell'approccio chirurgico per l'eradicazione della massa [105].

Una revisione sistematica di 3659 donne con patologia ovarica ha concluso che l'accuratezza diagnostica dell'analisi istopatologica intraoperatoria è elevata per tumori benigni e maligni (sensibilità rispettivamente del 99% e 94%), ma ridotta per tumori borderline (sensibilità 66%) [106].

L'analisi istopatologica intraoperatoria viene eseguita quando si sospetta che una lesione ovarica sia maligna. Se la diagnosi è di malignità, si procede con la stadiazione nei primi due stadi, che include omentectomia, linfadenectomia, lavaggi peritoneali e biopsie o con la citoriduzione nel terzo e quarto stadio [107].

Limiti dell'esame intraoperatorio:

- 1) **errore di campionamento macroscopico** in quanto non è possibile esaminare tutte le aree sospette nei tempi ristretti dell'esame (più comunemente tipico nei tumori mucinosi dovuto alla loro eterogeneità e dimensioni: in tal caso si consigliano 2-3 sezioni in aree non contigue);
- 2) **qualità delle sezioni criostatiche** che può limitare la valutazione del dettaglio cellulare;

- 3) **esperienza del patologo** (meglio se ginecopatologo);
- 4) l'incapacità di definire l'istotipo preciso nelle neoplasie solide;
- 5) **bassa sensibilità** nella diagnosi di tumore borderline e poca accuratezza nel distinguere quest'ultimo dai carcinomi (la difficoltà diagnostica è maggiore nel tipo mucinoso comparato alla controparte sierosa);
- 6) difficoltà nella diagnosi di carcinoma mucinoso ovarico primitivo;
- 7) difficoltà nella diagnosi differenziale tra carcinoma ovarico primitivo e secondario [117-124].

L'esame ha elevate sensibilità, specificità e VPP (valore predittivo positivo) per le lesioni benigne e maligne primitive dell'ovaio. Ha bassa sensibilità e valore predittivo positivo nella diagnosi di tumore borderline (rischio di sotto e sovradiagnosi, rispettivamente del 10% e del 7%).

	Tumore maligno	Tumore benigno	Tumore borderline
Sensibilità	79,6-93%	92,8-100%	44,4-84%
Specificità	97,1-100%	88,6-92,7%	93,8-97,9%
VPP	91,1-100%	89,6-92,2%	63-88,9%

Nonostante le difficoltà, l'accuratezza totale è dell' 87,8 - 94% ed è quindi un esame altamente raccomandato [125].

I tempi di refertazione sono circa 20 minuti dal momento in cui il materiale giunge al laboratorio di anatomia patologica e l'invio di fax/diagnosi telefonica con il chirurgo [126].

Lo screening

Nel caso del cancro ovarico, è noto come la prognosi sia radicalmente diversa a seconda che la diagnosi venga posta in stadio precoce o in stadio più avanzato. Infatti, la sopravvivenza a 5 anni raggiunge il 90%-60% se il tumore è diagnosticato negli stadi precoci (I-II), ma scende drasticamente a 20%-25% se la diagnosi è posta quando il cancro ha già raggiunto uno stadio avanzato (III-IV) [130].

Esiste quindi un rilevante bisogno di fare **diagnosi precoce**. La possibilità di applicare un esame di screening su una popolazione asintomatica e apparentemente sana è però ancora un argomento controverso.

L'esigenza dei ginecologi è di poter usufruire di un esame di screening semplice da eseguire (esame di laboratorio), che offra un'ottimale sensibilità (>90%), al quale far seguire un esame di approfondimento sufficientemente specifico al fine di ridurre i costi sanitari e le ricadute psicologiche per le donne. Tutto ciò, ovviamente, a fronte di un dimostrato miglioramento prognostico dei casi diagnosticati.

Data la bassa prevalenza del carcinoma dell'ovaio, si calcola che la malattia sia presente in 1 ogni 2500 donne asintomatiche in post-menopausa. Affinchè una strategia di screening sia efficace, l'esame utilizzato dovrebbe avere una sensibilità almeno del 75%, ma una specificità $\geq 99,6\%$ per raggiungere un VPP (dato dal rapporto fra i veri positivi e il totale dei positivi) del 10% circa, che comporterebbe la necessità di sottoporre a laparotomia 10 donne per trovare una neoplasia [131]. Non presentando tali caratteristiche di specificità, nè il CA125 nè alcun altro biomarcatore possono essere utilizzati in programmi di screening [127, 128, 129].

Stadiazione

La stadiazione di una neoplasia viene utilizzata per **descrivere le sue dimensioni, la sua localizzazione e la sua eventuale diffusione dalla sede di origine.**

Per il cancro dell'ovaio viene utilizzato un sistema di stadiazione chiamato **FIGO**, che stadia il tumore in base all'esame del tessuto asportato durante l'intervento chirurgico. Questa procedura è nota come **stadiazione chirurgica**. Ciò significa che, fino a quando la chirurgia non viene effettuata, per i medici spesso non è possibile sapere con certezza quale sia lo stadio del cancro.

Prima della chirurgia, è essenziale che vengano effettuate indagini di **diagnostica per immagini** come la TC o la RM per permettere al chirurgo di programmare l'intervento migliore per ogni paziente.

Durante la chirurgia vengono prelevati campioni multipli di tessuto patologico, successivamente inviati in laboratorio per l'analisi istologica, al fine di determinarne il sottotipo da cui è affetta la paziente [55].

Il cancro viene stadiato utilizzando una sequenza di lettere e numeri. Il sistema di stadiazione FIGO prevede quattro stadi che vengono indicati con i numeri romani da I a IV (*Prat et al., 2014*). **In genere, più basso è lo stadio, migliore sarà la prognosi.**

La stadiazione valuta:

- Le dimensioni del tumore (T)
- L'eventuale diffusione del cancro ai linfonodi (N)
- L'eventuale diffusione del cancro a sedi distanti note come "metastasi" (M).

Nella tabella sottostante vengono descritti i diversi stadi del cancro ovarico, ivi compreso il cancro epiteliale dell'ovaio [55].

Le procedure di stadiazione devono comprendere quanto previsto dalla FIGO Cancer Committee:

- Isterectomia totale e annessiectomia bilaterale;
- Omentectomia infracolica, in assenza di localizzazione evidente, o totale se l'omento è

sede di lesioni sospette;

- In assenza di noduli peritoneali macroscopicamente visibili, biopsie multiple a livello delle superfici peritoneali più probabili sedi di impianto di neoplasia per caratteristiche di circolazione del fluido peritoneale (docce paracoliche bilateralmente, peritoneo prevescicale, Douglas, emidiaframma destro, radice del mesentere)
- E' raccomandata l'esecuzione della linfadenectomia pelvica bilaterale e della linfadenectomia paraaortica fino al livello della vena renale sinistra (ad eccezione degli adenocarcinomi mucinosi di tipo espansivo allo stadio I), a seconda degli stadi
- Appendicectomia, soprattutto se l'appendice è macroscopicamente coinvolta o l'istotipo della lesione è mucinoso.
- E' raccomandato il campionamento del fluido peritoneale o del lavaggio peritoneale per la citologia prima della manipolazione del tumore.

La disponibilità dell'esame istologico estemporaneo al congelatore può consentire di completare la valutazione e stadiazione chirurgica al momento della prima chirurgia. E' noto che l'esame istologico estemporaneo al congelatore può non essere accurato e che l'esame istologico definitivo rimane il gold standard per la diagnosi.

Stadio I. Tumore circoscritto alle ovaie o alle tube di Falloppio (T1-N0-M0)	IA	<ul style="list-style-type: none"> • Il tumore è limitato a un ovaio o a una tuba di Falloppio e non è visibile sulla superficie di uno o dell'altro organo.
	IB	<ul style="list-style-type: none"> • Il tumore è limitato a entrambe le ovaie o a entrambe le tube di Falloppio e non è visibile sulla superficie di uno o dell'altro organo.
	IC	<ul style="list-style-type: none"> • Il tumore è limitato a una o entrambe le ovaie o le tube di Falloppio, ma è visibile sulla superficie di uno o dell'altro organo, una capsula ovarica si è rotta prima dell'intervento chirurgico o vengono recuperate cellule tumorali liberamente fluttuanti dalla cavità addominale.
Stadio II. Il tumore coinvolge una o entrambe le ovaie o le tube di Falloppio e vi è evidenza di diffusione locale della malattia ad altri tessuti (T2-N0-M0)	IIA	<ul style="list-style-type: none"> • Il tumore si è diffuso localmente all'utero.
	IIB	<ul style="list-style-type: none"> • Il tumore si è diffuso localmente ad altri tessuti all'interno della cavità addominale.

Stadio III. Il tumore coinvolge una o entrambe le ovaie o le tube di Falloppio e si è diffuso localmente oltre la pelvi e/o i linfonodi regionali (T1/2-N1-M0 o T3-N0/N1-M0)	IIIA	<ul style="list-style-type: none"> Vi è evidenza di tumore nei linfonodi regionali e/o il tumore ha iniziato a diffondersi oltre la pelvi, ma non è ancora visibile a occhio nudo.
	IIIB	<ul style="list-style-type: none"> Sono presenti metastasi visibili oltre la pelvi di diametro massimo fino a 2 cm, con o senza evidenza di tumore nei linfonodi regionali.
	IIIC	<ul style="list-style-type: none"> Sono presenti metastasi visibili oltre la pelvi di diametro massimo superiore a 2 cm, con o senza evidenza di tumore nei linfonodi regionali.
Stadio IV. Il tumore si è diffuso oltre la cavità addominale ad altre regioni del corpo (qualsiasi T-qualsiasi N-M1)	IVA	<ul style="list-style-type: none"> Accumulo di liquido in eccesso nella cavità pleurica (lo spazio pieno di liquido che circonda i polmoni).
	IVB	<ul style="list-style-type: none"> Sono presenti metastasi nei tessuti polmonari e in altri organi e linfonodi al di fuori della cavità addominale.

Trattamento

Cenni di terapia del tumore ovarico, nonostante lo studio condotto sia volto alla diagnosi dello stesso.

Terapia chirurgica: citoriduzione chirurgica primaria

L'approccio chirurgico iniziale riveste un ruolo fondamentale in caso di neoplasia ovarica sospetta sia ai fini diagnostici, permettendo l'accertamento istopatologico della natura della massa, sia ai fini terapeutici, consentendo la sua rimozione e l'accurata valutazione dell'estensione anatomica della malattia.

La chirurgia del carcinoma ovarico è essenzialmente una chirurgia laparotomica; la tecnica laparoscopica può trovare applicazione, in mani esperte ed in centri selezionati, nella ristadiatura chirurgica della diagnosi di carcinoma ovarico e nella valutazione intraoperatoria della malattia avanzata, al fine di valutarne la possibilità di una citoriducibilità ottimale, con un approccio mininvasivo che in caso di inoperabilità della paziente, le consenta un precoce inizio del trattamento chemioterapico [133, 134].

Trattamento chirurgico del carcinoma ovarico I-II stadio

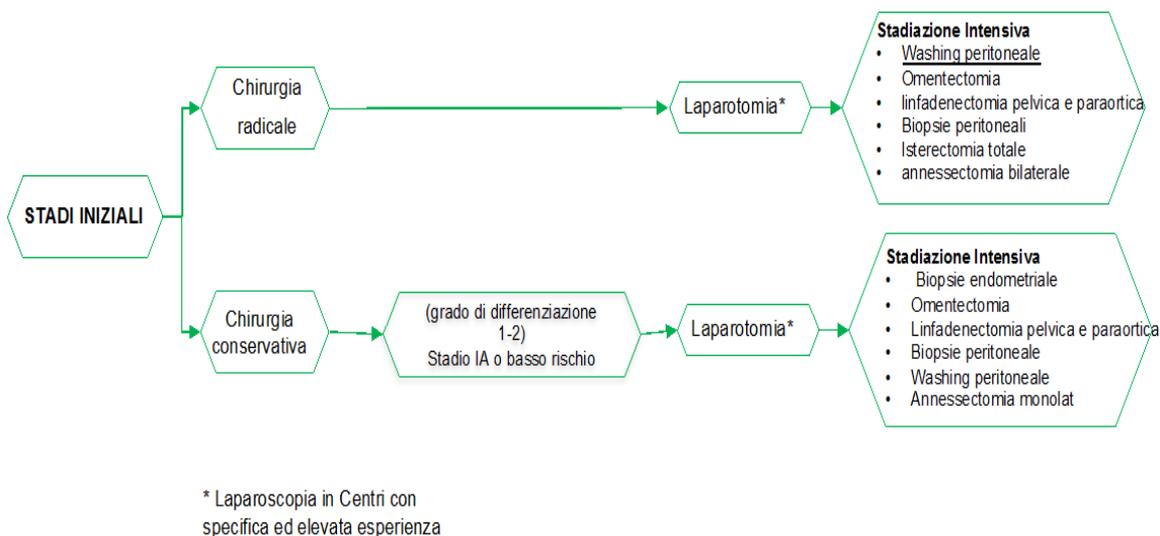


Figura 15. Algoritmo della terapia chirurgica degli stadi iniziali (I-II) [5].

L'obiettivo della chirurgia negli stadi iniziali è quello di ottenere la massima citoreduzione di tutta la malattia pelvica e di valutare eventuali localizzazioni occulte nell'alto addome e nel retroperitoneo (stadiazione).

La laparotomia mediana è raccomandata per la gestione chirurgica del carcinoma ovarico allo stadio iniziale. Gli apparenti stadi iniziali possono anche essere operati per via laparoscopica a patto che l'esperienza del ginecologo oncologo consenta l'effettuazione di un'adeguata stadiazione chirurgica [135].

L'esame istologico estemporaneo al congelatore può consentire di completare la valutazione e stadiazione chirurgica al momento della prima chirurgia. E' noto che l'esame istologico estemporaneo al congelatore può non essere accurato e che l'esame istologico definitivo rimane il gold standard per la diagnosi.

In mancanza dell'esame istologico estemporaneo al congelatore o in caso di diagnosi non conclusiva è da preferire l'intervento chirurgico in due tempi.

La chirurgia per la preservazione della fertilità (annessiectomia unilaterale) dovrebbe

essere offerta a selezionate pazienti in premenopausa che manifestino il desiderio di conservare la fertilità [135].

La decisione definitiva può essere presa dopo chirurgia di stadiazione basandosi sul grado e sullo stadio finale: la preservazione della fertilità è accettata in caso di carcinoma sieroso di alto grado stadio 1A o 1C1, carcinoma sieroso papillifero di basso grado IA-IC, endometrioide IA-IC, tumori mucinosi di tipo espansivo IA-IC, cellule chiare IA. In tutti gli altri casi, bisognerà decidere congiuntamente alla paziente e al GIC.

Dunque nelle pazienti con **malattia in stadio iniziale** la **chirurgia conservativa** dovrebbe essere presa in considerazione in associazione ad una **stadiazione intensiva peritoneale e retro peritoneale**.

La metanalisi di Bogani pubblicata nel 2017 ha confrontato la laparoscopia e l'approccio laparotomico per le procedure di stadiazione negli stadi iniziali del carcinoma ovarico, in termini di sopravvivenza e outcome post operatori. Complessivamente, sono stati inclusi 3065 pazienti: 1450 sottoposti a laparoscopia e 1615 sottoposti a stadiazione laparotomica.

Riguardo agli outcome di beneficio si è osservato:

- I dati di sopravvivenza globale non sono stati influenzati dalla via chirurgica.
- Le pazienti sottoposte a chirurgia mini-invasiva hanno presentato minore perdita ematica all'intervento, una durata inferiore della degenza ospedaliera e un tasso di complicanze postoperatorie inferiore
- La stadiazione laparoscopica è associata ad un inizio di chemioterapia più precoce rispetto alla procedure laparotomiche.

Riguardo agli outcome di danno:

- I pazienti sottoposti a laparoscopia hanno avuto un tempo operatorio più lungo (ma non statisticamente significativo)
- I tassi di upstaging e rottura della cisti erano simili tra i gruppi

Per quanto finora descritto, si ritiene di poter concludere che **l'approccio mini-invasivo nella chirurgia degli stadi iniziali possa essere presa in considerazione**.

Il limite della metanalisi è costituito del basso livello di evidenza degli studi inclusi.

In letteratura, l'incidenza media di metastasi linfonodali nel carcinoma ovarico in stadio iniziale è del 14.2%. La linfoadenectomia paraortica è parte della stadiazione chirurgica ed è raccomandata per definire lo stadio della malattia [136, 137].

Da una recente revisione sistematica della letteratura [138] uno dei limiti degli studi pubblicati sulla linfoadenectomia è che non esiste una stratificazione in base ai diversi istotipi, che sono entità biologiche completamente diverse, dunque sarebbero necessarie maggiori informazioni sull'utilità della linfoadenectomia nelle diverse forme istologiche. **L'incidenza di metastasi linfonodali riportata in letteratura in base ai diversi istotipi è di circa il 19% per i carcinomi sierosi di alto grado, 2.7 % per i sierosi di basso grado, 13% endometrioidi, 20.8% per i cellule chiare, 1.7 % nei mucinosi** [139].

In tale contesto, si sconsiglia di eseguire la linfoadenectomia nelle pazienti con carcinoma ovarico di tipo mucinoso [140].

Trattamento medico adiuvante del carcinoma ovarico I-II stadio

Le pazienti con tumore ovarico stadio FIGO I rappresentano il 20% circa delle diagnosi di tumore ovarico.

Il trattamento delle forme di carcinoma ovarico precoce è chirurgico, ma in considerazione del rischio di recidiva del 25-30%, nella maggior parte dei casi viene prescritto un trattamento chemioterapico adiuvante. Da analisi multivariate delle caratteristiche clinico-patologiche dei tumori ovarici epiteliali, sono stati identificati come fattori prognostici indipendenti: il grado di differenziazione, lo stadio FIGO, il sottostadio, l'età della paziente, il sottotipo istologico e la presenza di ascite.

Da uno studio condotto su donne affette da carcinoma ovarico in stadio iniziale, il grading, seguito dalla rottura capsulare pre o intra-chirurgica, la bilateralità del tumore e l'età sono risultati i fattori prognostici maggiormente correlati alla sopravvivenza libera da progressione [141].

Al fine di selezionare le pazienti che possano realmente beneficiare della terapia medica, le pazienti con carcinoma ovarico iniziale sono suddivise in tre differenti categorie di rischio.

Sono solitamente ritenute a basso rischio le pazienti in stadio FIGO Ia e Ib con malattia

ben differenziata e con istotipo non a cellule chiare; in questo stadio la chirurgia è risolutiva nel 95% dei casi e non vi sono evidenze che dimostrino un vantaggio legato al trattamento chemioterapico adiuvante. [142].

Le pazienti con malattia in stadio FIGO Ia-Ib moderatamente differenziata e gli stadi IC G1, appartengono al rischio intermedio.

I tumori scarsamente differenziati o gli stadi Ic G2/G3-II o sono ritenute ad alto rischio, in quanto associate ad un tasso di recidiva del 25-40% e, pertanto, candidate ad un trattamento chemioterapico adiuvante [142].

Una meta-analisi della Cochrane ha valutato 4 studi randomizzati prospettici, dimostrando un vantaggio in termini di overall survival e progression free survival per la chemioterapia adiuvante a base di platino vs la sola osservazione negli stadi iniziali di neoplasia ovarica [143].

Il tumore ovarico non deve essere considerato come un singolo tumore, ma almeno cinque tumori diversi con storie naturali di malattia, possibilità di rispondere alla chemioterapia e prognosi completamente differenti e nessuno di questi studi, effettuati prima di queste evidenze, teneva conto di questi aspetti.

Il tumore mucinoso e quello a cellule chiare infatti, quando confinati all'ovaio, tendono ad avere una ottima prognosi. Invece, quando vengono diagnosticati in uno stadio più avanzato, presentano una sopravvivenza peggiore rispetto alle altre istologie.

L'istotipo sieroso di basso grado è meno chemioresponsivo rispetto agli istotipi prima menzionati, però è ormonoresponsivo, ha un decorso clinico più indolente.

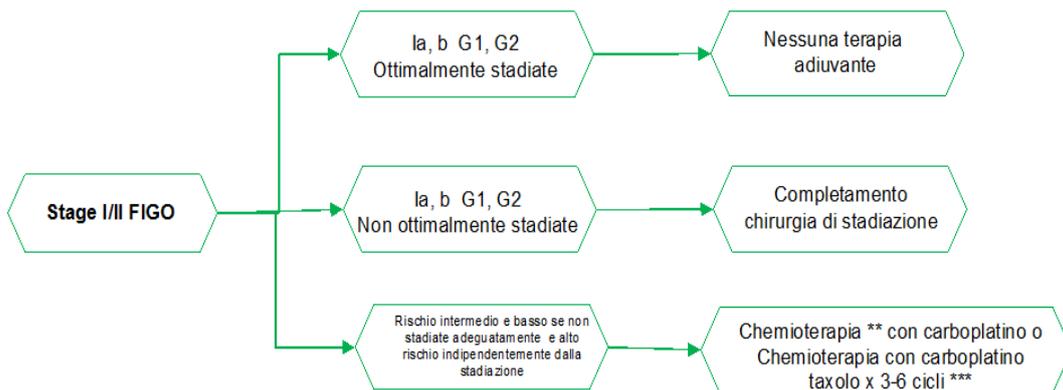
Una letteratura più recente, basata prevalentemente su evidenze retrospettive, tende a considerare la chemioterapia adiuvante poco utile nel tumore mucinoso [144], endometrioides e a cellule chiare confinato all'ovaio [145].

Futuri studi mirati all'individuazione di biomarcatori molecolari e genetici che consentano una migliore definizione delle classi di rischio negli stadi precoci, riusciranno a definire meglio il ruolo della chemioterapia adiuvante nei pazienti con neoplasia in stadio iniziale.

Tipologia e durata della chemioterapia nei tumori in stadio iniziale

Lo standard di trattamento prevede l'utilizzo del carboplatino AUC 6 single agent per 6 cicli o della combinazione carboplatino AUC 5/paclitaxel 175 mg/mq per 3-6 cicli, sebbene non esistano studi di confronto tra i due schemi o dati che dimostrino che l'aggiunta del paclitaxel al carboplatino ne migliori le performance, soprattutto negli istotipi non sierosi e nel sieroso di basso grado.

Studi preclinici e analisi retrospettive di studi clinici tendono a dimostrare un minor impatto del paclitaxel nelle istologie non sierose per una maggiore espressione di classe 3 beta tubulina, suggerendo il carboplatino in monoterapia come una opzione accettabile particolarmente in questi istotipi [146]. Per quanto concerne il numero di somministrazioni, da uno studio randomizzato è emerso un vantaggio non significativo in termini di disease free survival (riduzione del 24% del rischio di progressione) per le pazienti con tumori sierosi di alto grado e con tumore allo stadio IC sottoposte a 6 cicli di trattamento con carboplatino e taxolo rispetto ai soli 3 cicli, senza alcun beneficio in termini di overall survival [147]. Non abbiamo alcuna evidenza che utilizzare una chemioterapia di mantenimento con paclitaxel settimanale dopo 3 cicli di chemioterapia con carboplatino-paclitaxel migliori la sopravvivenza nelle pazienti con carcinoma ovarico in stadio iniziale [148].



* Completamento della stadiazione sempre raccomandato in caso di chirurgia sub-ottimale

** Impiego adiuvante della chemioterapia; livello di evidenza 1++; forza della raccomandazione A

*** Sei cicli sempre raccomandati nell'istotipo sieroso di alto grado

Figura 16. Algoritmo di trattamento degli stadi iniziali (I-II) [5].

Trattamento chirurgico del carcinoma ovarico III-IV stadio

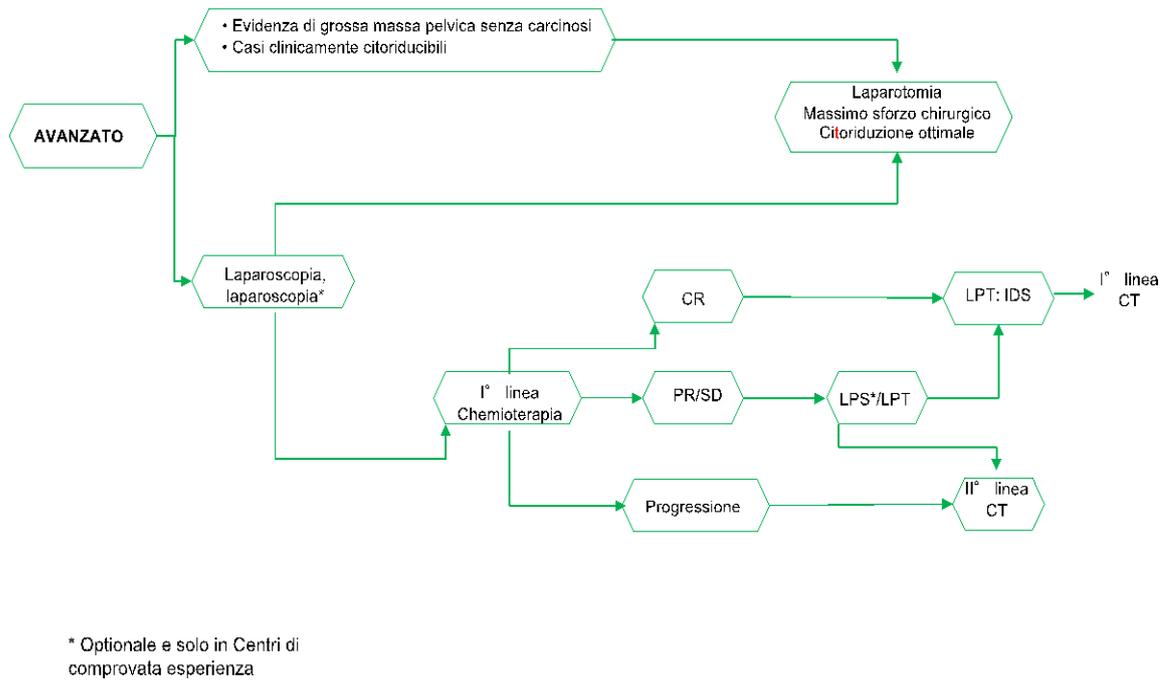


Figura 17. Algoritmo della terapia chirurgica degli stati avanzati (III-IV) [5].

La **chirurgia citoriduttiva** di prima istanza è il momento più importante del trattamento delle pazienti affette da carcinoma ovarico avanzato. La citoriduzione ottimale si verifica quando il tumore residuo è macroscopicamente assente [150].

Numerosi studi e recenti metanalisi hanno definitivamente confermato che il residuo tumorale post-chirurgico è un fattore prognostico sfavorevole [149]. La sopravvivenza globale e libera da malattia infatti è correlata al residuo tumore post chirurgia primaria [150].

Le procedure da eseguire comprendono sempre:

- Isterectomia totale extra fasciale con annessectomia bilaterale
- Omentectomia totale
- Appendicectomia (solo nei casi mucinosi)
- Asportazione di linfonodi bulky pelvici e aortici
- Asportazione di tutta la malattia macroscopicamente visibile.

Talvolta, allo scopo di eseguire un trattamento chirurgico adeguato, queste pazienti devono essere sottoposte ad asportazione di tratti dell'apparato gastrointestinale, intestino, milza e/o diaframma, spesso coinvolti dalla malattia.

La laparotomia mediana è l'accesso fortemente raccomandato per la gestione del carcinoma ovarico III-IV stadio.

La resezione completa di tutta la malattia visibile è l'obiettivo del trattamento chirurgico. L'esecuzione di chirurgia incompleta deve essere scoraggiata.

I criteri a sfavore della citoriduzione addominale sono:

- Infiltrazione diffusa e profonda della radice del mesentere
- Carcinomatosi diffusa del piccolo intestino
- Infiltrazione dell'ilo epatico
- Multiple localizzazioni intrapenchimali epatiche di malattia

Indicazioni alla chirurgia:

- Assenza di evidenza di malattia non resecabile
- Affinchè si esegua una resezione completa, è accettabile una certa morbidity, tenendo in considerazione lo stato della paziente. Le decisioni sono individualizzate e tengono in considerazione multipli parametri quali istotipo e grado, performance status, stato nutrizionale, albuminemia, comorbilità, valutazione oncogeriatrica se fattibile, caratteristiche radiologiche o reperti dopo laparoscopia/laparotomia esplorativa, localizzazione di malattia, numero di anastomosi intestinali.
- Le pazienti accettano potenziali misure supportive come le trasfusioni di sangue o le stomie temporanee e non. La linfadenectomia pelvica e lombo aortica è una procedura di grande importanza stadiativa ed evidenzia un numero di metastasi linfonodale superiore rispetto al campionamento, però è in discussione il suo ruolo terapeutico. Per quanto finora evidenziato, si ritiene che nelle pazienti con carcinoma epiteliale dell'ovaio avanzato, sottoposte a resezione macroscopica completa e con linfonodi negativi all'imaging e alla valutazione intraoperatoria, i danni provocati dalla linfadenectomia sistematica possano essere giudicati prevalenti sui benefici, dunque è sconsigliata.

La valutazione di inoperabilità deve essere eseguita in centri specializzati e da operatori con adeguata esperienza, infatti alcuni studi hanno dimostrato un'aumento della sopravvivenza e del tasso di citoriduzione primaria nelle pazienti con carcinoma ovarico operate in centri di riferimento [151].

La malattia metastatica extra-addominale solitamente costituisce una controindicazione alla citoriduzione eccetto in alcuni casi (esempi: linfonodi inguinali o ascellari, linfonodi retrocrurali o pericardici, coinvolgimento focale della pleura parietale, metastasi isolate parenchimali polmonari). Esempi di metastasi intra-addominali parenchimali resecabili: metastasi spleniche, metastasi epatiche della Glissoniana, metastasi segmentali singole epatiche parenchimali in base alla localizzazione.

Al contrario, metastasi epatiche centrali o multisegmentali, multiple metastasi polmonari (preferibilmente con diagnosi istologica), metastasi linfonodali non resecabili, e multiple metastasi cerebrali sono considerate non resecabili.

Terapia Chirurgica: chemioterapia neoadiuvante (NACT) seguita da citoriduzione chirurgica d'intervallo

Nei casi nei quali non sia stato possibile ottenere una citoriduzione ottimale al primo intervento, la terapia chirurgica può essere utilizzata in un secondo tempo, successivamente ad un trattamento chemioterapico, definito “chemioterapia neoadiuvante (NACT) seguita da chirurgia di intervallo”.

L'obiettivo principale è ridurre la massa neoplastica nei tumori avanzati per diminuire il rischio di complicanze perioperatorie.

In passato, uno studio randomizzato aveva concluso che la chirurgia di intervallo eseguita in dopo 3 cicli di chemioterapia a base di platino era in grado di aumentare la sopravvivenza [152]. Al contrario, un altro studio non aveva dimostrato un vantaggio statisticamente significativo nella chirurgia di intervallo nelle pazienti sottoposte a citoriduzione non ottimale [153].

In questo contesto sono stati recentemente pubblicati due studi randomizzati di fase III che non evidenziano sostanziali differenze in termini di OS e PFS tra chirurgia primaria e chirurgia di intervallo. Tuttavia i notevoli bias degli studi in oggetto, tra cui principalmente la bassa percentuale di citoriduzioni ottimali riportate nonché l'eterogeneità del background chirurgico dei centri coinvolti, rendono difficile trarre conclusioni definitive. [168, 169]. L'esito di questi studi suggerisce che in pazienti non citoriducibili in prima istanza possono giovare della chemioterapia neoadiuvante prima della chirurgia.

Inoltre, una recente metanalisi ha evidenziato come non ci siano evidenze statisticamente significative nel determinare se la chirurgia di intervallo migliori o no la sopravvivenza delle pazienti con carcinoma ovarico avanzato, rispetto alla citoriduzione primaria. La chirurgia di intervallo sembrerebbe mostrare un beneficio solo nelle pazienti in cui la chirurgia primaria non sia stata effettuata da un ginecologo oncologo o sia stata non radicale in prima istanza. [171].

Uno studio prospettico randomizzato ha confrontato il ruolo della chirurgia primaria versus la chemioterapia neoadiuvante, seguita da chirurgia di intervallo nelle pazienti con disseminazione intra-addominale di malattia. I risultati riportati dimostrano un

vantaggio statisticamente significativo per la NACT in termini di complicanze peri-operatorie e di qualità di vita [153] ma i dati di sopravvivenza hanno mostrato una non superiorità della chemioterapia neoadiuvante rispetto alla chirurgia primaria.

Lo studio EORTC -55971 pubblicato nel 2010 conclude che vi è sufficiente evidenza che nelle pazienti con carcinoma epiteliale dell'ovaio stadi III C-IV non ci sono vantaggi significativi della terapia neoadiuvante seguita da chirurgia rispetto la chirurgia primaria di debulking seguita da chemioterapia in termini di sopravvivenza globale, sopravvivenza libera da progressione, eventi avversi, qualità della vita o morbilità postoperatoria o mortalità e i danni provocati possano essere giudicati non prevalenti sui benefici.

Lo studio randomizzato CHORUS pubblicato nel 2015 condotto su 552 pazienti con prima diagnosi di carcinoma epiteliale dell'ovaio, della tuba e del peritoneo stadi III-IV conclude che vi è sufficiente evidenza che nelle pazienti con carcinoma epiteliale dell'ovaio stadi III-IV non ci sono vantaggi significativi della terapia neoadiuvante seguita da chirurgia rispetto la chirurgia primaria di debulking seguita da chemioterapia in termini di sopravvivenza globale e sopravvivenza libera da progressione ma i danni provocati dalla chirurgia primaria possano essere giudicati prevalenti sui benefici.

Dunque, la raccomandazione clinica è la seguente: **l'approccio chirurgico primario è considerato il trattamento di scelta, ad eccezione di pazienti con diffusione extra-addominale di malattia o con elevato rischio anestesiológico (ASA) o quando la disseminazione intra-addominale iniziale di malattia è tale da non consentire di ottenere un residuo tumore ottimale (zero).**

Uno studio randomizzato di fase III pubblicato nel 2018 è stato condotto su 245 pazienti con prima diagnosi di carcinoma epiteliale dell'ovaio, della tuba e del peritoneo stadi III, sottoposte a 3 cicli di chemioterapia neoadiuvante secondo lo schema carboplatino 5 AUC + Paclitaxel 175 mg/mq, q21. L'obiettivo di tale studio era dimostrare che l'HIPEC in aggiunta alla chirurgia di intervallo dopo 3 cicli di chemioterapia neoadiuvante era superiore alla chirurgia di intervallo senza HIPEC

(chemioterapia intraoperatoria) in termini di sopravvivenza libera da recidiva (RFS).
Endpoint di interesse secondario: OS, qualità di vita, e tossicità.

Riguardo agli outcome si è osservato:

- Un miglioramento della sopravvivenza libera da recidiva nelle pazienti sottoposte ad HIPEC
- Un miglioramento della sopravvivenza globale nelle pazienti sottoposte ad HIPEC
- Un sostanziale mantenimento della qualità di vita.

Lo studio sostiene che vi è sufficiente evidenza che nelle pazienti con carcinoma epiteliale dell'ovaio in stadio avanzato non citoridotte in prima istanza e sottoposte a chemioterapia neoadiuvante, l'HIPEC dopo chirurgia ottimale di intervallo determina un miglioramento della sopravvivenza libera da recidiva, di sopravvivenza globale e i danni provocati possano essere giudicati non prevalenti sui benefici.

Purtroppo, tutti gli studi hanno bias legati alla dimensione del campione, dalla qualità ed eterogeneità dei centri che effettuano l'intervento chirurgico.

Terapia medica nello stadio avanzato: Stadio IIb - IV secondo FIGO

- Chemioterapia

Dopo la chirurgia, tutte le donne con cancro epiteliale dell'ovaio di stadio II, III o IV devono ricevere la chemioterapia. Il trattamento standard è rappresentato da un regime a due farmaci: **paclitaxel** e **carboplatino**. Questi sono somministrati **per via endovenosa** una volta ogni tre settimane (ogni fase di trattamento viene chiamata "ciclo"). Solitamente, vengono somministrati sei cicli di trattamento.

Nelle donne allergiche al **paclitaxel** o non sono in grado di tollerarlo, può essere utilizzata, in alternativa, la combinazione di **docetaxel** o **doxorubicina liposomiale pegilata** e **carboplatino** (farmaci chemioterapici somministrati mediante fleboclisi in una vena del braccio o el torace) [55].

Gli **effetti indesiderati** della chemioterapia variano a seconda dei farmaci e delle dosi utilizzate. Le pazienti cui viene somministrata una combinazione di diversi farmaci chemioterapici hanno maggiori probabilità di sviluppare un numero superiore di effetti indesiderati rispetto alle pazienti che ricevono un singolo farmaco chemioterapico.

Le principali aree colpite dalla chemioterapia sono quelle in cui le cellule vengono prodotte e rinnovate velocemente (**midollo osseo, follicoli piliferi, apparato digerente, membrana di rivestimento del cavo orale**). Riduzioni della conta di neutrofili possono portare a **neutropenia**, una condizione che aumenta la predisposizione allo sviluppo di infezioni. Alcuni farmaci chemioterapici possono **ridurre la fertilità**.

La maggior parte degli effetti indesiderati della chemioterapia è di **natura transitoria** e può essere controllata con farmaci o modifiche dello stile di vita [55, 164].

- **Terapia a bersaglio molecolare**

Attualmente, in Europa è stato approvato un solo farmaco a bersaglio molecolare per il trattamento di **prima linea** del cancro ovarico, il **bevacizumab**. E' un **anticorpo monoclonale** diretto contro il fattore di crescita dell'endotelio vascolare, dunque è un farmaco antiangiogenico, che impedisce alla neoplasia di formare nuovi vasi sanguigni, dunque lo priva dei nutrienti di cui ha bisogno, rallentandone la crescita.

Questo farmaco è approvato in Europa e si può utilizzare in combinazione con **paclitaxel** e **carboplatino** per il trattamento di prima linea delle donne con cancro epiteliale dell'ovaio in stadio III B, III C o IV [55, 161].

Molti effetti indesiderati che si osservano nei pazienti trattati con le terapie a bersaglio molecolare sono simili agli effetti indesiderati della chemioterapia e includono effetti sull'**apparato gastrointestinale** (es. diarrea, vomito, nausea), sul **midollo osseo** (es. neutropenia, anemia, trombocitopenia) o effetti più generali come astenia, anoressia, nausea.

Tuttavia, possono verificarsi anche effetti indesiderati meno comuni, come eruzione cutanea, secchezza cutanea, alterazioni ungueali o ipertensione.

Molti degli effetti indesiderati causati dalle terapie a bersaglio molecolare possono essere efficacemente prevenuti o trattati [55].

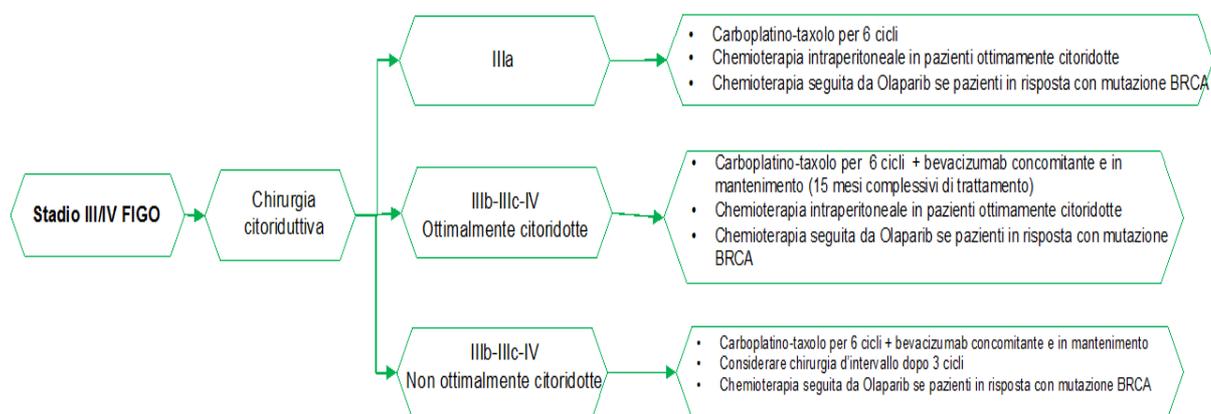


Figura 18. Algoritmo di trattamento degli stadi avanzati (III-IV) [5].

Recidiva

La maggior parte di pazienti affette da carcinoma ovarico presenterà una recidiva nell'arco della propria vita. I tassi di recidiva variano fra le diverse istologie, arrivando a coinvolgere comunque il **75%-80%** delle pazienti, nonostante i miglioramenti del trattamento primario della neoplasia [154, 155]. Le tipologie di recidiva di malattia possono essere: **noduli isolati pelvici/addominali, localizzazioni peritoneali isolate, carcinomatosi peritoneale o la combinazione delle precedenti**. Le localizzazioni intraperitoneali sono più frequenti di quelle extraperitoneali.

In base al tempo trascorso dal trattamento chemioterapico, le pazienti vengono così classificate:

Classificazione delle pazienti rispetto a sensibilità al platino	Comparsa della recidiva
Refrattarie	Durante la I linea o entro 1 mese dall'ultimo ciclo di platino
Resistenti	Entro 6 mesi dall'ultimo ciclo di platino
Parzialmente platino-sensibili	Tra 6 e 12 mesi dall'ultimo ciclo di platino
Platino-sensibili	A partire da 12 mesi dall'ultimo ciclo di platino

- **Terapia chirurgica**

In generale, la maggioranza delle pazienti con recidiva di carcinoma ovarico è trattata mediante chemioterapia: l'obiettivo principale della chirurgia secondaria rimane, esattamente come per la chirurgia primaria, la citoriduzione, ovvero residuo tumorale assente [156].

Sono stati condotti diversi studi finalizzati all'identificazione di fattori predittivi di citoriduzione completa, nelle pazienti sottoposte a citoriduzione secondaria [157].

Lo studio "Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie Descriptive Evaluation of preoperative Selection KriTeria for OPERability in recurrent OVARian cancer (AGO DESKTOP OVAR) I" ha dimostrato come l'overall survival (OS) mediana di pazienti con citoriduzione completa fosse di 45 mesi confrontata a una sopravvivenza di 19 mesi in pazienti con citoriduzione non ottimale. Questo studio ha permesso di identificare tre **fattori predittivi** di citoriduzione completa: 1) tumore residuo assente alla prima chirurgia o stadi iniziali I-II alla diagnosi; 2) buon performance status; 3) assenza di ascite [157].

Similmente, un altro studio ha identificato criteri utili per predire la citoriduzione completa. Tali criteri si basano fondamentalmente sulla sede e il tipo di recidiva (isolata, multipla e carcinomatosi) e sul disease-free survival [158].

Diversi studi retrospettivi suggeriscono un miglioramento della sopravvivenza in pazienti selezionate, sottoposte ad asportazione completa della recidiva [159].

Alcuni autori propongono di associare alla chirurgia secondaria con assenza di residuo tumorale macroscopico, una chemioipertermia intraperitoneale, con infusione di un chemioterapico ad alta temperatura (41.5°C) [160]. Questo approccio va considerato sperimentale; è in corso uno studio prospettico multicentrico randomizzato sull'efficacia della chemioipertermia intraoperatoria, associata a chirurgia secondaria con residuo tumore ottimale in pazienti con carcinoma ovarico platino-sensibile (Protocol ID: HORSE; NCT01539785).

Per quanto finora descritto, si ritiene di poter concludere che vi è sufficiente evidenza

che nelle pazienti con recidiva di carcinoma epiteliale dell'ovaio avanzato sottoposte a chirurgia citoriduttiva completa i danni provocati del trattamento possano essere giudicati accettabili rispetto ai benefici, che sono superiori.

La chirurgia citoriduttiva secondaria può essere presa in considerazione in caso di recidiva di malattia con intervallo libero da platino > 6 mesi in caso di PS ECOG=0, ascite < 500 ml e citoriduzione primaria ottimale con RT=0 o stadio FIGO I-II alla diagnosi [158, 159].

- **Terapia medica**

In generale, la maggioranza delle pazienti con recidiva di carcinoma ovarico è trattata mediante chemioterapia [156].

La modalità con cui gli specialisti decideranno il trattamento dipenderà da molti fattori, tra cui la velocità di ricomparsa del tumore (cancro-intervallo).

Di solito, le scelte terapeutiche rientrano in queste casistiche:

- Un farmaco chemioterapico per volta, quindi un **trattamento sequenziale**, per le donne il cui cancro è recidivato molto velocemente (platino-resistenti).
- Due farmaci chemioterapici a base di **carboplatino** se il tumore è ricomparso più lentamente
- Una serie di potenziali combinazioni, la maggior parte dei quali a base di platino, se il cancro è ancora sensibile ai derivati del **platino** (come **carboplatino**) [55].

Per quanto concerne la terapia a bersaglio molecolare, il farmaco **Bevacizumab** è stato approvato in Europa anche per il trattamento delle donne con cancro epiteliale dell'ovaio recidivato. Le indicazioni sono le seguenti [55, 162]:

- In combinazione con **carboplatino** e **gemcitabina** o con **carboplatino** e **paclitaxel** per le donne con una prima recidiva di cancro epiteliale dell'ovaio sensibile al **platino**, non sottoposte a un precedente trattamento con **bevacizumab**
- In combinazione con **paclitaxel**, **topotecan** o **doxorubicina liposomiale pegilata** per le donne con cancro epiteliale dell'ovaio recidivato resistente al **platino**, sottoposte a

non più di due precedenti regimi **chemioterapici** e non sottoposte a un precedente trattamento con **bevacizumab**.

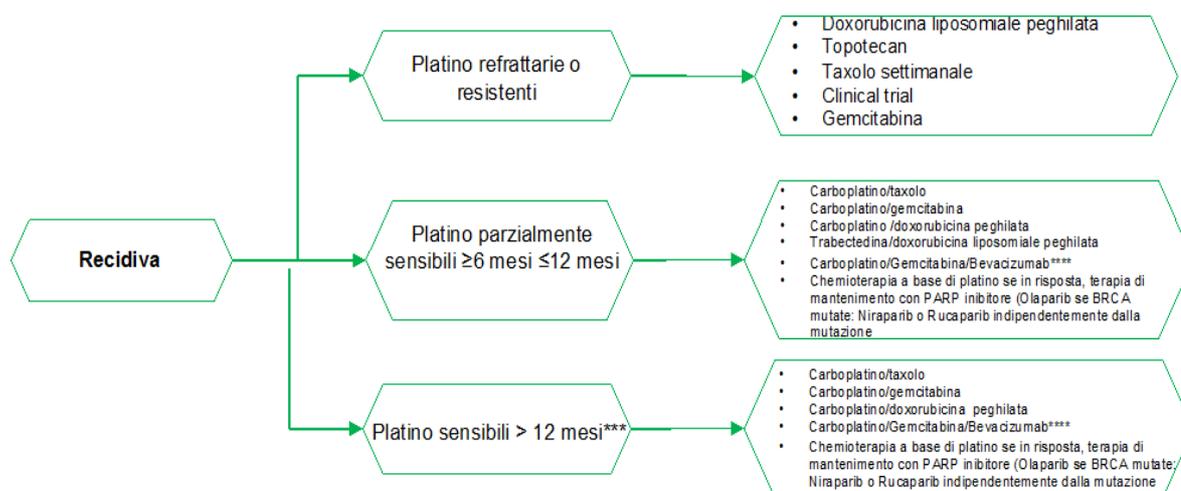
Un altro farmaco a bersaglio molecolare, che agisce in modo diverso da bevacizumab, è **olaparib**. **Olaparib** inibisce un enzima, detto **PARP** (Poli-ADP-Ribosio Polimerasi), di cui il tumore ha bisogno per riparare il suo **DNA** e continuare a crescere.

Olaparib è stato approvato in Europa come agente singolo per il **trattamento di mantenimento** delle donne con recidiva sensibile al platino di carcinoma ovarico epiteliale sieroso ed endometrioide di alto grado (stadio III-IV), positivo per la mutazione BRCA1 o la mutazione BRCA 2, che hanno ottenuto una risposta completa o parziale alla chemioterapia di prima linea a base di platino.

A differenza di molti altri farmaci utilizzati per trattare il cancro epiteliale dell'ovaio, **olaparib** è disponibile in capsule e si assume per bocca [55, 163].

Niraparib è un altro farmaco che inibisce l'enzima **PARP**. In Europa, il suo utilizzo è stato recentemente raccomandato come **trattamento di mantenimento** (trattamento somministrato dopo i cicli iniziali di chemioterapia, allo scopo di tenere sotto controllo la neoplasia) per le donne adulte con carcinoma ovarico epiteliale sieroso, carcinoma delle tube di Falloppio o carcinoma peritoneale primario di alto grado, recidivato e sensibile al platino, che stiano rispondendo alla chemioterapia a base di platino, indipendentemente dallo stato della mutazione BRCA1/2. Al pari di olaparib, anche niraparib è disponibile in capsule e si assume per bocca [55].

In conclusione, in termini di nuove prospettive, le combinazioni di immunoterapia, PARP inibitori, immunoterapia e antiangiogenetiche sono attualmente in valutazione in trials clinici controllati e randomizzati. Le diverse caratteristiche biologiche dei diversi istotipi di carcinoma ovarico fanno credere che in futuro riceveranno trattamenti diversificati. Studi retrospettivi suggeriscono che i tumori sierosi di basso grado riconoscano nell'ormonoterapia e nei MEK inibitori le loro strategie target; invece i tumori a cellule chiare potrebbero beneficiare della radioterapia e degli inibitori delle tirosin chinasi [5].



***possibilità di chirurgia di salvataggio nei platino sensibili con intento di citoreduzione completa

****bevacizumab solo se non precedentemente somministrato

Figura 19. Algoritmo di trattamento in caso di recidiva del carcinoma ovarico [5].

Il ruolo della radioterapia nella gestione del tumore dell'ovaio

Nella malattia ovarica, la radioterapia viene spesso utilizzata nell'ambito della palliazione di sintomi quali dolore, sanguinamento, dispnea per coinvolgimento mediastinico.

In letteratura sono descritti trattamenti definiti **Involved Fields (IFRT)**, ovvero mirati alla sede di recidiva, con discreto controllo locale ed accettabile tossicità. Le dosi erogate sono tra i 50 ed i 60 Gy in frazionamento convenzionale (1.8 – 2 Gy per frazione) [165].

Negli ultimi anni, l'evoluzione tecnologica in radioterapia ha portato allo sviluppo di tecniche avanzate in grado di modulare la dose a beneficio del **volume target** con netta riduzione della tossicità agli organi circostanti (IMRT). Tra queste la radioterapia stereotassica (STR), cioè un trattamento erogato in poche frazioni (1, 3, 5 generalmente) e somministrato con alta dose per frazione (da 8 a 25 Gy).

La stereotassi inizialmente era adeguata per il trattamento di lesioni di piccole dimensioni, successivamente è stato possibile estendere la tecnica anche alle lesioni viscerali e linfonodali [166]. Questo approccio radioterapico sembra aumentare l'effetto killer sulle cellule tumorali [167], in particolare il beneficio clinico è massimo e si verifica una riduzione del rischio di tossicità (ottimizzazione dell'indice terapeutico), rendendo possibile re-irradiare aree già sottoposte a precedente trattamento condotto a dosi radicali.

Per delineare correttamente il volume di irradiazione e degli organi a rischio (OARs) adiacenti, si utilizzano degli esami diagnostici come RM, TC, PET-TC, mediante fusione (rigida o elastica) di immagini con la TC di simulazione. Per la corretta erogazione del trattamento stereotassico è necessaria l'immobilizzazione adeguata del paziente, che consenta un facile e riproducibile posizionamento. In base alla sede della lesione da irradiare si utilizzano maschere termoplastiche personalizzate (lesioni testa-collo-torace superiore) e cuscini a vuoto personalizzati (lesioni a livello del torace, dell'addome, della pelvi).

Sulla base del numero di frazioni erogate si definisce: i) radiochirurgia stereotassica (SRS) un trattamento eseguito in singola frazione; ii) radioterapia stereotassica (SRT) un trattamento frazionato in più di una frazione (in genere fino a un massimo di 5 frazioni) [166].

Uno studio retrospettivo multicentrico, eseguito su 261 pazienti per un totale di 449 lesioni, ha valutato la risposta a 24 mesi. Questo ha confermato un elevato controllo locale di malattia ed il basso tasso di tossicità acuta e tardiva [168]. Lo studio, focalizzato su aspetti strettamente radioterapici volumetrici e tecnici, nonché biologici quali la dose biologicamente efficace (BED), ha dimostrato la maggiore probabilità di risposta completa per target di dimensioni inferiori ai 18 cm^3 e confermato il dato della migliore risposta della malattia linfonodale rispetto a quella viscerale. Osservazioni relative alla dose/frazione sono oggetto di considerazione in ambito scientifico radioterapico anche nel confronto con le dosi e volumi utilizzati in altre patologie generalmente più radioresistenti della malattia ovarica [168].

Non esistono attualmente studi randomizzati di confronto con chemioterapia e/o chirurgia.

Riassumendo, è possibile considerare un ruolo attivo, esclusivo o associato a chemioterapia, della radioterapia mirata stereotassica nella malattia ovarica oligometastatica sia come strumento per ritardare la ripresa della chemioterapia, sia come strumento di controllo locale dei foci attivi nelle pazienti in corso di terapia di mantenimento. **La tecnica è efficace, non invasiva, sicura e di basso impatto in termini di tossicità locale o ematologica, generalmente è molto ben percepita dalle pazienti [VI].**

Follow up

I dati di letteratura indicano che il 25% delle pazienti con malattia precoce e l'80% delle pazienti con malattia avanzata va incontro a ricaduta di malattia [169].

I trattamenti della recidiva portano raramente alla guarigione, ma le pazienti possono avere risposte significative alle terapie di salvataggio con allungamento del tempo di sopravvivenza.

Il follow-up, le tipologie delle procedure da eseguire e la frequenza degli accertamenti non sono chiaramente codificate e mancano studi randomizzati; le indicazioni relative agli accertamenti da eseguire derivano da evidenze retrospettive e revisione della letteratura.

Le pazienti con sola recidiva biochimica non sono ad oggi candidate ad alcun trattamento chemioterapico. Si dovrà riconfermare questo risultato in futuro alla luce delle recenti conoscenze e ai nuovi trattamenti disponibili per la cura dei tumori epiteliali dell'ovaio, non disponibili durante lo studio di Rustin, unico studio eseguito sul follow up [170].

Il razionale migliore per pianificare un percorso di follow up, dovrebbe tenere in considerazione:

- 1) lo stadio, l'istotipo e le caratteristiche biomolecolari
- 2) la disponibilità di trattamenti efficaci
- 3) i trattamenti pregressi

Il follow up dovrebbe tenere avvalersi di:

1. Esame obiettivo e visita ginecologica.

Il 26-50% delle recidive avviene nel contesto della pelvi, si ritiene indicata l'esecuzione di un esame clinico approfondito, che dovrebbe includere palpazione bimanuale pelvica e retto-vaginale [171]. Tuttavia i tassi di riscontro diagnostico all'esame obiettivo variano significativamente dal 15 al 78% [172].

2. Marcatore tumorale CA 125.

Circa l'80% dei tumori epiteliali dell'ovaio presenta elevati livelli del CA 125 al momento della diagnosi. Tale marcatore presenta sensibilità e specificità del 62-94% e 91-100% rispettivamente; tuttavia, anche se l'unico studio randomizzato non ha evidenziato nessun beneficio in sopravvivenza nel trattamento immediato della recidiva, il suo utilizzo potrebbe aiutare ad identificare le pazienti da indirizzare ad indagini strumentali per selezionare quelle da sottoporre a chirurgia secondaria o a trattamenti medici prima della comparsa dei sintomi alla ripresa di malattia, che renderebbero più complicato l'utilizzo di trattamenti efficaci [173].

3. Glicoproteina HE4 (Human epididymis protein 4).

È caratterizzata da un'elevata accuratezza diagnostica, superiore rispetto al CA-125 in fase diagnostica specie negli stadi iniziali di malattia, poiché dotata di elevata specificità nella distinzione tra carcinoma ovarico e patologie ginecologiche benigne.

In corso di followw up è utilizzato in pazienti che alla diagnosi erano positive al marker tumorale [173].

4. Ecografia transvaginale.

Tutte le pazienti sottoposte a trattamenti conservativi con la preservazione di una gonade debbono eseguire ecografie TV periodiche al fine di evidenziare eventuali riprese di malattia nell'ovaio residuo [174].

5. TC.

Rappresenta l' esame di riferimento con una sensibilità che varia fra il 58% ed l' 84% e una specificità fra il 60% e il 100%. E' però limitata l' identificazione di lesioni inferiori a 5 mm peritoneali, mesenteriche o della parete intestinale. Non vi sono dati prospettici volti alla definizione del ruolo di tale metodica [175].

6. **PET/TC.**

È considerata appropriata al pari della TC. Tale metodica presenta una sensibilità del 45-100% e una specificità del 40-100%, con una accuratezza diagnostica di oltre il 95% [176].

La visita di follow-up costituisce inoltre un momento utile ai fini della identificazione delle tossicità tardive indotte dai trattamenti. Attualmente non esistono protocolli codificati per la loro identificazione e successivo monitoraggio, che tuttavia sarebbero auspicabili. Al momento attuale si ritiene importante utilizzare la visita periodica quale strumento utile per rilevare i danni iatrogeni, es. neurotossicità periferica in esito a trattamento con taxani, cardiotoxicità dopo terapia con platino o antraciclina ed avviare la paziente a successivi accertamenti. Per le pazienti sottoposte a trattamenti conservativi soprattutto se sottoposte a chemioterapia appare utile inserire nel follow up una valutazione endocrino-riproduttiva.

Anche se i dati a disposizione sono scarsi e talvolta controversi e spesso non tengono conto dei differenti istotipi, nella maggior parte dei casi la terapia sostitutiva non sembra influenzare la prognosi se utilizzata durante il follow up soprattutto se prescritta per periodi non a lungo termine.[176]. Qualora un trattamento ormonale sostitutivo (HRT) venga preso in considerazione è opportuna la determinazione sul campione istologico di recettori per estrogeni e progesterone. Negli istotipi che non esprimono recettori per estrogeni, la HRT può essere utilizzata; invece bisogna valutare più attentamente le pazienti il cui tumore ovarico presenta recettori per gli estrogeni come il sieroso e l'endometriode. Invece nei tumori sierosi a basso grado, la HRT non dovrebbe essere utilizzata.

Non esistono trial randomizzati in letteratura che indichino con precisione il timing dei controlli da eseguire e il setting di pazienti candidati. Per contro le indicazioni relative al timing delle visite di controllo derivano dall'evidenza che l'80% delle recidive di malattia in pazienti trattate per carcinoma dell'ovaio avvengono nei primi 2 anni successivi al trattamento radicale.

La durata ottimale del periodo di follow-up specialistico è definito da studi clinici randomizzati retrospettivi, provenienti da una recente ampia analisi condotta sui dati del database del SEER, questi documentano il rischio di ricaduta di malattia e/o morte anche dopo il quinto anno nelle forme ad alto rischio.

Pertanto è consigliato un follow-up prolungato oltre il quinto anno.

Parte sperimentale

Background

Il tumore dell'ovaio rappresenta circa il 3% delle neoplasie femminili e presenta il più alto tasso di mortalità tra le neoplasie ginecologiche. La diagnosi preoperatoria di tumore ovarico è una sfida clinica, laboratoristica e strumentale.

Attualmente, l'ecografia transvaginale è lo strumento più utilizzato per la diagnosi e/o la conferma di sospetto clinico di massa pelvica: essa offre infatti le migliori opportunità diagnostiche, grazie alla sua capacità di definire con accuratezza le caratteristiche morfologiche degli organi pelvici e alla possibilità di eseguire contestualmente anche la valutazione dinamica quali-quantitativa della vascolarizzazione della massa. Negli ultimi 30 anni sono stati proposti molti parametri ecografici, per la valutazione della natura delle masse pelviche annessiali. In alcuni score, ai parametri ecografici si aggiungono i valori ematici di alcuni marcatori tumorali.

Di fronte ad una massa annessiale, la Letteratura propone score ecografici oppure misti (ecografia + stato menopausale + marcatori sierici) per determinarne la benignità/malignità della massa.

Gli score predittivi maggiormente accurati risultano essere:

- Risk of Malignancy Index (RMI)
- ROMA (Risk of ovarian malignancy algorithm)
- Adnex Score

Modelli predittivi ibridi di malignità

Per avere un impatto sostanziale sulla riduzione dei tassi di mortalità, l'attenzione deve essere posta sui tumori di tipo II e l'obiettivo della diagnosi precoce dovrebbe essere diretto a rilevare un tumore all'inizio della sua evoluzione con l'uso di biomarcatori altamente sensibili.

Esiste quindi un rilevante bisogno di fare diagnosi precoce, come nel caso del cancro del polmone e del pancreas, ma, diversamente da tali neoplasie, per l'ovaio esistono dei marcatori ragionevolmente sensibili e sufficientemente specifici per essere di potenziale supporto all'orientamento diagnostico.

E' essenziale differenziare precocemente tumori ovarici maligni dai tumori ovarici benigni: sono quindi necessari alcuni approfondimenti diagnostici, dosaggi di markers sierici, ecografia transvaginale e score per decidere il trattamento della lesione [181].

Sono necessari modelli di previsione del rischio, per stimare in modo affidabile la probabilità che una massa sia maligna, in modo che le pazienti possano ricevere il trattamento migliore. È possibile utilizzare modelli di previsione del rischio per personalizzare la gestione delle pazienti, come la priorità sulle liste di attesa per ulteriori indagini, consulenze specialistiche e decidere se i pazienti necessitino di un intervento chirurgico eseguito da chirurghi specializzati in chirurgia oncologica o se la chirurgia non è necessaria. Le masse annessiali giudicate benigne possono essere gestite in sicurezza con il follow-up. Se una la massa provoca sintomi, può essere rimossa chirurgicamente in un centro non specializzato; tuttavia, se si sospetta una neoplasia maligna, la massa dovrebbe essere gestita in un centro oncologico specializzato.

La possibilità di identificare correttamente in fase pre-operatoria le pazienti con una tumefazione annessiale altamente significativa per un sospetto di carcinoma è importante per una serie di competenze cliniche: - le pazienti trattate per tumore ovarico in ambito di competenze di ginecologia oncologica dimostrano una prognosi migliore rispetto a quelle trattate da un ginecologo generale o da un chirurgo generale;

- indirizzare le pazienti a un centro di ginecologia oncologica a fronte di una diagnosi preliminare di sospetto carcinoma offre significativi vantaggi prognostici;
- alcune tumefazioni annessiali asintomatiche potrebbero essere indirizzate a un “follow-up” anziché all'intervento chirurgico;
- tumefazioni annessiali più probabilmente benigne possono essere trattate con chirurgia mini-invasiva (laparoscopia) anziché laparotomica, con minori costi di salute per la donna e vantaggi economici per le comunità [210].

Il ginecologo chiede oggi di poter disporre di un strumento di valutazione sufficientemente semplice, ripetibile, possibilmente quantitativo, non soggettivo (come a volte è l'ecografia) per definire e stratificare il rischio di neoplasia [210].

RMI (Risk of malignancy index)

Il RMI è stato proposto nel 1990 da Jacobs [194] ed è stato diffusamente studiato e applicato nel Regno Unito e risulta superiore agli altri modelli sia per sensibilità che specificità.

Utilizzando per il punteggio del RMI un valore soglia di 200, ricavabile dalla meta-analisi di numerosi studi, il RMI mostra sensibilità compresa fra 71% e 85% e specificità fra 83% e 91%. L'efficacia diagnostica del RMI è migliore di quella dell'ecografia o del CA125 considerati individualmente. Nel caso del CA125 RMI migliora soprattutto la specificità, che per il CA125 è compresa fra 71% e 82% [210].

E' calcolato combinando il CA125 sierico, risultati ecografici e stato della menopausa secondo la formula: $RMI = U \times M \times CA125$ con $U =$ punteggio ecografico ($U = 0$ se punteggio ecografico = 0, $U = 1$ se punteggio ecografico = 1, $U = 3$ se punteggio

ecografico da 2 a 5), M. = stato della menopausa (M = 1 per le donne in pre-menopausa, M = 3 per le donne in post-menopausa).

Un punteggio RMI sopra 200 ha dimostrato avere una forte associazione con un rischio elevato di malignità (sensibilità 85,4% e specificità 96,9%).

Un altro studio condotto nel 2012 su quasi 1000 pazienti ha dimostrato che la valutazione ecografica aveva miglior sensibilità e specificità se refertata secondo i criteri IOTA (International Ovarian Tumor Analysis) rispetto a RMI [195].

Questi dati sono stati confermati in una recente meta-analisi pubblicata nel 2016 [196]. Questo studio su quasi 20.000 tumori ovarici ha riportato che i risultati sono migliori con l'uso di criteri ecografici IOTA (sensibilità 93% e specificità 80%) rispetto a quelli ottenuti con l'algoritmo RMI (sensibilità 75% e specificità 92%). La specificità della RMI per la diagnosi delle ovaie il cancro è piuttosto alto, 92,4% [197].

Successivamente sono state eseguite alcune modifiche al RMI, per aumentarne sensibilità e specificità.

ROMA (Risk of ovarian malignancy algorithm)

Nel 2009, Moore ha proposto un nuovo algoritmo: Risk of Ovarian Algoritmo di malignità (ROMA) [198]. Ha associato livelli di HE4 e CA125 in base allo stato della menopausa, definito dalla mancanza di mestruazioni o segni clinici di menopausa per 6 mesi.

I criteri sono i seguenti:

$$\begin{aligned} & \textit{Pre-menopausal Predictive Index(PI)} \\ & = -12.0 + 2.38 \times \text{LN(HE4)} + 0.0626 \times \text{LN(CA125)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \textit{Post-menopausal Predictive Index(PI)} \\ & = -8.09 + 1.04 \times \text{LN(HE4)} + 0.732 \times \text{LN(CA125)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \textit{Predicted Probability(PP)} \\ & = \exp(\text{PI})/[1 + \exp(\text{PI})] \times 100 \end{aligned}$$

Pertanto, il punteggio ROMA è espresso in un tasso percentuale.

Diversi livelli di cut-off sono proposti per le donne che non sono in menopausa e un altro per le donne che hanno raggiunto la menopausa.

Secondo il test immunologico usato per la misurazione di CA125 e HE4, i cut-off per classificare le pazienti in un gruppo a basso o ad alto rischio possono essere differenti [199]. Infatti, con il Roche Diagnostics Laboratory Metodo ECLIA, il livello di cut off per classificare i pazienti in a gruppo ad alto rischio era dell'11,4% per i pazienti in pre-menopausa, e il 29,9% per i pazienti in menopausa. Mentre con Abbott Metodo CMIA del Diagnostics Laboratory, il cut off i livelli erano rispettivamente 7,4 e 25,3% [200].

È quindi indispensabile sapere quale metodo viene utilizzato o conoscere i valori normali forniti dal laboratorio che esegue i test, per poter interpretare correttamente i risultati di questo algoritmo.

Una recente meta-analisi condotta su 7792 dati riportati in 11 studi conferma che il ROMA è efficace nella diagnosi differenziale delle masse pelviche; in particolare, sarebbe più sensibile e meno specifico del HE4, ma più specifico del CA125 usato da solo, per la predizione del rischio di carcinoma iniziale (“early disease”) [210].

In un'altra meta-analisi è stato riscontrato come l'algoritmo ROMA abbia meno specificità del dosaggio di HE4 (84% vs. 94%), ma una migliore specificità rispetto ai livelli sierici di CA125 (84% contro 78%) [201]. In questa meta-analisi, l'AUC per l'algoritmo ROMA era migliore di HE4 o CA125 (0,93, 0,82 e 0,88; rispettivamente).

Un'altra meta-analisi [202] ha evidenziato una sensibilità ROMA tra il 76 e l'86%, invece la specificità è stata valutata tra il 74 e il 95%, nonostante l'utilizzo di metodi diversi per misurare i markers.

La possibilità di includere le età nel modello ROMA potrebbe essere un prezioso contributo per la diagnosi cancro ovarico [203], poiché i livelli di HE4 aumentano regolarmente con l'età, senza alcuno picco improvviso in menopausa [204, 205].

L'uso dell'età nell'algoritmo dovrebbe correggere questo limite del marcatore.

Rischio modificato di algoritmo di malignità ovarica: CPH-I e ROMA P

Nel 2015, l'indice di Copenhagen (CPH-I) è stato segnalato come un nuovo indice di punteggio diagnostico nei tumori ovarici [206]. È stato utilizzato lo stesso metodo matematico dell'algoritmo ROMA con una probabilità chiamata PP.

La formula CPH-I è: $CPH-I = -14,0647 + 1,0649 \times \log_2(HE4) + 0,6050 \times \log_2(CA125) + 0,2672 \times \text{età} / 10$ con $PP = e^{(CPH-I)} / (1 + e^{(CPH-I)})$.

L'AUC ROC era comparabile secondo i diversi algoritmi: CPH-I, ROMA e RMI (0,96, 0,95 e 0,96, rispettivamente). Quindi, l'introduzione dell'età nell'algoritmo non ha migliorato la diagnostica di cancro ovarico.

Più recentemente, [207] è stato valutato un altro algoritmo ROMA modificato, chiamato ROMA P, che ha tenuto conto dell'età del paziente e non il suo stato di menopausa, secondo la formula:

$$ROMA P = \exp(PI) / (1 + \exp(PI)) \times 100$$

con la formula dell'indice predittivo PI:

$$PI = A + W(HE4) \times \ln(HE4) + W(CA125) \times \ln(CA125)$$

A e E (HE4) e W (CA125) sono i coefficienti variabili per ogni decennio, in funzione dell'età del paziente.

L'algoritmo ROMA P ha una specificità maggiore e un valore predittivo positivo più alto, ma la sensibilità e il valore predittivo negativo erano inferiori all'algoritmo ROMA non modificato. L'AUC ROC per questi due algoritmi è comparabile: 0,923 per l'algoritmo ROMA P vs 0,934 per l'algoritmo ROMA.

Modello di rischio ADNEX SCORE

Lo score ADNEX stima la probabilità percentuale che un tumore annessiale sia un tumore primitivo benigno, borderline o maligno o un tumore secondario.

Il modello è stato sviluppato da clinici e statistici del gruppo IOTA (International Ovarian Tumor Analysis) e si basa su dati clinici ed ecografici di quasi 6000 donne reclutate in 24 centri in 10 paesi (Italia, Belgio, Svezia, Repubblica Ceca, Polonia, Francia, Regno Unito, Cina, Spagna e Canada).

Il modello ADNEX è stato sviluppato e validato, utilizzando serie di dati IOTA fase 1-3, raccolti prospetticamente. Le pazienti sono state inviate ad eseguire un esame ecografico per una massa annessa nota o sospetta in uno dei centri partecipanti [132].

Le pazienti erano eleggibili per l'inclusione se presentavano almeno una massa annessiale che si riteneva non fosse una cisti fisiologica e se erano state selezionate per un intervento chirurgico dal clinico responsabile, secondo i protocolli locali.

Il modello è stato sviluppato su 3506 pazienti reclutati tra il 1999 e il 2007, validato temporaneamente su 2403 pazienti reclutati tra il 2009 e il 2012, e quindi aggiornato su tutti i 5909 pazienti nell'analisi finale.

Il modello ADNEX utilizza nove predittori. Esistono **tre variabili cliniche**, ovvero età (anni), livello sierico di CA-125 (U/mL) e tipo di centro (centro di riferimento oncologico vs altro) e **sei variabili ecografiche**, cioè diametro massimo della lesione (mm), la percentuale di tessuto solido (%), il numero di proiezioni papillari (0, 1, 2, 3, > 3), la presenza di più di 10 locule cisti (sì / no), ombre acustiche (sì / no) e presenza di ascite (sì / no).

La proporzione di tessuto solido è definita come il rapporto tra il diametro massimo della componente solida più grande e il diametro massimo della lesione.

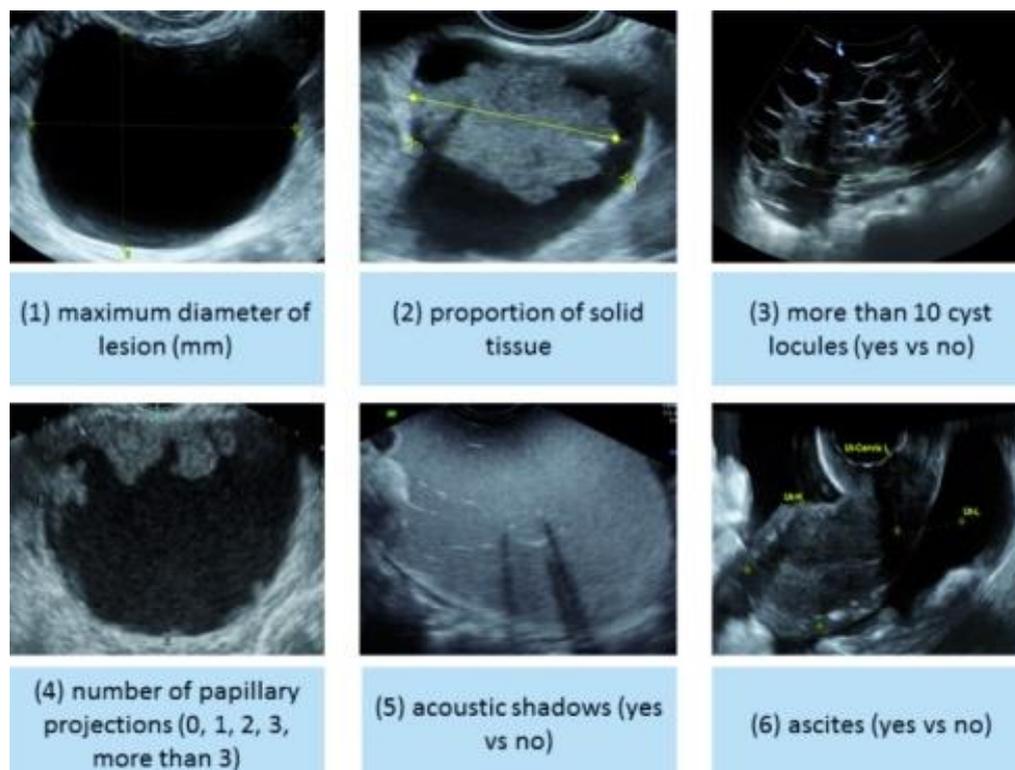


Figura 20. Caratteristiche ecografiche selezionate come predittori nel modello ADNEX [III].

Tutte le pazienti sono poi state sottoposte ad intervento chirurgico per la conferma anatomopatologica della lesione [108]. Dunque lo standard di riferimento per il modello ADNEX si basava sull'esame istopatologico del tessuto asportato e, per i tumori maligni, anche sulla stadiazione chirurgica, utilizzando la classificazione della Federazione internazionale di ginecologia e ostetricia (FIGO).

Nel database IOTA sono stati inseriti 21 gruppi istologici (11 gruppi benigni e 10 gruppi maligni) che sono stati ridotti a cinque per il modello ADNEX: tumori benigni, borderline, stadio I invasivo, stadio II-IV invasivo e carcinoma metastatico secondario.

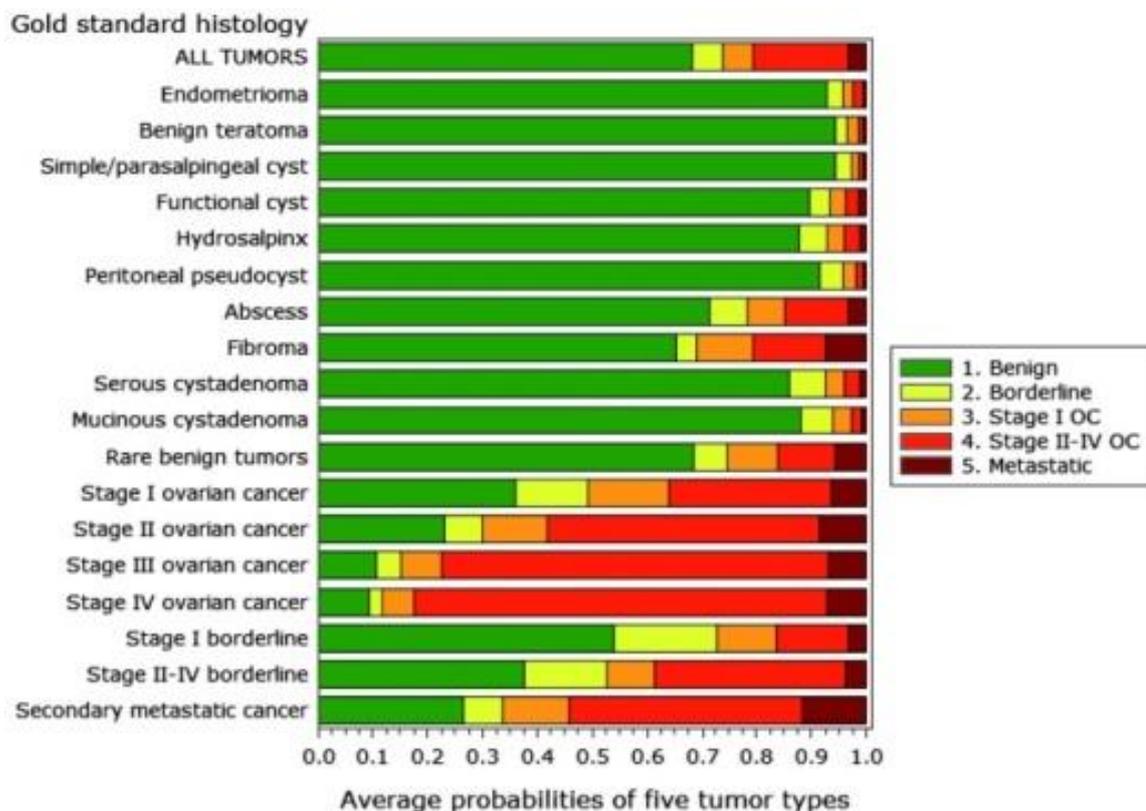


Figura 21. Classificazione del rischio delle diverse lesioni secondo l'ADNEX score [IV].

Notare che il modello si basa sui pazienti selezionate per chirurgia, con esame istopatologico come riferimento standard. Queste pazienti infatti avevano tutte una indicazione per intervento chirurgico. Ciò implica che la popolazione su cui il modello era sviluppato e convalidato presentava un rischio maggiore rispetto a una popolazione che include pazienti selezionate per la gestione “monitoraggio”.

Ciò significa che in futuro il cut-off, ovvero il vero rischio di essere maligni, dovrebbe essere ancora più basso [109-114].

Lo studio originale del modello ADNEX è stato validato internamente ed esternamente in sei studi successivi [109-114].

Quando si applica il modello ADNEX per una singola paziente, si ottengono le probabilità di un tumore benigno e di quattro tipi di tumori maligni.

Sommando questi ultimi quattro, si ottiene il rischio complessivo percentuale (stima) di malignità.

La stratificazione delle pazienti tra i cinque tipi di tumori epiteliali è più difficile da indagare, a causa della bassa prevalenza di alcuni istotipi e di possibili bias all'interno dello studio[115].

L'ADNEX score ha diverse implicazioni cliniche, fra cui il potenziale per migliorare le decisioni cliniche e di gestione terapeutica del paziente, quindi ridurre la morbilità e la mortalità associate alla patologia tumorale annessiale.

In particolare, il modello ADNEX può discriminare bene tra i tumori benigni, tra i tumori di stadio I e il cancro allo stadio avanzato. Inoltre, il modello ADNEX può discriminare bene tra cancro primario avanzato e metastatico secondario. Quest'ultimo risultato è in gran parte ottenuto attraverso l'uso del livello sierico di CA-125 come predittore. Sebbene il livello CA-125 abbia poco valore aggiunto rispetto alle informazioni sugli ultrasuoni, alcuni studi mostrano che il livello sierico di CA-125 è importante per la corretta discriminazione tra cancro in stadio II-IV e stadio I e cancro metastatico secondario [208].

Al momento di decidere il trattamento di una massa annessiale, la probabilità di un istotipo specifico di malignità è fondamentale, ma anche l'età, i sintomi, il desiderio di preservare la fertilità, le comorbilità e i rischi operativi sono fattori importanti.

Tuttavia, le previsioni ADNEX possono formare un solido e base oggettiva per una gestione ottimale delle pazienti e potrebbe essere incorporato nelle linee guida cliniche nazionali e internazionali.

Uso di ADNEX con o senza il marker CA-125

Sebbene il modello ADNEX includa il dosaggio sierico del CA-125, è possibile escludere questo parametro dall'algoritmo, ma questo ridurrà la discriminazione tra tumori invasivi di stadio II-IV e gli altri sottotipi.

I risultati di alcuni studi indicano che l'omissione di CA-125 ha un impatto limitato sulla discriminazione tra i tumori benigni e quelli maligni: l'AUC (area sotto la curva) era 0,943 con CA-125 incluso come predittore e 0,932 senza il livello di CA-125 come predittore (Van Calster et al., 2014).

L'aggiunta del livello sierico di CA125 si traduce in una superiore differenziazione tra borderline, stadio I invasivo, cancro metastatico invasivo e secondario in stadio II-IV (Van Calster et al., 2011, 2014).

Ricerca futura

Il lavoro futuro comporta l'aggiornamento continuo del modello ADNEX, utilizzando ei dati raccolti dal monitoraggio delle pazienti (fase 5).

Infine, il modello ADNEX potrebbe essere ottimizzato ed utilizzato come test di secondo livello, se lo screening per il cancro ovarico venisse introdotto nella pratica clinica.

Bisogna sottolineare come l'ADNEX score non possa sostituire la formazione e l'esperienza dello specialista e di un approccio diagnostico multidisciplinare.

I parametri ecografici utilizzati nell'ADNEX score si basano sui termini e le definizioni IOTA nella refertazione ecografica [116].

Modelli ibridi a confronto

Uno studio multicentrico di coorte ha confrontato alcuni modelli predittivi di malignità [209].

Table 1 Summary of diagnostic prediction models for ovarian malignancy			
Model	Type	Predictor variables	Comments
RMI	Score	CA125, menopausal status, ultrasound score based on five binary ultrasound variables (multilocular cyst, solid areas, bilateral lesions, ascites, evidence of metastases on abdominal ultrasound)	No risk estimates; based on clinical, ultrasound and CA125 information; possible to calculate result without computer; online calculators available
Simple rules	Classification as benign, inconclusive, malignant	Classification is based on 10 binary features: five benign features (unilocular cyst, smooth multilocular cyst with largest diameter <100 mm, acoustic shadows, presence of solid areas with largest diameter <7 mm, no vascularisation on colour Doppler) and five malignant features (irregular solid tumour, irregular multilocular solid tumour with largest diameter ≥ 100 mm, at least four papillary projections, very strong vascularisation on colour Doppler)	No risk estimates; only classification into three groups; based on dichotomised ultrasound features; easy to use without computer; available as smartphone app
LR2	Risk model based on logistic regression	Age (years), presence of acoustic shadows, presence of ascites, presence of papillary projections with blood flow, maximum diameter of largest solid component (mm), Irregular internal cyst walls	Risk estimates; based on clinical and ultrasound information; requires computer; available as smartphone app
SRRisk	Risk model based on logistic regression	The 10 binary features used in the simple rules, type of centre (oncology centre v other)	Risk estimates; based on dichotomised ultrasound features; developed to add risk estimates to simple rules; risk estimate can be derived by using a simple table for 97% of patients
ADNEX without CA125	Risk model based on multinomial logistic regression	Age (years), maximum diameter of lesion (mm), maximum diameter of largest solid component (mm), number of papillary projections (ordinal), presence of acoustic shadows, presence of ascites, presence of more than 10 cyst locules, and type of centre (oncology centre v other)	Risk estimates; the risk of malignancy is subdivided into the risk of four subtypes of malignancy; based on clinical and ultrasound information; subjective predictors were avoided a priori (eg, colour score or irregular cyst walls); requires computer; available as app and as online calculator; available in ultrasound machines from some manufacturers
ADNEX with CA125	Risk model based on multinomial logistic regression	The same variables as in ADNEX without CA125 but with serum CA125 (IU/L) added	Based on clinical, ultrasound, and CA125 information; same comments as for ADNEX without CA125

ADNEX=assessment of different neoplasias in the adnexa; LR2=logistic regression model 2; RMI=risk of malignancy index; SRRisk=simple rules risk model.

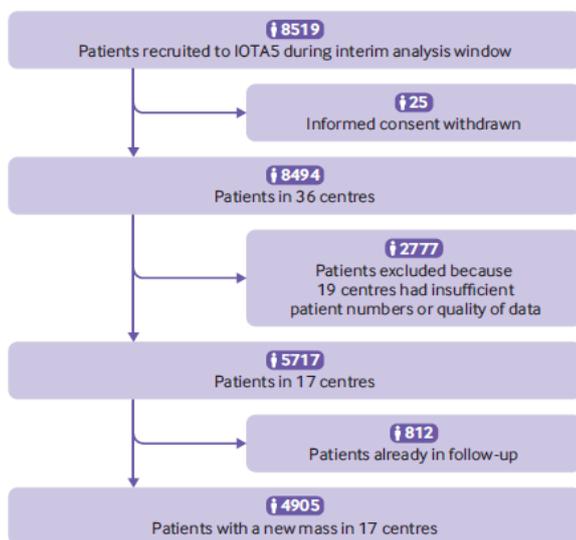
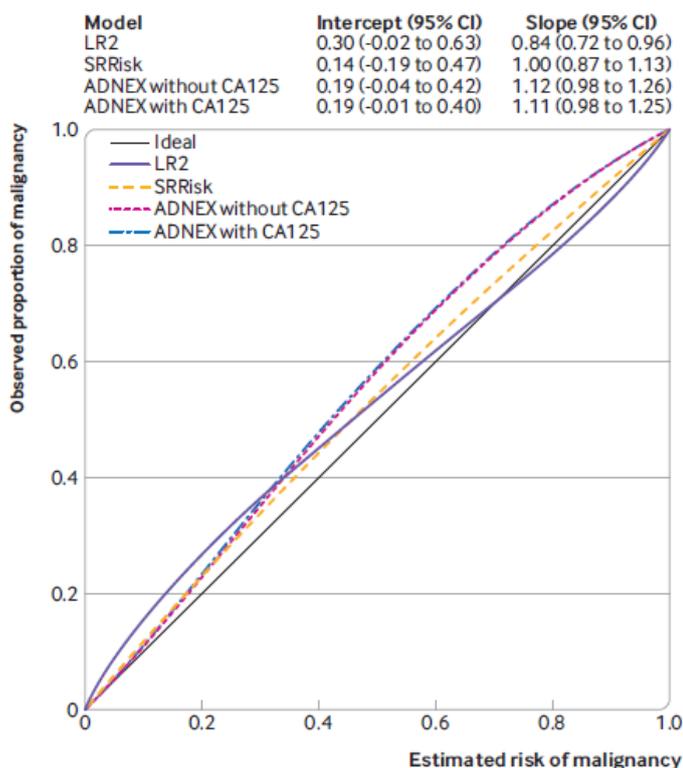


Fig 1 | Study flowchart. Criteria for excluding centres were fewer than 50 patients recruited, non-consecutive recruitment, or insufficient quality of follow-up data (appendix 3). Eleven of 20 oncology centres and 8 of 16 non-oncology centres were excluded. Supplementary table 1 gives details of excluded centres. IOTAS=International Ovarian Tumour Analysis phase 5 study

L'analisi ha incluso 17 centri che hanno deciso i criteri di inclusione per i dati chirurgici e di follow-up (5717 di tutti gli 8519 pazienti). 812 pazienti (14%) erano già in fase di follow-up durante il reclutamento dello studio, quindi sono stati inclusi 4905 pazienti nell'analisi statistica.

L'età media dei 4905 pazienti era di 48 anni (intervallo

interquartile 36-62, intervallo 18-98) e 2151 i pazienti (44%) erano in postmenopausa.



Il risultato istologico ha evidenziato che 3441 (70%) pazienti avevano una patologia benigna e 978 (20%) una neoplasia ovarica maligna.

I risultati incerti (486, 10%) erano più spesso spiegati da informazioni limitate nel follow-up. L'area sotto la curva era più alta per ADNEX con CA125 (0,94, 95% intervallo di confidenza da 0,92 a 0,96), ADNEX senza CA125 (da 0,94, da 0,91 a 0,95) e SRRisk (0,94, 0,91 a 0,95). Il più basso per RMI (0,89, da 0,85 a 0,92).

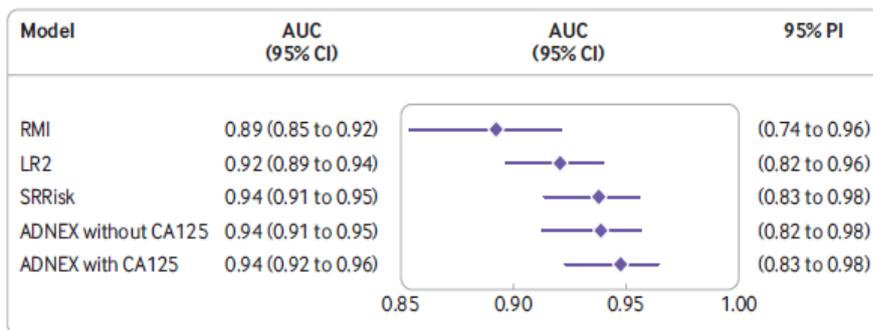


Fig 2 | Summary forest plot with overall area under the receiver operating characteristic curve (AUC) for each model. ADNEX=assessment of different neoplasias in the adnexa; LR2=logistic regression model 2; PI=prediction interval; RMI=risk of malignancy index; SRRisk=simple rules risk model

La predittività variava tra i centri per tutti i modelli, tuttavia i modelli ADNEX e SRRisk erano i più accurati. La predittività dei rischi stimati per i sottotipi di tumore

erano buoni per ADNEX indipendentemente da se CA125 fosse stato incluso o meno come predittore.

L'utilità clinica complessiva (beneficio netto) è stata più alta nell'uso dei modelli ADNEX e SRRisk e la più bassa è legata all'uso di RMI [209].

In conclusione, lo studio ha rilevato che i modelli ADNEX e SRRisk sono i modelli predittivi migliori per distinguere tra tumori benigni e masse maligne.

Tra le considerazioni cliniche bisogna precisare che l'ADNEX score utilizza solo variabili cliniche ed ecografiche, dunque meno soggette ad interpretazione del personale medico, a differenza del SRRisk.

In secondo luogo, ADNEX stima la probabilità dei cinque diversi tipi di tumore.

Queste informazioni potrebbero essere utili per decidere quali indagini eseguire (le indagini sarebbero diverse se si sospetta una metastasi piuttosto che un cancro ovarico primario), quale strategia chirurgica scegliere (preservare la fertilità o eseguire un intervento radicale) e quanto dovrebbe essere il tempo di attesa prima della chirurgia. La stima della probabilità dei diversi tipi di tumore può anche aiutare quando si organizzano la sala operatoria, la durata dell'intervento e il follow up.

Gli altri modelli non forniscono l'informazione probabilistica stratificata per sottotipo, dunque in questo l'ADNEX score è superiore.

L'ADNEX Score senza valutazione del CA125 può essere utilizzato come primo passo per distinguere tra tumori benigni e maligni. Se l'ADNEX senza CA125 stima un alto rischio di malignità, bisognerà eseguire un prelievo di sangue con dosaggio del marcatore CA125, infatti l'inclusione di CA125 in ADNEX migliora la discriminazione tra i tipi di tumore maligno, ma ha scarso effetto sulla discriminazione tra masse benigne e maligne.

Uno studio prospettico multicentrico, eseguito su 638 donne (445 tumori benigni e 135 tumori maligni) di età compresa fra i 18 e gli 87 anni, ha ipotizzato di poter migliorare sensibilità e specificità diagnostiche e ridurre i falsi positivi combinando (a) l'indice del rischio di malignità (RMI) con il valore sierico di HE4, (b) algoritmo ROMA con il punteggio ecografico transvaginale o (c) aggiungendo HE4 e CA125 in un semplice algoritmo [212].

I pazienti inclusi sono stati valutati con ecografia transvaginale (TVU) sia da ecografisti altamente specializzati. I campioni asportati chirurgicamente sono stati esaminati da un esperto patologo per malattie ginecologiche. I tumori sono stati classificati in istopatologia, grado e stage (I – V) secondo The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) 201 standard e classificati in tipo I e di tipo II secondo la classificazione di Kurman.

Sono stati utilizzati come valori di cut-off per il CA125 > 35 U / mL

Per l'HE4 in donne in fase pre-menopausale > 70 pmol / L e in donne in età post-menopausale > 140 pmol / L. I casi benigni sopra il cut-o sono stati definiti come falsi positivi e casi maligni al di sotto del limite di soglia come falsi negativi.

I modelli sono stati confrontati con i rispettivi modelli di base (RMI, ROMA, CA125) per valutarne la bontà di adattamento con il test del rapporto di verosimiglianza. Per valutare la performance clinica, sensibilità (SN), specificità (SP), e l'area sotto la curva (AUC) sono state calcolate per i modelli, così come per RMI, ROMA e CA125, utilizzando i cut-off stabiliti. La sensibilità raggiunta nei modelli originali, coi nuovi cut-off, è denominata sensibilità target. La sensibilità target è stata quindi utilizzata per trovare dei cut-off clinicamente rilevanti per i modelli di regressione logistica (GOT 1–3). Inoltre, la sensibilità per i modelli è stata calcolata con una specificità del 75% [212].

1. GOT1: Indice Gothenburg: RMI + HE4

E' stato utilizzato l'algoritmo diagnostico RMI, modificato con l'aggiunta del dosaggio sierico di HE4.

La sensibilità di RMI da solo era del 92% e la specificità del 84%. Le sensibilità di RMI e GOT-1 sono state valutate con una specificità fissa al 75%, dove la sensibilità era rispettivamente del 97% e del 96%.

L'AUC per entrambi gli algoritmi era 0,95. Con GOT-1, i falsi positivi sono diminuiti da 70 a 60 donne di cui 8 tumori hanno dimostrato di essere endometrioma (Tabella sottostante) [212].

2. GOT2: CA125 + HE4

Il CA125 da solo è stato confrontato con un algoritmo di marcatori combinati CA125 + HE4 (Tabella sottostante). Il biomarcatore CA125 è stato utilizzato per differenziare tra tumori ovarici benigni e maligni con cut-off > 35, dando sensibilità 93% e specificità 68%. CA125 è stato quindi combinato con HE4 utilizzando una regressione logistica e il modello è stato semplificato nella seguente formula:

$$\text{GOT-2} = 0.59 \cdot \log_2(\text{CA125}) + 1.31 \cdot \log_2(\text{HE4})$$

Sia CA125 che HE4 erano significativi con $p < 0,001$, con un odds ratio rispettivamente di 1,80 e 3,72.

I test hanno indicato un adattamento significativamente migliore rispetto al modello di base con solo CA125 ($p < 0,001$). Utilizzando il cut-off di 33, la specificità è aumentata al 79%, un miglioramento sostanziale rispetto al solo CA125 (68%).

Utilizzando invece una specificità del 75%, la sensibilità era 88% e 93% rispettivamente per CA125 e GOT-2.

L'AUC è aumentata da 0,92 a 0,94 (Tabella sottostante).

Usando solo il CA125, i falsi positivi erano in totale 137 (31%). I principali tipi di istologia coinvolti nei falsi positivi erano endometrioma ($n = 48$), cisti semplici ($n = 27$), adenoma sieroso ($n = 20$) e teratoma ($n = 17$). Usando l'algoritmo GOT2, i falsi positivi sono stati ridotti a 86 (19%) donne. Ancora una volta, l'endometrioma ($n = 22$) è l'istologia stata classificata più correttamente [212].

3. GOT3: Algoritmo ROMA + Ecografia transvaginale

L'algoritmo ROMA è usato per distinguere tumori ovarici benigni e maligni in epoca pre-chirurgica. In donne in età premenopausale e postmenopausale, i due gruppi presentavano una sensibilità e specificità rispettivamente dell'87% / 81% e del 93% / 77% (Tabella sottostante) [212].

ROMA è stata abbinata a un punteggio TVU in un modello di regressione logistica, che è stato utilizzato per creare la seguente formula:

$$\text{GOT-3} = 7.02 _ \text{ROMA} + 0.68 _ \text{TVU}$$

I cut-off clinicamente rilevanti per GOT-3 sono stati trovati impostando la sensibilità all'87% (Pre-M) e al 91% (Post-M), dunque rispettivamente di 113 e 344. Ciò ha portato a una specificità dell'88% per le donne pre-M e specificità dell'80% per le donne Post-M, entrambe superiori ai valori corrispondenti per la sola ROMA (81% e 77%).

Quando GOT-3 è stato confrontato con ROMA con una specificità del 75%, la sensibilità è aumentata dall'87% al 91% (Pre-M) e dal 93% al 94% (Post-M).

Il valore AUC ha mostrato un piccolo miglioramento in Pre-M (aumentato da 0,93 a 0,94) ma non in Post-M (0,94 per entrambi. Tabella sottostante) [212].

Table 2. Performance of RMI, CA125, ROMA, and new models GOT-1 (RMI + HE4), GOT-2 (CA125 + HE4) and GOT-3 (ROMA + TVU), comparing benign disease with EOC.

Group (n)	Model	p-Value	ROC		SN % (75% SP)	SP % (Target SN)
			AUC	95% CI		
Benign (445) vs. EOC (135)	RMI3 (cut-off > 200)	<0.001	0.95	0.93-0.97	97	84
	GOT 1 (RMI + HE4)		0.95	0.93-0.98	96	86
Benign (445) vs. EOC (135)	CA125 (cut-off > 35 U/mL)	<0.001	0.92	0.89-0.94	88	68
	GOT 2 (CA125 + HE4)		0.94	0.92-0.97	93	79
Benign (230) vs. EOC (23) Pre-M	ROMA (cut-off ≥ 11.4%)	<0.001	0.93	0.86-1.00	87	81
	GOT 3 (ROMA + TVU)		0.94	0.87-1.00	91	88
Benign (215) vs. EOC (112) Post-M	ROMA (cut-off ≥ 29.9%)	<0.001	0.94	0.91-0.96	93	77
	GOT 3 (ROMA + TVU)		0.94	0.91-0.96	94	80

p-values calculated with the likelihood ratio test, comparing the regression models to their baseline models. p-value < 0.05 was considered statistically significant. Specificity achieved calculated using target sensitivity (Target SN). Target SN GOT-1 = 92%, target SN GOT-2 = 93%, and target SN GOT-3 = 87%/91% (Pre-M/Post-M). AUC = area under the curve; GOT 1 = Gothenburg index 1; GOT 2 = Gothenburg index 2; GOT 3 = Gothenburg index 3; Pre-M = premenopausal; Post-M = postmenopausal; RMI = Risk of malignancy index; ROMA = Risk of malignancy algorithm; ROC = receiver operating characteristics; SN = sensitivity; SP = specificity; TVU = Transvaginal ultrasound.

Nelle analisi in sottogruppi di tumori ovarico in stadio precoce (I + II) e tardivo (III + IV), GOT-1 ha migliorato la specificità dall'84% all'86% nei tumori in stadio iniziale e al 90% nei tumori in stadio avanzato (Tabella sottostante).

GOT-2 presenta una specificità migliorata dal 68% al 74% nei tumori in stadio iniziale e all'81% nei tumori in stadio avanzato. L'AUC dello stadio iniziale è migliorato da 0,84 a 0,88 e in quello avanzato da 0,96 a 0,98 (Tabella sottostante) [212].

Table 3. Subgroup analyses for validation of performance of RMI, CA125, GOT-1 (RMI + HE4), and GOT-2 (CA125 + HE4) comparing benign disease with EOC in early-and late stage tumors.

Group (n)	Model	FIGO I + II				FIGO III + IV			
		ROC		SN% (75% SP)	SP% (Target SN)	ROC		SN% (75% SP)	SP% (Target SN)
		AUC	95% CI			AUC	95% CI		
Benign (445) vs. EOC FIGO I + II (52)/FIGO III + IV (83)	RMI (cut-off < 200)	0.90	0.85-0.94	94	84	0.98	0.97-0.99	99	84
	GOT-1 (RMI + HE4)	0.90	0.86-0.95	92	86	0.98	0.97-1.00	99	90
Benign (445) vs. EOC FIGO I + II (52)/FIGO III + IV (83)	CA125 (cut-off > 35 U/mL)	0.84	0.79-0.90	75	68	0.96	0.94-0.98	96	68
	GOT-2 (CA125 + HE4)	0.88	0.82-0.93	85	74	0.98	0.96-1.00	99	81

Specificity was calculated using target SN. Target SN = target sensitivity of RMI at cut-off >200 was 83% (early stage) and 98% (late stage); target sensitivity of CA125 at cut-off >35 was 85% (early stage) and 98% (late stage). AUC = area under the curve; EOC = epithelial ovarian cancer; FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics; FIGO I+II = Early stage tumors; FIGO III+IV = EOC late stage tumors; GOT-1 = Gothenburg index 1; GOT-2 = Gothenburg index 2; Pre-M = premenopausal; Post-M = postmenopausal; RMI = risk of malignancy index; ROC = receiver operating characteristics; SN = sensitivity; SP = specificity.

Nelle analisi dei sottogruppi di tumori ovarici di tipo I e di tipo II, GOT-1 ha migliorato la specificità dall'84% all'85% nei tumori di tipo I e all'89% nei tumori di tipo II (Tabella sottostante). GOT-2 ha migliorato la specificità dal 68% all'80% nel tipo I e al 71% nei tumori di tipo II.

L'AUC dell'algoritmo GOT-2 è migliorata nei tumori di tipo I da 0,85 a 0,87 e di tipo II tumori da 0,94 a 0,96 (Tabella sottostante). Nelle analisi del sottogruppo di tumore di tipo borderline, GOT-3 ha migliorato la specificità nel gruppo in premenopausa dal 60% al 70%. Nessuna differenza è stata invece osservata nel gruppo in postmenopausa. Nessun miglioramento è stato osservato per GOT-1 e GOT-2. Nel sottogruppo analisi delle metastasi, GOT-1 ha migliorato la specificità dal 44% al 59%. Non sono stati osservati altri miglioramenti [212].

Table 4. Subgroup analyses for validation of performance of RMI, CA125, GOT-1 (RMI + HE4), and GOT-2 (CA125 + HE4) comparing benign disease with EOC in dualistic model Type I and Type II tumors.

Group (n)	Model	Type I				Type II			
		ROC		SN% (75% SP)	SP% (Target SN)	ROC		SN% (75% SP)	SP% (Target SN)
		AUC	95% CI			AUC	95% CI		
Benign (445) vs. Type I (36)/Type II (99)	RMI (cut-off <200)	0.89	0.84-0.94	94	84	0.97	0.95-0.98	98	84
	GOT-1 (RMI + HE4)	0.90	0.84-0.95	94	85	0.97	0.95-0.99	97	89
Benign (445) vs. Type I (36)/Type II (99)	CA125 (cut-off >35 U/mL)	0.85	0.79-0.91	75	68	0.94	0.91-0.97	93	68
	GOT-2 (CA125 + HE4)	0.87	0.82-0.93	83	80	0.96	0.94-0.99	96	71

Specificity was calculated using target SN. Target SN = target sensitivity of RMI at cut-off >200 was 83% (type I) and 95% (type II); target sensitivity of CA125 at cut-off >35 was 83% (type I) and 96% (type II). AUC = area under the curve; EOC = epithelial ovarian cancer; GOT-1 = Gothenburg index 1; GOT-2 = Gothenburg index 2; Pre-M = premenopausal; Post-M = postmenopausal; ROC = receiver operating characteristics; SN = sensitivity; SP = specificity; Type I = low-grade tumors; Type II = high-grade tumors.

Modello ibrido con ecografia, dati clinici, CA125, D-dimero e conta piastrinica

Uno studio osservazionale prospettico monocentrico ha analizzato pazienti con massa ovarica sospetta. I dati raccolti sono: ecografia, dati clinici, dosaggio del CA125, i livelli di D-dimero (DD) e la conta piastrinica [213].

Gli esami istologici sono serviti come standard di riferimento.

Tutte le pazienti con tumori maligni attivi hanno dimostrato un certo grado di attivazione della coagulazione, compresa l'attivazione della trombina e fibrina.

Gli elevati livelli plasmatici di D-dimero (DD) sono stati considerati un fattore prognostico di scarsa sopravvivenza, indipendente dalla formazione di tromboemoli, e potenziali biomarcatori per la diagnosi preoperatori di masse ovariche benigne rispetto a quelle maligne.

Uno degli obiettivi dello studio è stato definire e convalidare un modello predittivo per il calcolo preoperatorio del rischio di neoplasia ovarica in un centro onco-ginecologico.

Tutte le pazienti (307) sono state sottoposte prima dell'intervento chirurgico a ecografia transvaginale e transaddominale, secondo il protocollo Doppler.

Quando i pazienti mostravano più masse annessiali, l'analisi statistica includeva solo la massa con morfologia di dimensioni maggiori.

Il protocollo ecografico ha fornito dati su: il più grande diametro del tumore, località (multiloculare se ≥ 2 loculi, sì = 1, no = 0), aree piene (sì = 1, se presente papillazione o un tumore solido come descritto altrove [26], no = 0, se nessuno), la presenza di ascite (raccolta di liquido nel cavo di Douglas, sì = 1, no = 0), metastasi pelviche o addominali (qualsiasi rilevato con gli ultrasuoni, ad esempio carcinomatosi, sì = 1, no = 0); dati sulla vascolarizzazione intratumorale (CS) con una terminologia standardizzata (1 = no, 2 = minimo, 3 moderato, 4 = flusso sanguigno molto forte) e quantitativo valutazioni dell'indice di pulsatilità (PI), indice di resistenza (RI) e velocità sistolica di picco (PSV), nelle aree con massima velocità del flusso sanguigno.

I dati preoperatori includevano l'età del paziente, stato della menopausa (la postmenopausa era definita come: più di 1 anno di amenorrea senza una diagnosi di qualsiasi malattia endocrina che potrebbe influenzare i cicli mestruali; ricevere una terapia ormonale sostitutiva per la menopausa sintomi; o ≥ 50 anni di età, con un precedente isterectomia) e dati di laboratorio: CA-125, conta piastrinica (PLT) e livello di DD plasmatico.

Per i dati di laboratorio e l'età non sono stati utilizzati valori soglia di cut-off. Gli esami del sangue erano eseguiti 1–14 giorni prima dell'intervento.

(Criteri di esclusione erano: una precedente ovariectomia bilaterale, gravidanza, rifiuto di sottoporsi all'ecografia).

290 pazienti sono state inserite nell'analisi finale: 151 avevano tumori maligni (52%) e 139 aveva lesioni benigne. La neoplasia più comune era EOC (72,8%), seguito da cancro metastatico all'ovaio (14,5%), tumori epiteliali borderline (6,6%), neoplasie non epiteliali (4,6%) e altri.

Il cancro ovarico, rispetto alla malattia benigna, era associato all'età avanzata della paziente, alla menopausa/postmenopausa e ad alcune caratteristiche ecografiche: la presenza di aree solide, lesioni bilaterali, multilocularità, CS ≥ 2 , presenza di ascite e segni di metastasi.

I pazienti con tumori maligni presentavano valori medi di CA-125, plasma DD e PLT più elevati rispetto a pazienti con lesioni benigne [213].

Variable	All (n = 290)	Benign (n = 139)	Malignant (n = 151)	Mann-Whitney U test - p value
Age, years, median (Q1, Q3)	53 (41, 63)	45 (35, 55)	58 (49, 66)	p < 0.001
Postmenopausal, n(%)	158 (54.5)	48 (34.5)	110 (72.9)	p < 0.001
Ultrasound variables				
Multilocular cyst, n(%)	131 (45.2)	46 (33.1)	85 (56.3)	p < 0.001
Solid areas, n(%)	199 (68.6)	52 (37.4)	147 (97.4)	p < 0.001
Bilateral lesions, n(%)	64 (22.1)	3 (2.26)	61 (40.4)	p < 0.001
Ascites, n(%)	57 (19.7)	3 (2.2)	54 (35.8)	p < 0.001
Metastases in abdominal cavity, n(%)	57 (19.7)	1 (0.7)	56 (37.1)	p < 0.001
Largest diameter of tumor, mm, median (Q1, Q3)	67.0 (47.0, 122.8)	60.0 (50.0, 97.5)	84.0 (42.5, 140.0)	p = 0.15
Color Score	-	-	-	p < 0.001
Color Score 1, n(%)	178 (61.4)	117 (84.2)	61 (40.4)	
Color Score 2, n(%)	84 (29.0)	22 (15.8)	62 (41.1)	
Color Score 3, n(%)	25 (8.6)	0 (0.0)	25 (16.6)	
Color Score 4, n(%)	3 (1.0)	0 (0.0)	3 (2.0)	
RI, PI, PSV not detected, n(%)	212 (73.1)	121 (87.1)	91 (60.3)	p < 0.001
detected RI, median (range)	0.46 (0-0.73)	0.45 (0-0.73)	0.47 (0.20-0.70)	p = 0.506
detected PI, median (range)	0.70 (0-2.45)	0.73 (0-1.65)	0.66 (0.28-2.45)	p = 0.280
detected PSV, median (range)	14.3 (4.69-56.30)	14.40 (4.69-23.37)	14.14 (5.00-56.30)	p = 0.565
Laboratory variables				
CA125, U/ml, median (Q1, Q3)	75.5 (24.0, 438.0)	29.0 (15.0, 65.5)	291.0 (77.5, 897.0)	p < 0.001
PLT, G/l, median (Q1, Q3)	287.5 (239.0, 365.0)	262.0 (231.0, 302.5)	322.0 (252.0, 424.5)	p < 0.001
D-dimer, µg/ml, median (Q1, Q3)	0.779 (0.337, 3.039)	0.354 (0.277, 0.534)	2.837 (1.207, 6.064)	p < 0.001

CA125 cancer antigen 125, PLT platelet count, Q quartile

Stage (FIGO 2014)	N = 129	Plasma D-dimer mean level [µg/ml]
I	26	1.816
II	18	2.490
IIIA1(ii)	5	1.445
IIIB	11	4.070
IIIC	63	7.609
IV	6	7.287

BOI borderline malignant ovarian tumor, FIGO International Federation of Gynecology and Obstetrics, One-way anova test for comparison of mean values in groups (p < 0.05)

con epitelio maligno primario (2.870, intervallo, 0,138-28,618 µg / ml) e tumori metastatici (2.828, range, 0,509-14,567 µg / ml) [213].

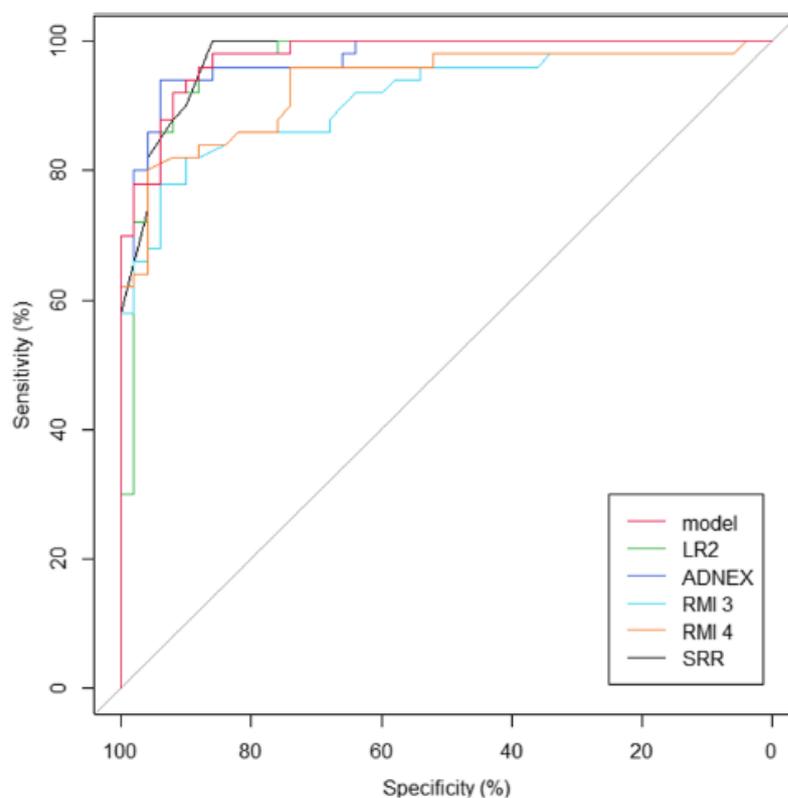
Dunque è stato sviluppato un modello con due semplici predittori di ultrasuoni (aree solide e vascolarizzazione) e il livello plasmatico DD per distinguere le masse annessiali benigne e maligne in sede pre-chirurgica.

Tra i pazienti con tumori maligni, maggiore è lo stadio, maggiore è il livello di DD plasmatico (p < 0.05). Non c'erano differenze statisticamente significative nei livelli di DD plasmatico tra pazienti

Le prestazioni di questo modello sono paragonabili ad altri, altamente efficaci, sebbene siano modelli più complessi. Inoltre, questo modello predittivo potrebbe essere utilizzato per completare una valutazione soggettiva.

Model / Method	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	PPV (95% CI)	NPV (95% CI)	AUC
ADNEX	88.0% (76.2–94.4)	94.0% (83.8–97.9)	93.6% (82.8–97.8)	88.7% (77.4–94.7)	0.972 (0.946–0.999)
LR2	72.0% (58.3–82.5)	98.0% (89.5–99.9)	97.3% (86.2–99.9)	77.8% (66.1–86.3)	0.969 (0.936–1.0)
RMI3	82.0% (69.2–90.2)	88.0% (76.2–94.4)	87.2% (74.8–94.0)	83.0% (70.8–90.8)	0.912 (0.854–0.970)
RMI4	84.0% (71.5–91.7)	86.0% (73.8–93.0)	85.7% (73.3–92.9)	84.3% (72.0–91.8)	0.932 (0.882–0.983)
SRrisk	82% (69.2–90.2)	96.0% (86.5–98.9)	95.3% (84.5–98.7)	84.2% (72.6–91.5)	0.976 (0.953–0.999)
SUA	92.0% (81.2–96.8)	94.0% (83.8–97.9)	93.9% (83.5–97.9)	92.2% (81.5–96.9)	0.930 (0.880–0.981)
Our model	96.0% (86.5–98.9)	86.0% (73.8–93.0)	87.3% (76.0–93.7)	95.6% (85.2–98.8)	0.977 (0.955–0.999)

95% CI 95% confidence intervals, ADNEX, LR2, RMI3, RMI4, SRrisk abbreviations for different models (details in the text), AUC area under the curve, NPV negative predictive value, PPV positive predictive value, RMI risk of malignancy index (model), SUA subjective ultrasound assessment



Razionale

Sebbene l'ecografia tranvaginale con i criteri IOTA abbia dimostrato buona sensibilità e specificità, non è in grado di differenziare i diversi istotipi e perde in accuratezza in alcune categorie diagnostiche come i tumori borderline. Pertanto, scopo dello studio è quello di utilizzare i biomarcatori esistenti per tentare di fornire una **caratterizzazione istologica preoperatoria della lesione, oltre che la predizione di malignità.**

La caratterizzazione istologica, così come l'individuazione preoperatoria della categoria borderline, son fattori determinanti per la pianificazione terapeutica, nonché elementi essenziali del counselling preoperatorio.

Metodi

L'analisi retrospettiva svolta ha incluso le pazienti con massa ovarica sospetta, che hanno avuto accesso all'ambulatorio CAS Pelvi dell'ospedale Sant'Anna di Torino, fra il 2016 e il 2020.

➤ Criteri di inclusione:

- pazienti sottoposte a dosaggio di tutti 4 i marcatori: CA12, HE4, CA19.9, CEA
- pazienti sottoposte a ecografia transvaginale secondo criteri IOTA
- pazienti operate con istologico disponibile
- cisti ovariche non germinali né localizzazioni metastatiche.

➤ I marcatori sono stati quindi raggruppati in 4 differenti cluster:

- contemporanea presenza di HE4 e CA125
- presenza di HE4 e/o CA125 associato/i a CA19.9 o CEA
- un singolo marcatore
- nessun marcatore

➤ Gli istologici sono stati suddivisi in tre classi:

- classe 1: istotipi tipo I secondo Kurman
- classe 2: istotipi tipo II secondo Kurman
- classe 3: altri istotipi

Analisi statistica

Le analisi statistiche sono state effettuate tramite l'utilizzo di Stata 15.0 statistical software (StataCorp, College Station, TX, U.S.A.). Le differenze nella distribuzione delle variabili valutate in base ai parametri clinico-patologici sono state analizzate utilizzando "tests" parametrici e non parametrici (t test di Student, test del chi quadro di Pearson, test dei ranghi di Wilcoxon).

Sono state condotte analisi logistiche binarie in univariata e multivariata, selezionando come variabile dipendente la diagnosi istologica di k ovarico e la diagnosi ecografica di k ovarico. Pertanto è stata valutata l'associazione tra le diverse variabili e i differenti end-point calcolando gli odds ratio (OR) e gli intervalli di confidenza al 95% (IC). Il test di Hosmer–Lemeshow è stato utilizzato per determinare l'adeguatezza del modello utilizzato.

Per la valutazione della concordanza fra la diagnosi istologica e quella ecografica è stata calcolata la "concordanza complessiva", cioè la somma dei veri positivi e dei veri negativi rapportati al numero totale di casi calcolando l'indice "Kappa" di Cohen per eliminare la componente casuale. L'interpretazione dei valori Kappa si esegue secondo le seguenti linee-guida: $k < 0.2$ = concordanza scarsa; k compreso fra 0.2 e 0.4 = concordanza modesta; fra 0.41 e 0.61 = moderata; fra 0.61 e 0.80 = buona; > 0.80 = eccellente.

Sono state condotte analisi logistiche multinomiali in univariata e multivariata selezionando come variabile dipendente i tre gruppi di diagnosi maligno, borderline e benigno sia per la diagnosi istologica che per quella ecografica.

Le analisi sono state condotte con un intervallo di confidenza (IC) al 95% e un valore di $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo.

Risultati

231 pazienti sono state incluse nell'analisi conclusiva.

Accuratezza dell'ecografia transvaginale (concordanza con la diagnosi istologica)

E' stata studiata la relazione fra le diagnosi ecografiche e le diagnosi istologiche. E' stato osservato come gli ecografisti riescano ad eseguire diagnosi piuttosto accurate di tumori di tipo I e II e benigni, ma è più complicato riuscire a farlo quando la lesione è borderline.

Dalle analisi si osserva che, su un totale di 108 ecografie refertate come tumore di tipo I o II, l'istologia ha confermato che 88 lo fossero realmente (82%); le restanti 20 diagnosi sono così ripartite: 7 borderline (6,5%) e 13 benigni (12%).

Eco	K tipo I o 2	44	44	7	13	Non applicabile	108
	Borderline	1	2	12	7		22
	Benigno	0	0	14	82		96

Per quanto concerne i tumori borderline, alla refertazione ecografica ne sono stati individuati 22, di cui solo 12 sono stati confermati alla diagnosi istologica (55%). I restanti 10 sono stati classificati istologicamente come tumori benigni (7= 32%), tumore tipo II (2= 10%), tumore di tipo I (1= 4,5%).

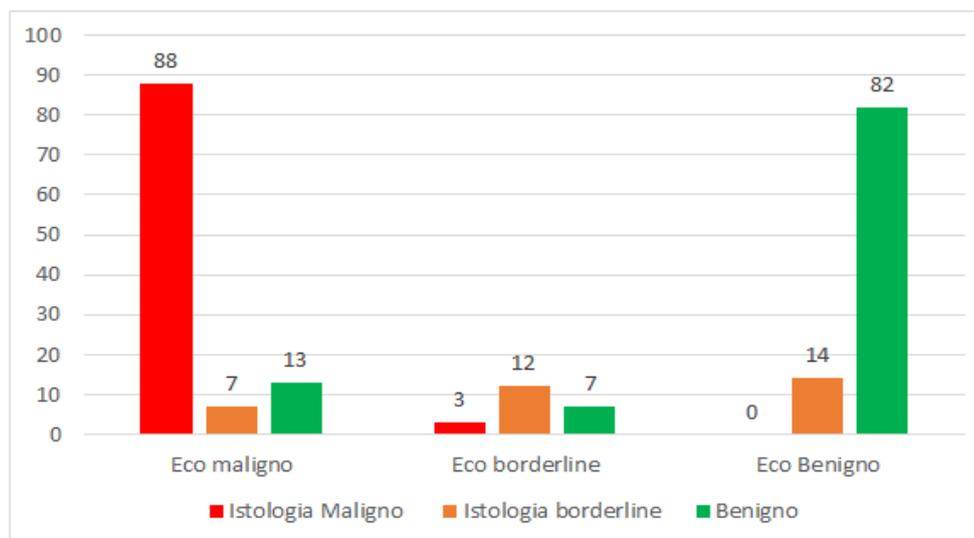
Le ecografie che refertano masse benigne sono 96. L'istologia ha confermato che 82 sono realmente tumori benigni (85,5%), ma 14 sono risultati borderline (14,5%). Dunque si osserva come, alla sola ecografia transvaginale, non si abbiano sufficienti sensibilità e specificità per distinguere con certezza un tumore benigno da un tumore borderline. Inoltre, bisogna ricordare che l'ecografia transvaginale è un test diagnostico operatore-dipendente, quindi è necessario che l'ecografista sia uno specialista. Infine si osserva come nessun ecografista abbia refertato un tumore benigno all'istologia, come un K tipo I o tipo II.

Poiché uno dei problemi è quanto la diagnosi ecografica concordi con quella istologica si descrive la concordanza, con dati illustrati nella seguente tabella.

		Istologia		
		Maligno	Borderline	Benigno
Ecografia	Maligno	88	7	13
	Borderline	3	12	7
	Benigno	0	14	82
		Concordanza	Concordanza attesa	kappa
Confronto	Diagnosi Istologica vs Diagnosi ecografica	80,53%	39,83%	0.6764

La concordanza trovata tra i risultati istologici e i referti ecografici (refertazione secondo criteri IOTA) è 80,53%, rispetto ad una concordanza attesa inferiore, circa del 40%. Dunque la concordanza è buona (ma non ottima), quindi da qui l'importanza di parametri o score utili a una identificazione pre-chirurgica dei veri tumori maligni e, in particolare, dei tumori appartenenti alla categoria borderline. Infatti questa categoria risulta essere quella con più problemi di identificazione: solo 12 su 22 sono dei reali borderline all'esame istologico post-operatorio, quindi solo 54,5%, rispetto alla correttezza di diagnosi dei maligni (88 su 108= 81,5%) e dei benigni (82 su 96= 85,5%).

Correlazione tra diagnosi istologica e diagnosi ecografica



Caratteristiche cliniche della popolazione in base alla diagnosi istologica

		Diagnosi				P*	Totali
		K Tipo I	K Tipo II	Borderline	Benigno		
Età	lineare	58 (26-87)	63 (40-85)	55 (26-81)	55 (16-87)	0.0046	58 (16-87)
Età	≤50	12	3	15	34	<0.001 (C vs B <0.001; D vs B 0.002)	64
	>50	33	43	18	68		162
Marcatori	CA125/HE4	18	34	3	0	<0.001 (C vs A, C vs B, D vs A, D vs B <0.001; D vs C 0.002)	55
	CA125e oHE4+CA19.9oCEA	19	5	6	12		42
	isolato	5	7	15	28		55
	nessuno	3	0	9	62		74
CA125	no	6	1	15	81	<0.001 (C vs A 0.001, C vs B, D vs A, D vs B, D vs C <0.001)	103
	si	39	45	18	21		123
HE4	no	14	6	23	90	<0.001 (C vs A 0.001, C vs B, D vs A, D vs A, D vs B <0.001)	133
	si	31	40	10	12		93
CA19.9	no	31	43	27	87	0.015 (B vs A 0.010)	188
	si	14	3	6	15		38
CEA	no	35	44	29	87	0.097	195
	si	10	2	4	15		31
Eco	K tipo I o 2	44	44	7	13	Non applicabile	108
	Borderline	1	2	12	7		22
	Benigno	0	0	14	82		96

L'analisi delle caratteristiche cliniche della popolazione in studio sulla base della diagnosi istologica ha mostrato come esista una correlazione statisticamente significativa fra l'età e lo sviluppo del cancro ovarico.

Si può osservare come l'incidenza di malattia ovarica aumenti con l'aumentare dell'età: nello studio sono presenti 64 donne con età <50 anni e 162 con età >50 anni, con età media alla diagnosi di 58 anni, dunque il valore di $p = 0,0046$ sottolinea che l'età, considerata come variabile lineare, si distribuisce diversamente tra le diverse categorie diagnostiche.

In dettaglio, si osserva come nella fascia di età <50 anni sia più frequente lo sviluppo di neoplasia ovarica non di tipo II. In particolare, si osserva nel tumore di tipo I, borderline e benigno una percentuale nella popolazione in esame del 19%, 23% e 53% rispettivamente. Queste conclusioni sono statisticamente significative.

Nella popolazione con età >50 anni, si osserva un aumento percentuale di sviluppo di cancro ovarico di tipo II, che in questa sottopopolazione risulta essere del 27%.

Sempre nella fascia di età >50 anni, i tumori di tipo I, borderline e benigno rappresentano rispettivamente il 20%, l'11% e il 42%.

Inoltre, i valori p, nel confronto fra due colonne, dicono quanto sia significativa la differenza della variabile analizzata tra le due categorie prese in considerazione: la colonna C (borderline) confrontata con il parametro B (K tipo II) è statisticamente significativa con $p < 0.001$; il parametro D (tumori benigni) confrontato con il parametro B (K tipo II) ha un $p = 0.002$.

Il marcatore tumorale CA125 viene dosato a partire da un prelievo ematico; il cut-off utilizzato è di 35 U/mL. Il suo valore è risultato negativo, quindi al di sotto del valore soglia in 103 pazienti in studio e positivo, ovvero al di sopra del valore soglia, in 123 pazienti selezionate.

Il marcatore è risultato negativo (103 pazienti) soprattutto nelle masse benigne (81 pazienti= 79%) e borderline (15 pazienti= 15%).

Il marker CA125 è invece positivo in 123 pazienti, soprattutto nel cancro di tipo I (39 pazienti= 32%) e tipo II (45 pazienti= 37%). È risultato positivo in 18 pazienti con istologico post-operatorio borderline (15%) e 21 con istologico post-operatorio benigno (17%).

Il p value è $< 0,001$, quindi sottolinea come la distribuzione sia statisticamente differente tra le diverse categorie.

Come atteso, la positività del CA125 è risultata significativamente differente tra i tumori benigni e borderline e carcinomi di tipo I e II ($p < 0.001$), ma anche tra borderline e benigno.

Il marcatore tumorale HE4 è stato dosato da un prelievo ematico ed è stato utilizzato il range di normalità 0-150 picomoli/L. Il marcatore è risultato positivo in 93 pazienti in studio, quindi il 40% delle pazienti esaminate.

Stratificando queste due categorie, si osserva come tra le pazienti con marker positivo, la maggior parte (il 43%) abbia una diagnosi istologica (Gold Standard) di cancro stadio II. Invece, nella categoria di pazienti con HE4 negativo, la maggior parte delle pazienti (68%) presenta una diagnosi istologica di benignità.

Anche questo marcatore presenta una significatività statistica in termini di distribuzione complessiva, con p value <0,001. Analogamente a quanto osservato per il CA125, il numero di casi positivi per HE4 è risultato significativamente differente tra lesioni benigne e borderline e carcinomi sia di tipo 1 che 2 (p<0.001)

Il marcatore tumorale CA19.9 viene dosato laboratoristicamente a partire da un campione ematico: è stato utilizzato come valore massimo di normalità 38U/mL.

Il dosaggio di CA19.9 è risultato differire in modo significativo tra carcinomi tipo I e tipo II (p=0.010).

Le pazienti che presentano positività al marker sono 38 su 226, quindi il 17%; invece, le donne risultate negative per questo marcatore sono 188, dunque l'83%.

In particolare, in quest'ultimo caso, la categoria con maggior numero di negatività è quella del tumore benigno (87 pazienti su 188 pazienti negative), quindi il 46% delle pazienti in studio. Al contrario, in caso di positività, si è osservato che il marcatore non è in grado di distinguere correttamente fra tumori benigni e tumori di tipo I. Si osserva però la sua quasi totale assenza in caso di tumori di tipo II. Quindi, si può ragionevolmente pensare che la positività del marcatore CA19.9, in caso di massa ovarica sospetta, possa non essere indicativo di una patologia con aggressività biologica.

L'ultimo marcatore analizzato e dosato in questo studio è il CEA. Il cut-off di normalità utilizzato è 5ng/mL. Nell'analisi dei risultati, stratificando le pazienti in base alla diagnosi istologica (tumori tipo I, tipo II, borderline e benigni), ha riscontrato un'associazione che non è statisticamente significativa (con p value di 0,097).

Sono state studiate anche associazioni di più marcatori, che risultano essere statisticamente significative, con p<0,001.

Marcatori	CA125/HE4	18	34	3	0	<p style="text-align: center; color: green; font-weight: bold;"><0.001</p> <p style="font-size: small;">(C vs A, C vs B, D vs A, D vs B <0.001; D vs C 0.002)</p>	55
	CA125e oHE4+CA19.9oCEA	19	5	6	12		42
	isolato	5	7	15	28		55
	nessuno	3	0	9	62		74

I valori di CA125 e/o di HE4 positivi, sono presenti in 55 su 226 pazienti, quindi il 24%. Si può osservare come, fra le pazienti con positività, la maggior parte presenti una diagnosi istologica di tumore di tipo II (34 su 55, 62%), a seguire le pazienti con diagnosi istologica di tumore di tipo I (18 su 55, 33%). Nessuna paziente con patologia benigna ha presentato uno di questi due marcatori oltre il range di normalità.

E' stato osservato come la positività ad uno dei quattro marcatori, isolato, si presenti più frequentemente nel caso di un tumore borderline (15/55= 27%) e di un tumore benigno (28/55= 51%). Nel caso in cui la paziente non mostri positività ad alcun marcatore, si può ragionevolmente pensare che la massa annessiale possa essere benigna (62/74= 84%) o borderline (9/74= 12%).

Caratteristiche cliniche in base alla diagnosi istologica solo carcinomi

L'analisi delle caratteristiche cliniche stratificate in base alla sola diagnosi istologica di carcinoma ha mostrato come esista una correlazione statisticamente significativa fra l'età delle pazienti e lo sviluppo del cancro ovarico, solo nel caso in cui ci sia una stratificazione dell'età, con cut-off a 50 anni. Nel caso dell'analisi con età lineare (26-87 anni per il tipo I e 40-85 anni per il tipo II), il p value è di 0.116, dunque non si ha significatività statistica.

In riferimento alle sole diagnosi istologiche di K tipo I e tipo II, si può osservare come l'incidenza aumenti con l'aumentare dell'età. In particolare, nella fascia d'età inferiore o uguale ai 50 anni, si hanno 15 pazienti con diagnosi di K: 12 presentano una diagnosi istologica di K tipo I (80%) e solo 3 hanno una diagnosi istologica di K tipo II (20%).

Le pazienti con età superiore ai 50 anni e diagnosi di cancro sono 76: 33 presentano l'istologia di un K tipo I (44%) e 43 hanno diagnosi istologica di K tipo II (57%).

Dunque si può affermare che, con l'aumentare dell'età, aumenta la possibilità di osservare carcinomi di tipo II (p value=0.010).

		Istologia			
		K tipo 1	K tipo 2	P*	Totali
Età	lineare	58 (26-87)	63 (40-85)	0.116	61 (26-87)
Età	≤50	12	3	0.010	15
	>50	33	43		76
	CA125/HE4	18	34	<0.001 (B vs A 0.003, C vs A, C vs B D vs A, D vs B D vs C <0.001)	52
	CA125e oHE4+CA19.9oCEA	19	5		24
	isolato	5	7		12
	nessuno	3	0		3
CA125	no	6	1	0.046	7
	si	39	45		84
HE4	no	14	6	0.037	20
	si	31	40		71
CA19.9	no	31	43	0.003	74
	si	14	3		17
CEA	no	35	44	0.012	79
	si	10	2		12

L'analisi del marker sierico CA125 presenta un p value di 0.046, quindi al limite della significatività statistica. Dalla tabella precedente si osserva come il marcatore sia risultato negativo in 7 pazienti (8%) e positivo in 84 (92%). Fra le 7 donne con marcatore negativo, 6 presentano una diagnosi istologica di K tipo I e 1 di K tipo II.

Fra le 84 pazienti con CA125 al di sopra del range di normalità, 39 hanno diagnosi di riferimento di tumore tipo I (46,4%) e 45 di tumore tipo II (53,6%). Non si ha significatività statistica nello stratificare le pazienti con tumore di tipo I rispetto a quelle di tipo II. Inoltre, il marcatore aumenta spesso anche in condizioni fisiologiche, come le mestruazioni, e patologiche, come l'endometriosi. Dunque, seppur la sensibilità del marcatore usato in singolo è buona, la specificità è bassa.

La proteina HE4 studiata nelle pazienti con K tipo I (45) e con K tipo II (46) presenta un p value di 0.037, dunque evidenzia un'associazione statisticamente significativa.

Nell'analisi condotta, 20 pazienti sono risultate negative al marcatore (cioè dosaggio nel range di normalità) su un totale di 91 pazienti (22%); fra queste 16 hanno un K tipo I e

4 un K tipo II. Invece, fra le 71 pazienti con positività al marcatore HE4 (78%), 31 presentano un K tipo I e 40 un K tipo II.

Il marcatore CA19.9 presenta un P value= 0.003, quindi la sua associazione con il carcinoma di tipo I è statisticamente significativa. 74 pazienti presentano negatività al dosaggio del marcatore e 17 pazienti sono positive, rispetto 91 pazienti esaminate, quindi con una percentuale rispettivamente di 81% e 19%.

Nel gruppo delle 74 pazienti risultate negative, 31 hanno diagnosi istologica di K tipo I (42%) e 43 di K tipo II (58%). Invece, nel gruppo delle pazienti risultate positive al marcatore, 14 presentano diagnosi istologica di K tipo I (82%) e 3 di K tipo II (18%).

Infine è stato dosato il marcatore CEA, che è risultato nel range di normalità in 79 pazienti su 91 (87%) ed è risultato positivo in 12 pazienti (13%). Nel gruppo i pazienti negative, 35 hanno una diagnosi istologica di K tipo I e 44 di tipo II. Invece, le pazienti risultate positive, 10 hanno diagnosi istologica di tumore di tipo I e 2 di tipo II. Il p value del CEA è 0.012, quindi l'associazione è statisticamente significativa.

Si può valutare l'associazione di più marcatori oppure le condizioni in cui è presente un solo marcatore isolato o nessun marcatore positivo. In particolare, l'associazione CA125 e HE4 è presente in 18 pazienti con K tipo I (35%) e 34 pazienti con K tipo II (65%). L'associazione CA125 e/o HE4+CA19.9 o CEA è presente nell'80% in donne con diagnosi di K tipo I e 20% in donne con diagnosi di K tipo II.

CA125/HE4	18	34	<0.001 (B vs A 0.003, C vs A, C vs B D vs A, D vs B D vs C <0.001)	52
CA125e oHE4+CA19.9oCEA	19	5		24
isolato	5	7		12
nessuno	3	0		3

Caratteristiche cliniche in base al sospetto ecografico

		Eco			p*	Totali
		K tipo I o 2	Borderline	Benigno		
Età	lineare	61 (26-87)	61 (17-74)	55 (16-87)	0.002	58 (16-87)
Età	≤50	19	6	35	0.004 (C vs A 0.004)	64
	>50	88	9	57		162
Marcatori	CA125/HE4	54	1	0	<0.001 (B vs A, C vs A 0.001)	55
	CA125e/oHE4+CA19.9oCEA	31	1	10		42
	isolato	17	11	27		55
	nessuno	6	9	59		74
CA125	no	9	16	68	<0.001 (B vs A, C vs A 0.001)	103
	si	99	6	18		123
HE4	no	32	17	84	<0.001 (B vs A, C vs A 0.001)	133
	si	76	5	12		93
CA19.9	no	87	20	81	0.456	188
	si	21	2	15		38
CEA	no	90	19	86	0.432	195
	si	18	3	10		31

Si può osservare dalla tabella come l'andamento sia simile a quello della diagnosi istologica.

L'analisi delle caratteristiche cliniche in base al sospetto ecografico (ETV) evidenzia come ci sia una significatività statistica fra l'età delle pazienti e la caratterizzazione ecografica. Si nota in particolare come l'età media alla diagnosi sia 58 anni. Questa analisi ha un p value= 0,002.

Valutando le pazienti stratificate per età, si nota che nelle donne età uguale o inferiore a 50 anni (64 pazienti) la maggior parte delle diagnosi ecografiche sostiene che la massa sia benigna in 35 pazienti (55%), che sia borderline in 6 (9%) e K tipo I o II in 19 pazienti (30%).

Nel gruppo di età superiore ai 50 anni, invece, le pazienti sono 162 ciò implica che il cancro ovarico è una patologia la cui incidenza aumenta con l'età. Tra queste pazienti,

57 (35%) hanno ricevuto diagnosi di tumore benigno, 9 (5,6%) borderline e 88 (54,4%) maligno.

Il marcatore sierico CA125 presenta un p value <0.001 nell'uso diagnostico di tumore ovarico, dunque è statisticamente significativo. In particolare, si osserva come la distribuzione dei diversi marker sia risultata preferenzialmente differente tra una caratterizzazione ecografica di carcinoma versus borderline o benigno. Il dosaggio del marker è risultato nel range di normalità, quindi negativo, in 103 pazienti e positivo in 123 pazienti. Nella categoria di pazienti con marcatore negativo, la maggior parte delle diagnosi ecografiche sono 68 tumori benigni (66%), 16 tumori borderline (15,5%) e 9 k tipo I o II (9%). Invece, nella categoria di pazienti con marcatore positivo, la maggior parte delle donne presenta un referto ecografico di K tipo I o II (99 pazienti; 80,5%), 18 tumori benigni (14,5%) e 6 bordedrline (5%). Quindi sembra che, quando il marcatore è positivo, l'ecografista esperto sostenga una diagnosi di K tipo I o II; quando invece il marcatore è negativo, sia associato ad una condizione di benignità e ciò è statisticamente significativo (p value <0,001).

Il marcatore HE4 è negativo in 133 pazienti e positivo in altre 93. Dall'analisi condotta, si osserva che la maggior parte delle pazienti con negatività, presenta una diagnosi ecografica di benignità (84 pazienti; 63%), a seguire 32 K tipo I o II (24%) e 17 borderline (13%). Le 93 pazienti con marcatore positivo presentano nella maggior parte una diagnosi ecografica di K tipo I o II (76 pazienti; 82%), 12 diagnosi ecografiche di benignità (13%) e 5 borderline (5%).

Sono stati valutati anche i marcatori CA19.9 e CEA, ma non hanno mostrato un'associazione statisticamente significativa con la dignosi ecografica di secondo livello, eseguita da ecografisti-ginecologi esperti. Il p vaalue è risultato essere, rispettivamente, di 0.456 e 0.432.

Infine è stata studiata l'associazione fra i diversi marcatori, oppure un marcatore isolato o nessun marcatore.

<u>Marcatori</u>	CA125/HE4	54	1	0	<0.001 (B vs A, C vs A 0.001)	55
	CA125e/oHE4+CA19.9oCEA	31	1	10		42
	isolato	17	11	27		55
	nessuno	6	9	59		74

Regressione logistica binomiale

La regressione logistica, è un modello di regressione nonlineare utilizzato quando la variabile dipendente è di tipo dicotomico. L'obiettivo del modello è di stabilire la probabilità con cui un'osservazione può generare uno o l'altro valore della variabile dipendente; può inoltre essere utilizzato per classificare le osservazioni, in base alle caratteristiche di queste, in due categorie.

In questa regressione logistica binomiale, l'endpoint è la diagnosi di preoperatoria istologica di tumore maligno (borderline e benigno vengono considerati un'unica entità, poichè l'analisi è binaria).

Diagnosi k	REGRESSIONE LOGISTICA BINOMIALE	OR	CI	p
Età	>50	2.93	1.50-5.67	0.002
CA125	Positivo vs negativo	29.5	12.5-69.5	<0.001
HE4	Positivo vs negativo	18.2	9.28-35.7	<0.001
CA19.9	Positivo vs negativo	1.25	0.62-2.51	0.538
CEA	Positivo vs negativo	0.92	0.43-2.01	0.848

In questa analisi si osserva come esista una relazione statisticamente significativa fra la diagnosi di carcinoma ovarico Tipo I e II e l'età superiore a 50 anni, i marcatori sierici CA125 e HE4. In particolare, il p value risulta essere rispettivamente di 0,002 (IC 1.50-5.67) per l'età >50 anni, <0,001 per i due marcatori CA125 (IC 12.5-69.5) e HE4 (IC 9.28-35.7).

L'analisi evidenzia invece come non ci sia correlazione fra positività al CA19.9 e al CEA e la diagnosi istologica di K tipo I o II; probabilmente questi due marcatori sono legati all'istotipo della neoplasia e non alla benignità o malignità del tumore.

Nella tabella sottostante vi sono i dati relativi alla regressione logistica binomiale multivariata, in cui tutte e tre le variabili rimangono indipendenti.

Diagnosi k	REGRESSIONE LOGISTICA BINOMIALE MULTIVARIATA	OR	CI	p
Età	>50	3.93	1.55-9.94	0.004
CA125	Positivo vs negativo	15.6	6.1-40.1	0.001
HE4	Positivo vs negativo	9.7	4.36-21.7	<0.001

Hosmer-Lemeshow=0.5438

Si può osservare come esista una associazione statisticamente significativa fra l'età delle pazienti in studio (>50 anni) e lo sviluppo del carcinoma ovarico tipo I e II, con p value= 0,004 ed intervallo di confidenza 1.55-9.94.

I marcatori CA125 ed HE4 presentano significatività statistica per la diagnosi istologica di K ovarico, rispettivamente con un p value di 0,001 (IC 6.1-40.1) e <0,001 (IC 4.36-21.7).

Successivamente è stata effettuata un'analisi di logistica multinomiale ossia la valutazione dei rischi relativi associati alle variabili dei biomarcatori rispetto ai tre gruppi di tumore: maligno, borderline e benigno.

Diagnosi istologica	REGRESSIONE LOGISTICA MULTINOMIALE UNIVARIATA		RRR*	CI	p
Età	>50	benigno	1		
		borderline	0.6	0.27-1.33	0.210
		maligno	2.53	1.27-5.05	0.008
CA125	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	4.62	2.00-10.7	<0.001
		maligno	46.3	18.7-114.7	<0.001
HE4	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	3.26	1.25-8.48	0.015
		maligno	26.62	12.2-58.1	<0.001
CA19.9	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	1.29	0.45-3.65	0.633
		maligno	1.33	0.62-2.85	0.459
CEA	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	0.8	0.24-2.60	0.711
		maligno	0.88	0.39-1.99	0.761

Anche stratificando i biomarcatori e l'età in univariata per i tre gruppi di neoplasia (K, borderline e benigno), si osserva come i markers correlati alla diagnosi di malattia ovarica, con significatività statistica, siano il CA125 e HE4 e l'età al di sopra dei 50 anni. Il p value è rispettivamente di 0,008 per l'età oltre i 50 anni, con IC 1.27-5.05. Invece, il biomarcatore CA125 che correla con la diagnosi di tumore borderline ha un p value <0,001 (IC 2.00-10.7) e con la diagnosi di tumore maligno un p <0,001. L'HE4 presenta un p value per la diagnosi di tumore borderline di 0,015 (IC 1.25-8.48) e per la diagnosi di K <0,001 (IC 12.2-58.1).

I marcatori CA19.9 e CEA non mostrano significatività statistica per la diagnosi di tumore ovarico, probabilmente perché sono markers istologici, più che markers di malignità.

Nell'analisi logistica multivariata seguente, nel tumore borderline si ha significatività statistica solo per il CA125 (p value= 0,002 e IC 1.65-9.5), si perdono età>50 anni e HE4.

Nel caso del carcinoma, la significatività statistica è presente per tutte e tre le variabili: età >50 anni (p value= 0.029), CA125 (p value <0.001) e HE4 (p value <0,001).

Diagnosi istologica	REGRESSIONE LOGISTICA MULTINOMIALE MULTIVARIATA		RRR*	CI	p
benigno			1		
borderline	Età	>50	0.6	0.26-1.43	0.259
	CA125	Positivo vs negativo	3.9	1.65-9.50	0.002
	HE4	Positivo vs negativo	2.1	0.75-5.83	0.160
maligno	Età	>50	3.08	1.12-8.43	0.029
	CA125	Positivo vs negativo	24.0	8.87-65.1	<0.001
	HE4	Positivo vs negativo	13.2	5.24-33.2	<0.001

Nella seguente tabella si può osservare un'analisi analoga alla precedente, ma con riferimento alla diagnosi ecografica (ETV II livello).

Si descrive una significatività statistica associata alla diagnosi ecografica per l'età >50 anni nel caso di un carcinoma maligno (p value= 0,003); inoltre si osserva che i due makers sierici CA125 ed HE4 presentano significatività statistica nel caso di tumori maligni di tipo I e tipo II, entrambe con un p value <0,001. Nel caso dei tumori borderline, per questi due marcatori, non risulta significatività statistica.

Analogamente i biomarcatori CA19.9 e CEA non sono statisticamente significativi, probabilmente perché marcano determinati istotipi tumorali (carcinogenesi) e non la malignità o benignità della massa annessiale.

REGRESSIONE LOGISTICA MULTINOMIALE UNIVARIATA		Diagnosi ecografica	RRR*	CI	p
Età	>50	benigno	1		
		borderline	1.05	0.40-2.74	0.921
		maligno	2.64	1.39-4.99	0.003
CA125	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	1.62	0.56-4.73	0.373
		maligno	47.6	20.3-11.9	<0.001
HE4	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	2.06	0.64-6.61	0.225
		maligno	16.6	7.99-34.6	<0.001
CA19.9	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	0.54	0.11-2.56	0.437
		maligno	1.30	0.63-2.70	0.476
CEA	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	1.36	0.34-5.41	0.665
		maligno	1.72	0.75-3.93	0.199

Anche la regressione logistica multinomiale multivariata (tabella sottostante) mostra come ci sia significatività statistica fra la diagnosi ecografica di neoplasia maligna ovarica e l'età superiore ai 50 anni ($p=0,008$), i marcatori CA125 ($p<0,001$) e HE4 ($p<0,001$).

Diagnosi ecografica	REGRESSIONE LOGISTICA MULTINOMIALE MULTIVARIATA		RRR*	CI	p
benigno			1		
borderline	Età	>50	1.09	0.41-2.87	0.860
	CA125	Positivo vs negativo	1.41	0.46-4.31	0.546
	HE4	Positivo vs negativo	1.87	0.55-6.30	0.321
maligno	Età	>50	3.61	1.39-9.38	0.008
	CA125	Positivo vs negativo	29.2	11.5-73.7	<0.001
	HE4	Positivo vs negativo	7.27	2.93-17.9	<0.001

Dunque, in analisi multivariata, i parametri età, CA125 e HE4 sono utili solo nell'associazione con le lesioni maligne, non sono invece correlate con il boderline.

Sono state eseguite ulteriori analisi logistiche multinomiali in univariata selezionando come variabile dipendente i tre gruppi di diagnosi maligno, borderline e benigno nei sottogruppi tipo A, B, C.

Nel sottogruppo A sono stati raccolti gli istotipi endometrioidi, a cellule chiare e mucinosi

Nel sottogruppo B è presente l'istotipo sieroso; infine nel sottogruppo C troviamo teratomi e fibrotecomi.

		Tipo A	Tipo B	Tipo C	p*	Totali
CA125	no	36	34	33	0.007	103
	si	50	55	18	(C vs B 0.027, C vs A 0.007)	123
HE4	no	46	42	45	<0.001	133
	si	40	47	6	(C vs B, C vs A 0.001)	93
CA19.9	no	66	81	41	0.035 (B vs A 0.035)	188
	si	20	8	10		38
CEA	no	71	82	42	0.120	195
	si	15	7	9		31
CA125/HE4	no	66	54	51	<0.001	171
	si	20	35	0	(B vs A 0.028, C vs A 0.004, C vs B < 0.001)	55
CA125 e/o HE4, CA19.9 o CEA	No	62	81	41	0.006 (B vs A 0.004)	184
	si	24	8	10		42
Marcatore Isolato	no	67	68	36	0.614	171
	si	19	21	15		55
Nessun marcatore	no	63	64	25	0.007	152
	si	23	25	26	(C vs A 0.010, C vs B 0.016)	74

Dalla tabella che riassume le analisi condotte, si può osservare che i biomarcatori sierici CA125 e HE4 sono statisticamente significativi nel distinguere i tumori di tipo C (teratomi e fibrotecomi) versus i tumori di tipo A e B (sierosi), come si era già dedotto dalle analisi precedenti.

Abbiamo tentato di stratificare sulla base dell'istotipo: nessun marcatore riesce a stratificare, ma l'associazione dei markers CA125 e HE4 presenta significatività statistica (p value < 0,001) nella diagnosi di tumore ovarico; in particolare si osserva come sia in grado di distinguere i tumori di tipo B versus A, C versus A e C versus B. Anche l'associazione CA125 e HE4 + CA19.9 o CEA risulta essere statisticamente

correlata a neoplasia ovarica, in particolare tipo B versus tipo A. Queste analisi mettono in luce una associazione statisticamente significativa del marcatore CA19.9, che è in grado di distinguere un tumore tipo B (sieroso) versus tipo A (endometrioidi, a cellule chiare e mucinosi) (p value 0,035).

REGRESSIONE LOGISTICA STRATIFICATA NEI DIFFERENTI GRUPPI TIPO A, B (NEL TIPO C NO EVENTI) RISPETTO ALLA CLASSIFICAZIONE BENIGNO, BORDERLINE e MALIGNO

TIPO A					
REGRESSIONE LOGISTICA MULTINOMIALE UNIVARIATA		Categoria	RRR*	CI	p
CA125	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	3.40e+07	0-inf	0.987
		maligno	1.61e+08	0-inf	0.986
HE4	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	1.61	0.36-7.12	0.532
		maligno	9.96	2.84-34.9	<0.001
CA19.9	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	7.49	0.78-71.2	0.079
		maligno	9.48	1.16-77.6	0.036
CEA	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	0.74	0.11-5.00	0.762
		maligno	1.81	0.44-7.38	0.408
CA125/HE4			Non valutabile collineare		
CA125 e/o HE4, CA19.9 o CEA	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	5.6	0.57-55.3	0.140
		maligno	15.3	1.89-124	0.010
Marcatore Isolato	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	1.93	0.52-7.17	0.321
		maligno	0.33	0.09-1.25	0.103
Nessun marcatore	Nessun marcatore vs almeno un marcatore	benigno	1		
		borderline	0.16	0.04-0.65	0.010
		maligno	0.03	0.01-0.15	<0.001

*RRR relative risk ratio

Nella classe tipo A (istotipi endometrioidi, a cellule chiare e mucinosi) della tabella, il marcatore HE4 è significativamente associato alle lesioni maligne, ma non è in grado di attribuire un differente rischio relativo nei borderline. Lo stesso ragionamento può essere eseguito per il CA19.9. La combinazione CA125 e/o HE4, CA19.9 o CEA risulta associata alle lesioni, poiché si porta dietro l'indipendenza del HE4 e 19.9. La variabile

“nessun marcatore” ovviamente è significativamente associato al benigno rispetto al borderline e al maligno.

E’ stata analizzata anche la sola categoria tipo B (istotipo sieroso)

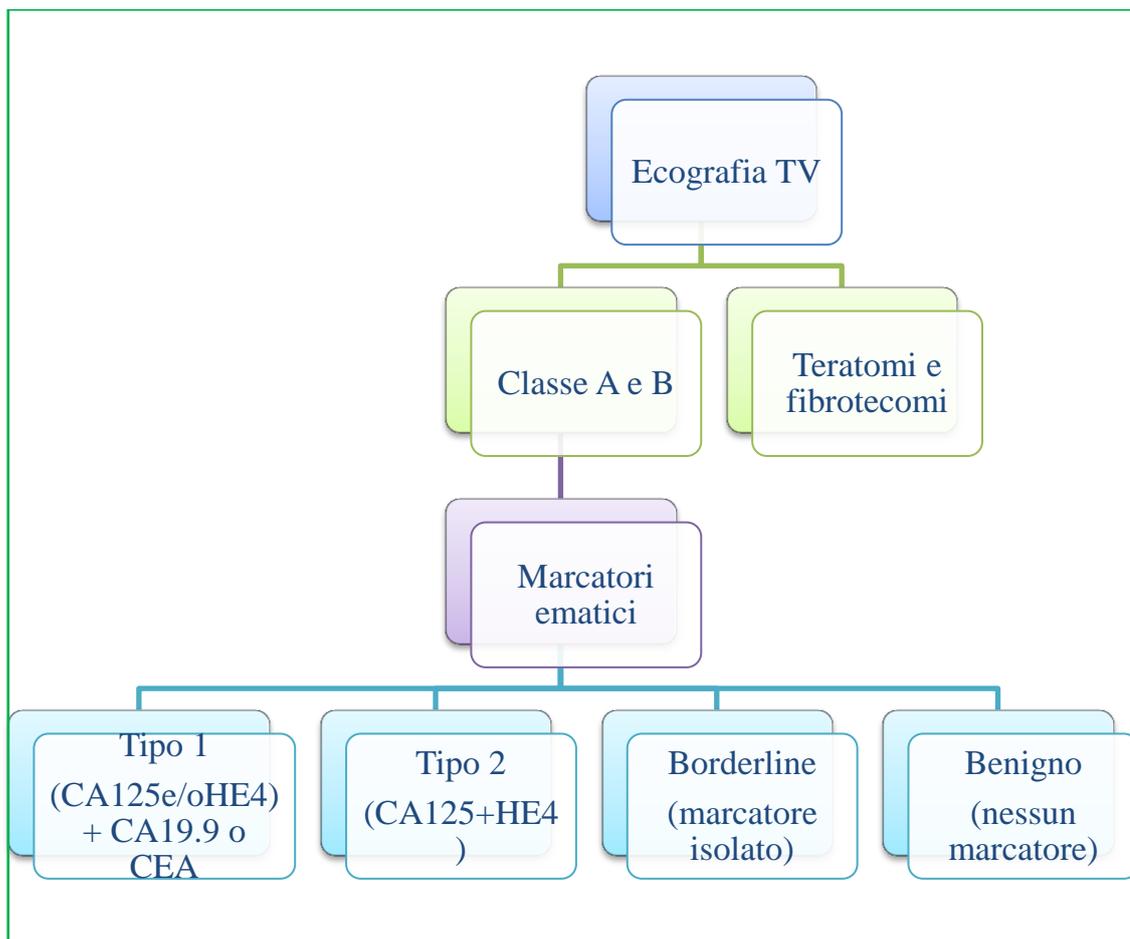
TIPO B					
REGRESSIONE LOGISTICA MULTINOMIALE UNIVARIATA		Categoria	RRR*	CI	p
CA125	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	3.71	0.83-16.5	0.085
		maligno	234	25-2113	<0.001
HE4	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	4.67	0.86-25.3	0.074
		maligno	62	14.3-269	<0.001
CA19.9	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	4.93e-07	0-inf	0.988
		maligno	0.36	0.08-1.64	0.188
CEA	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	5.56e-07	0-inf	0.987
		maligno	0.27	0.04-1.31	0.098
CA125/HE4				Non valutabile collineare	
CA125 e/o HE4, CA19.9 o CEA	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	5.08e-07	0-inf	0.991
		maligno	1.14	0.25-5.15	0.866
Marcatore Isolato	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	4.8	1.16-19.9	0.031
		maligno	0.61	0.19-1.97	0.414
Nessun marcatore	Positivo vs negativo	benigno	1		
		borderline	0.23	0.05-0.98	0.047
		maligno	1.67e-09	0-inf	0.994

*RRR relative risk ratio

Nella Classe tipo B i marcatori associati invece sono CA125 e HE4 per la classe maligno, ma CA19.9 e CEA non hanno nessuna correlazione con i carcinomi e, di riflesso, neanche le loro combinazioni. Avere un marcatore isolato è associato al borderline, mentre la variabile “nessun marcatore” è significativamente associato inversamente al borderline, ma non al maligno. Nel tipo C, non avendo per selezione e definizione eventi “borderline o maligni”, non può essere applicato il modello di regressione logistica multinomiale.

Discussione

Alla luce di tutte le analisi svolte, è stato proposto il seguente algoritmo diagnostico ibrido tra markers ecografici e biomarcatori umorali a steps successivi. La soddisfacente accuratezza dell'ecografia transvaginale(refertata secondo i criteri IOTA) nel distinguere la patologia benigna da quella maligna viene utilizzata per differenziare i tumori di classe C (teratomi e fibrotecomi) da quelli di classe A (endometrioidi, a cellule chiare e mucinosi) e B (sierosi). La predizione istologica ulteriore viene invece effettuata con il dosaggio sierico dei biomarcatori; in particolare per distinguere in maniera predittiva i tumori di tipo A da quelli di tipo B, si dosa il CA19.9 e, se la paziente è positiva (cut-off 40U/mL), posso ragionevolmente credere che l'istologia del tumore appartenga al tipo A, dunque che sia un tumore endometrioide, a cellule chiare o mucinoso. Dunque si osserva come, alla sola ecografia transvaginale, non si abbiano sufficienti sensibilità e specificità per distinguere con certezza un tumore benigno da un tumore borderline.



Conclusione

Gli strumenti diagnostici non invasivi a nostra disposizione (marcatori sierici CA125, HE4, CA19.9, CEA, ecografia transvaginale, algoritmi RMI, ROMA e ADNEX Score) non sono ancora adeguati per la diagnosi di certezza e/o istologica di cancro all'ovaio nelle donne con massa annessiale sospetta.

I limiti dei marcatori sono la loro intrinseca aspecificità e la relazione che le concentrazioni degli stessi hanno con la dimensione della massa tumorale, il che implica una bassa sensibilità per le neoplasie di piccole dimensioni in quanto iniziali. Il miglior strumento diagnostico biologico oggi sembra essere una combinazione dei livelli di CA125 e HE4 per prevedere il rischio di cancro ovarico in pazienti con sospetta neoplasia. Il marcatore CA19.9 è significativamente associato alle lesioni maligne di tipo A (istotipi endometrioidi, a cellule chiare e mucinosi). L'ecografia transvaginale standardizzata ai criteri IOTA aiuta clinicamente nella definizione istologica predittiva, con una buona sensibilità, soprattutto per il tipo C (teratoma e fibrotecoma).

E' stato pensato di unire queste informazioni in un ragionamento clinico che possa aiutare una caratterizzazione clinica preoperatoria delle masse ovariche sospette.

Bibliografia

- [1] International Agency for Research on Cancer. *IARC Monograph on evaluation of carcinogenic risks to humans*. Volume 72: Hormonal contraception and post menopausal hormonal therapy. IARC Press, Lyon, 1999.
- [2] Jemal, A., et al., *Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2005, featuring trends in lung cancer, tobacco use, and tobacco control*. J Natl Cancer Inst, 2008. 100(23): p 1672-1694
- [3] Harries, M. and M. Gore, *Part I: chemotherapy for epithelial ovarian cancer-treatment at first diagnosis*. Lancet Oncol, 2002. 3(9): p. 529-536
- [4] Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian Cancer, Beral V, Doll R, Hermon C, et al. Ovarian cancer and oral contraceptives: collaborative reanalysis of data from 45 epidemiological studies including 23257 women with ovarian cancer and 87,303 controls. Lancet 2008; 371: 303-14.
- [5] Linee Guida AIOM 2019
- [6] Grindedal, E.M., et al., *Survival in women with MMR mutations and ovarian cancer: a multicentre study in Lynch Syndrome kindreds*. J Med Genet, 2010. 47(2): p. 99-102
- [7] WHO. Burden: mortality, morbidity and risk factors. Chapter 1. In: *Global status report on noncommunicable diseases*. Geneva: WHO, 2010.
Available at: http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report2010/en/
- [8] Holschneider CH, Berek JS. Ovarian cancer: epidemiology, biology, and prognostic factors. *Semin Surg Oncol* 2000;19:3–10
- [9] Prat, J., E. D'Angelo, and I. Espinosa, *Ovarian carcinomas: at least five different diseases with distinct histological features and molecular genetics*. Hum Pathol, 2018.
- [10] Crum, C.P., et al., *Through the glass darkly: intraepithelial neoplasia, top-down differentiation, and the road to ovarian cancer*. J Pathol, 2013. **231**(4): p. 402-12.
- [11] Kindelberger, D.W., et al., *Intraepithelial carcinoma of the fimbria and pelvic serous carcinoma: Evidence for a causal relationship*. Am J Surg Pathol, 2007. **31**(2): p. 161-9
- [12] Sainz de la Cuesta, R., et al., *Histologic transformation of benign endometriosis to early epithelial ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 1996. **60**(2): p. 238-44.
- [13] Kurman, R.J. and M. Shih Ie, *The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis*:

Revisited, Revised, and Expanded. Am J Pathol, 2016. **186**(4): p. 733-47.

[14] Gilks, C.B. and J. Prat, *Ovarian carcinoma pathology and genetics: recent advances*. Hum Pathol, 2009. **40**(9): p. 1213-23.

[15] Prat, J., *Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features*. Virchows Arch, 2012. **460**(3): p. 237-49.

[16] Nebgen, D.R., et al., *Bilateral salpingectomy with delayed oophorectomy for ovarian cancer risk reduction: A pilot study in women with BRCA1/2 mutations*. Gynecol Oncol, 2018. **150**(1): p. 79-84.

[17] Dehari, R., et al., *The development of high-grade serous carcinoma from atypical proliferative (borderline) serous tumors and low-grade micropapillary serous carcinoma: a morphologic and molecular genetic analysis*. Am J Surg Pathol, 2007. **31**(7): p. 1007-12.

[18] Tsang, Y.T., et al., *KRAS (but not BRAF) mutations in ovarian serous borderline tumour are associated with recurrent low-grade serous carcinoma*. J Pathol, 2013. **231**(4): p. 449- 56.

[19] Zuo, T., et al., *KRAS mutation of extraovarian implants of serous borderline tumor: prognostic indicator for adverse clinical outcome*. Mod Pathol, 2018. **31**(2): p. 350-357.

[20] Lee, K.R. and R.E. Scully, *Mucinous tumors of the ovary: a clinicopathologic study of 196 borderline tumors (of intestinal type) and carcinomas, including an evaluation of 11 cases with 'pseudomyxoma peritonei'*. Am J Surg Pathol, 2000. **24**(11): p. 1447-64.

[21] Rodriguez, I.M. and J. Prat, *Mucinous tumors of the ovary: a clinicopathologic analysis of 75 borderline tumors (of intestinal type) and carcinomas*. Am J Surg Pathol, 2002. **26**(2): p. 139-52.

[22] Uzan, C., et al., *Influence of histological subtypes on the risk of an invasive recurrence in a large series of stage I borderline ovarian tumor including 191 conservative treatments*. Ann Oncol, 2014. **25**(7): p. 1312-9.

[23] Anglesio, M.S., et al., *Molecular characterization of mucinous ovarian tumours supports a stratified treatment approach with HER2 targeting in 19% of carcinomas*. J Pathol, 2013. **229**(1): p. 111-20.

[24] Mackenzie, R., et al., *Targeted deep sequencing of mucinous ovarian tumors*

- reveals multiple overlapping RAS-pathway activating mutations in borderline and cancerous neoplasms.* BMC Cancer, 2015. **15**: p. 415.
- [25] Kurman, R.J. and M. Shih Ie, *Seromucinous Tumors of the Ovary. What's in a Name?* Int J Gynecol Pathol, 2016. **35**(1): p. 78-81.
- [26] Chandler, R.L., et al., *Coexistent ARID1A-PIK3CA mutations promote ovarian clear-cell tumorigenesis through pro-tumorigenic inflammatory cytokine signalling.* Nat Commun, 2015. **6**: p. 6118.
- [27] Dinulescu, D.M., et al., *Role of K-ras and Pten in the development of mouse models of endometriosis and endometrioid ovarian cancer.* Nat Med, 2005. **11**(1): p. 63-70.
- [28] Catusus, L., et al., *Molecular genetic alterations in endometrioid carcinomas of the ovary: similar frequency of beta-catenin abnormalities but lower rate of microsatellite instability and PTEN alterations than in uterine endometrioid carcinomas.* Hum Pathol, 2004. **35**(11): p. 1360-8.
- [29] Anglesio, M.S., et al., *Synchronous Endometrial and Ovarian Carcinomas: Evidence of Clonality.* J Natl Cancer Inst, 2016. **108**(6): p. djv428.
- [30] Ferrandina, G., et al., *Endometriosis-associated clear cell carcinoma arising in caesarean section scar: a case report and review of the literature.* World J Surg Oncol, 2016. **14**(1): p. 300.
- [31] Improta, G., et al., *Ovarian Clear Cell Carcinoma: From Morphology to Molecular Biology.* Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2018.
- [32] Zannoni, G.F., G. Improta, and F. Fraggetta, *PIK3CA in ovarian clear cell carcinoma.* Hum Pathol, 2014. **45**(12): p. 2514.
- [33] WHO Classification of tumors of female reproductive organs, Edited by Robert J. Kurman, Maria Luisa Carcangiu, C. Simon Herrington, Robert H. Young, 2014, Cap. 1
- [34] Toyokuni, S., *Role of iron in carcinogenesis: cancer as a ferrotoxic disease.* Cancer Sci, 2009. **100**(1): p. 9-16.
- [35] Vercellini, P., et al., *The 'incessant menstruation' hypothesis: a mechanistic ovarian cancer model with implications for prevention.* Hum Reprod, 2011. **26**(9): p. 2262-73.
- [36] Alsop, K., et al., *BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in*

BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group. J Clin Oncol, 2012. **30**(21): p. 2654-63.

[37] Schrader, K.A., et al., *Germline BRCA1 and BRCA2 mutations in ovarian cancer: utility of a histology-based referral strategy.* Obstet Gynecol, 2012. **120**(2 Pt 1): p. 235-40.

[38] Malander, S., et al., *One in 10 ovarian cancer patients carry germ line BRCA1 or BRCA2 mutations: results of a prospective study in Southern Sweden.* Eur J Cancer, 2004. **40**(3): p. 422-8.

[39] Song, H., et al., *The contribution of deleterious germline mutations in BRCA1, BRCA2 and the mismatch repair genes to ovarian cancer in the population.* Hum Mol Genet, 2014. **23**(17): p. 4703-9.

[40] Skold, C., et al., *Preterm delivery is associated with an increased risk of epithelial ovarian cancer among parous women.* Int J Cancer, 2018.

[41] Li, D.P., et al., *Breastfeeding and ovarian cancer risk: a systematic review and meta- analysis of 40 epidemiological studies.* Asian Pac J Cancer Prev, 2014. **15**(12): p. 4829-37.

[42] Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian, C., et al., *Ovarian cancer and oral contraceptives: collaborative reanalysis of data from 45 epidemiological studies including 23,257 women with ovarian cancer and 87,303 controls.* Lancet, 2008. **371**(9609): p. 303-14.

[43] Soini, T., et al., *Impact of levonorgestrel-releasing intrauterine system use on the cancer risk of the ovary and fallopian tube.* Acta Oncol, 2016. **55**(11): p. 1281-1284.

[44] Beral, V., et al., *Ovarian cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study.* Lancet, 2007. **369**(9574): p. 1703-10.

[45] Morch, L.S., et al., *Hormone therapy and ovarian cancer.* JAMA, 2009. **302**(3): p. 298-305.

[46] Lacey, J.V., Jr., et al., *Menopausal hormone therapy and ovarian cancer risk in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study Cohort.* J Natl Cancer Inst, 2006. **98**(19): p. 1397-405

[47] Danforth, K.N., et al., *A prospective study of postmenopausal hormone use and ovarian cancer risk.* Br J Cancer, 2007. **96**(1): p. 151-6.

[48] Hildebrand, J.S., et al., *Postmenopausal hormone use and incident ovarian cancer:*

Associations differ by regimen. Int J Cancer, 2010. **127**(12): p. 2928-35.

[49] Berretta, M., et al., *Coffee consumption is not associated with ovarian cancer risk: a dose- response meta-analysis of prospective cohort studies.* Oncotarget, 2018. **9**(29): p. 20807- 20815.

[50] Wentzensen, N., et al., *Ovarian Cancer Risk Factors by Histologic Subtype: An Analysis From the Ovarian Cancer Cohort Consortium.* J Clin Oncol, 2016. **34**(24): p. 2888-98.

[51] Reid, B.M., J.B. Permuth, and T.A. Sellers, *Epidemiology of ovarian cancer: a review.* Cancer Biol Med, 2017. **14**(1): p. 9-32.

[52] Rasmussen, C.B., et al., *Pelvic Inflammatory Disease and the Risk of Ovarian Cancer and Borderline Ovarian Tumors: A Pooled Analysis of 13 Case-Control Studies.* Am J Epidemiol, 2017. **185**(1): p. 8-20.

[53] Heidemann, L.N., et al., *The relation between endometriosis and ovarian cancer - a review.* **Acta Obstet Gynecol Scand, 2014. 93(1): p. 20-31.**

[54] Gadducci, A., N. Lanfredini, and R. Tana, *Novel insights on the malignant transformation of endometriosis into ovarian carcinoma.* Gynecol Endocrinol, 2014. **30**(9): p. 612-7.

[55] Linee guida ESMO-ESGO

[56] Tavassoli FA, Devilee P. *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs.* IARC Press, Lyon, 2003.

[57] Narod SA, Boyd J. *Current understanding of the epidemiology and clinical implications of BRCA1 and BRCA2 mutations for ovarian cancer.* Curr Opin Obstetr Gynecol 2002; 14: 19-26.

[58] Zhang S, Royer R, Li S, et al. *Frequencies of BRCA1 and BRCA2 mutations among 1,342 unselected patients with invasive ovarian cancer.* Gynecol Oncol 2011; 121: 353-7.

[59] Ryoo U, Lee D-Y, Bae D-S, Yoon B-K, Choi D. *Clinical Characteristics of Adnexal Masses in Korean Children and Adolescents: Retrospective Analysis of 409 Cases.* Journal of Minimally Invasive Gynecology. 2010; **17**(2): 209-13.

[60] Islam S, Yamout SZ, Gosche JR. *Management and outcomes of ovarian masses in children and adolescents.* Am Surg. 2008; **74**(11): 1062-5.

- [61] Yiee JH, Betts J, Baskin LS. Ovarian Pathology for the Pediatric Urologist. *Urology*. 2011; **77**(6): 1455-9.
- [62] Wang Y, Wang W, Xu C, Huang X, Zhong L, Kang X, et al. Childhood ovarian juvenile granulosa cell tumor: a retrospective study with 3 cases including clinical features, pathologic results, and therapies. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2011; **33**(3): 241-5
- [63] Kitajima, K., et al., *Diagnostic accuracy of integrated FDG-PET/contrast-enhanced CT in staging ovarian cancer: comparison with enhanced CT*. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2008. **35**(10): p. 1912-20.
- [64] De Iaco, P., et al., *FDG-PET/CT in advanced ovarian cancer staging: value and pitfalls in detecting lesions in different abdominal and pelvic quadrants compared with laparoscopy*. *Eur J Radiol*, 2011. **80**(2): p. e98-103.
- [65] Moore, R.G., et al., *A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass*. *Gynecol Oncol*, 2009. **112**(1): p. 40-6.
- [66] Huhtinen, K., et al., *Serum HE4 concentration differentiates malignant ovarian tumours from ovarian endometriotic cysts*. *Br J Cancer*, 2009. **100**(8): p. 1315-9
- [67] Trimbos, J.B., *Staging of early ovarian cancer and the impact of lymph node sampling*. *Int J Gynecol Cancer*, 2000. **10**(S1): p. 8-11.
- [68] Winter-Roach, B.A., H.C. Kitchener, and H.O. Dickinson, *Adjuvant (post-surgery) chemotherapy for early stage epithelial ovarian cancer*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2009(3): p. CD004706.
- [69] Oltmann SC, Garcia N, Barber R, Huang R, Hicks B, Fischer A. *Can we preoperatively risk stratify ovarian masses for malignancy?* *J Pediatr Surg*. 2010; **45**(1): 130-4.
- [70] Von Allmen D, Fallat ME. *Ovarian tumors*. In: Coran AG, Caldamone A, Adzick NS, Krummel TM, Laberge JM, Shamberger R, editors. *Pediatric Surgery*. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2012. p. 529-48.
- [71] Stankovic Z, Djuricic S, Djukic M, Jovanovic D, Vasiljevic M. *Epithelial ovarian tumors and CA125 in premenarchal girls*. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2006; **27**(6):597-9.
- [72] McCarthy JD, Erickson KM, Smith YR, Quint EH. *Premenarchal ovarian torsion and elevated CA-125*. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2010; **23**(1): e47-50.

- [73] Schneider DT, Janig U, Calaminus G, Gobel U, Harms D. *Ovarian sex cordstromal tumors--a clinicopathological study of 72 cases from the Kiel Pediatric Tumor Registry*. Virchows Arch. 2003; **443**(4): 549-60.
- [74] Huchon C, Fauconnier A. *Adnexal torsion: a literature review*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2010; **150**(1): 8-12.
- [75] Savic D, Stankovic ZB, Djukic M, Mikovic Z, Djuricic S. *Torsion of malignant ovarian tumors in childhood and adolescence*. J Pediatr Endocrinol Metab. 2008; **21**(11): 1073-8.
- [76] McCarthy JD, Erickson KM, Smith YR, Quint EH. *Ovarian torsion and elevated CA-125*. J Pediatr Adolesc Gynecol. 2010; **23**(1): e47-50.
- [77] Ruttenstock EM, Saxena AK, Schwinger W, Sorantin E, Hoellwarth ME. *Pediatric ovarian tumors--dilemmas in diagnosis and management*. Eur J Pediatr Surg. 2010; **20**(2): 116-20.
- [78] Perlman E, Fritsch M. *The female reproductive system*. In: Stocker JT, Dehner LP, editors. Pediatric Pathology. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 905-38.
- [79] Ortega J, Siegel S. *Biologic markers in pediatric solid tumors*. In: Pizzo PA, Poplack DG, editors. Principles and Practice of Pediatric Oncology. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1993. p. 179-94.
- [80] National Program for Guidelines. *Diagnosis and treatment of ovarian cancer*, Italian Ministry of Health, Istituto Superiore di Sanità. Document n. 7, March 2004.
- [81] Aebi S, Castiglione M. *Newly and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up*. Ann Oncol 2009; **20** (Suppl. 4): iv21- iv23
- [82] Berrino F, De Angelis R, Sant M, et al. *Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995–99: results of the EURO CARE-4 study*. Lancet Oncol 2007; **8**: 773-783.
- [83] Bhoola S, Hoskins WJ. *Diagnosis and management of epithelial ovarian cancer*. Obstet Gynecol 2006; **107**:1399-1410.
- [84] Medeiros LR, Rosa DD, da Rosa MI, Bozzetti MC. *Accuracy of CA 125 in the diagnosis of ovarian tumors: a quantitative systematic review*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2009; **142**: 99-105.

- [85] Sturgeon CM, Duffy MJ, Stenman U-H, et al. *National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers*. Clin Chem 2008; 54
- [86] Bast RC Jr. *Status of tumor markers in ovarian cancer screening*. J Clin Oncol 2003; 21: 200–205.
- [87] Partridge E, Greenlee ET, Xu J-L, et al. *Results from four rounds of ovarian cancer screening in a randomized trial*. Obstet Gynecol 2009; 113: 775–782
- [88] Drapkin R, Henning von Horsten H, Lin Y, Mok SC. *Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas*. Cancer Res 2005; 65: 2162-2169
- [89] Galgano MT, Hampton GM, Frierson HF Jr. *Comprehensive analysis of HE4 expression in normal and malignant human tissues*. Mod Pathol 2006; 19: 847-853
- [90] Li J, Dowdy S, Tipton T, et al *HE4 as a biomarker for ovarian and endometrial cancer management*. Expert Rev Mol Diagn 2009; 9: 555-566.
- [91] Bolstad N, Oeijrdsbakken M, Nustad K, Bjerner J. *Human epididymis protein 4 reference limits and natural variation in a Nordic reference population*. Tumor Biol 2012; 33: 141-148.
- [92] Moore RG, Miller MG, Eklund EE, Lu KH, Bast RJ jr, Lambert-Messerlian G. *Serum levels of the ovarian cancer biomarker HE4 are decreased in pregnancy and increase with age*. Am J Obstet Gynecol 2012; 206: 349 e1-7.
- [93] Bignotti E, Ragnoli M, Zanotti L, Calza S, Falchetti M, Lonardi S, Bergamelli S, Bandiera E, Tassi RA, Romani C, Todeschini P, Odicino FE, Facchetti F, Pecorelli S, Ravaggi A. *Diagnostic and prognostic impact of serum HE4 detection in endometrial carcinoma patients*. Br J Cancer 2011; 104:1418-25.
- [94] Zanotti L, Bignotti E, Calza S, Bandiera E, Ruggeri G, Galli C, Tognon G, Ragnoli M, Romani C, Tassi RA, Caimi L, Odicino FE, Sartori E, Pecorelli S, Ravaggi A. *Human epididymis protein 4 as a serum marker for diagnosis of endometrial carcinoma and prediction of clinical outcome*. Clin Chem Lab Med 2012 (in press)
- [95] Moore RG, Brown AK, Miller MC, et al. *The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass*. Gynecol Oncol 2008; 108: 402-408.
- [96] Havrilesky LJ, Whitehead CM, Rubatt JM, et al. *Evaluation of biomarker panels*

for early stage ovarian cancer detection and monitoring for disease recurrence.

Gynecol Oncol 2008; 110: 374-382.

[97] Park Y, Kim Y, Lee EY, Lee J-H, Kim H-S. *Reference ranges for HE4 and CA125 in a large Asian population by automated assays and diagnostic performances for ovarian cancer.* Int J Cancer 2012; 130: 1136-1144.

[98] Holcomb K, Vucetic Z, Miller MC, Knapp RC. *Human epididymis protein 4 offers superior specificity in the differentiation of benign and malignant adnexal masses in premenopausal women* Am J Obstet Gynecol 2011; 205:358,1-618.

[99] Steffenson KD, Waldstroem M, Brandslund I, Jacobsen A. *Prognostic impact of prechemotherapy serum levels of HER2, CA125, and HE4 in ovarian cancer patients.* Int J Gynecol Cancer 2011; 21: 1040-1047.

[100] Bandiera E, Romani C, Specchia C, Zanotti L, Galli C, Ruggeri G, et al. *HE4 serum biomarker and ROMA algorithm as new diagnostic and prognostic tools for epithelial ovarian cancer management.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2011;20:2496-2506.

[101] Anastasi E, Marchei GG, Viggiani V, Gennarini G, Frati L, Reale MG. *HE4: a new potential early marker for the recurrence of ovarian cancer.* Tumor Biol 2010; 31:113-119.

[102] Hynninen J, Hynninen J, Auranen A, Dean K, Lavonius M, Carpen O, Perheentupa A, Seppanen M, Grénman S. *Serum HE4 profile during primary chemotherapy of epithelial ovarian cancer.* Int J Gynecol Cancer 2011;21:1573-1578.

[103] Junor EJ, Hole DJ, McNulty L, Mason M, Young J. *Specialist gynaecologists and survival outcome in ovarian cancer: a Scottish national study of 1866 patients.* Br J Obstet Gynaecol. 1999; 106: 1130–1136.

[104] Engelen MJ, Kos HE, Willemse PH, et al. *Surgery by consultant gynecologic oncologists improves survival in patients with ovarian carcinoma.* Cancer 2006; 106 (3): 589-598.

[105] Abdel-Hady el S, Abdel-Hady Hemida R, Gamal A, El-Shamey M. *Fertility sparing surgery for ovarian tumors in children and young adults.* Arch Gynecol Obstet. 2012; **285**(2): 469-71.

- [106] Medeiros LR, Rosa DD, Edelweiss MI, Stein AT, Bozzetti MC, Zelmanowicz A, et al. *Accuracy of frozen-section analysis in the diagnosis of ovarian tumors: a systematic quantitative review*. Int J Gynecol Cancer. 2005; **15**(2): 192-202.
- [107] Pectasides D, Pectasides E, Kassanos D. *Germ cell tumors of the ovary*. Cancer Treat Rev. 2008; **34**(5): 427-41.
- [108] Van Calster B, et al. BMJ 2014; 349: g5920.
- [109] Epstein E, et al. Ultrasound Obstet Gynecol 2016; 47: 110-6.
- [110] Araujo KG, et al. Ultrasound Obstet Gynecol 2016 [Epub ahead of print].
- [111] Szubert S, et al. Gynecol Oncol 2016; 142: 490-5.
- [112] Sayasneh A, et al. Br J Cancer 2016; 115: 542-8.
- [113] Meys EM, et al. Ultrasound Obstet Gynecol 2016 [Epub ahead of print].
- [114] Joyeux E, et al. Gynecol Obstet Fertil 2016 [Epub in anticipo sulla stampa].
- [115] Van Calster B, et al. Eur J Epidemiol 2012; 27: 761-70.
- [116] Timmerman D, et al. Ultrasound Obstet Gynecol 2000; 16: 500-505.
- [117] Bige O, et al. *Frozen section diagnoses of 578 ovarian tumors made by pathologists with and without expertise on gynecologic pathology*. Gynecol Oncol. 2011; 123:43-6
- [118] Baker P, et al. *A practical approach to intraoperative consultation in gynecological pathology*. Int J Gynecol Pathol. 2008 Jul;27:353-65
- [119] Zannoni GF. *The frozen section in ovarian pathology*. Congresso Annuale di Anatomia Patologica SIAPEC-IAP, Firenze, 25-27 ottobre 2012 13
- [120] Kim JH, et al. *Clinical analysis of intra-operative frozen section proven borderline tumors of the ovary*. J Gynecol Oncol. 2009; 20:176-18
- [121] Li M, et al. *Analysis of diagnosis accuracy of frozen sections in 73 cases of borderline tumor of ovary*. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. 2009; 38:106-109
- [122] Brun JL, et al. *Factors influencing the use and accuracy of frozen section diagnosis of epithelial ovarian tumors*. Am J Obstet Gynecol. 2008;199:244
- [123] Storms AA, et al. *Mucinous tumors of the ovary: diagnostic challenges at frozen section and clinical implications*. Gynecol Oncol. 2012;125:75-9
- [124] Seidman JD, et al. *Primary and metastatic mucinous adenocarcinomas in the ovaries. Incidence in routine practice with a new approach to improve intraoperative diagnosis*. The American Journal of Surgical Pathology 2003;27:985-993

- [125] W. Pornsawan et al. *The accuracy of intraoperative frozen sections in the diagnosis of ovarian tumors*. J Med Assoc Thai 2008; 91 (12):1791-5.
- [126] Cross P.A. et al.: *Intraoperative frozen section analysis for suspected early-stage ovarian cancer: 11 years of Gated Cancer Centre experience*. Published online 2011.
- [127] American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin. *Management of adnexal masses*. Obstet Gynecol 2007;110:201-14.
- [128] National Comprehensive Cancer Network (NCCN) *Clinical Practice Guidelines in Oncology of Ovarian Cancer* 2009. Version 2.
- [129] Ovarian cancer: *the recognition and initial management of ovarian cancer*. Developed for NICE by the National Collaborating Centre for Cancer. Cardiff: National Collaborating Centre for Cancer, 2011.
- [130] Heintz AP, Odicino F, Maisonneuve P, et al. *Carcinoma of the ovary. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer*. Int J Gynaecol Obstet 2006;95(suppl 1):S161-92.
- [131] Bast RC Jr. *Status of tumor markers in ovarian cancer screening*. J Clin Oncol 2003;21(suppl):200s-5s.
- [132] Timmerman et al., 2005; Van Holsbeke et al., 2009; Van Calster et al., 2012; Kaijser et al., 2014
- [133] Fagotti, A., et al., *Phase III randomised clinical trial comparing primary surgery versus neoadjuvant chemotherapy in advanced epithelial ovarian cancer with high tumour load (SCORPION trial): Final analysis of peri-operative outcome*. Eur J Cancer, 2016. **59**: p. 22- 33.
- [134] Fagotti, A., et al., *A multicentric trial (Olympia-MITO 13) on the accuracy of laparoscopy to assess peritoneal spread in ovarian cancer*. Am J Obstet Gynecol, 2013. **209**(5): p. 462 e1-462 e11.
- [135] Trimbos, B., et al., *Surgical staging and treatment of early ovarian cancer: long-term analysis from a randomized trial*. J Natl Cancer Inst, 2010. **102**(13): p. 982-7.
- [136] Berek, J.S., C. Crum, and M. Friedlander, *Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum*. Int J Gynaecol Obstet, 2012. **119 Suppl 2**: p. S118-29.
- [137] Ledermann, J.A., et al., *Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*.

Ann Oncol, 2013. **24 Suppl 6**: p. vi24-32

[138] Lago, V., L. Minig, and C. Fotopoulou, *Incidence of Lymph Node Metastases in Apparent Early-Stage Low-Grade Epithelial Ovarian Cancer: A Comprehensive Review*. Int J Gynecol Cancer, 2016. **26**(8): p. 1407-14.

[139] Bogani, G., et al., *Assessing the risk of pelvic and para-aortic nodal involvement in apparent early-stage ovarian cancer: A predictors- and nomogram-based analyses*. Gynecol Oncol, 2017. **147**(1): p. 61-65.

[140] Ledermann, J.A., et al., *Gynecologic Cancer InterGroup (GCIG) consensus review for mucinous ovarian carcinoma*. Int J Gynecol Cancer, 2014. **24**(9 Suppl 3): p. S14-9.

[141] Vergote, I., et al., *Prognostic importance of degree of differentiation and cyst rupture in stage I invasive epithelial ovarian carcinoma*. Lancet, 2001. **357**(9251): p. 176-82

[142] Trimbos, J.B., et al., *International Collaborative Ovarian Neoplasm trial 1 and Adjuvant ChemoTherapy In Ovarian Neoplasm trial: two parallel randomized phase III trials of adjuvant chemotherapy in patients with early-stage ovarian carcinoma*. J Natl Cancer Inst, 2003. **95**(2): p. 105-12.

[143] Lawrie, T.A., et al., *Adjuvant (post-surgery) chemotherapy for early stage epithelial ovarian cancer*. Cochrane Database Syst Rev, 2015(12): p. CD004706.

[144] Cont, N.T., et al., *Medical treatment of early stage and rare histological variants of epithelial ovarian cancer*. Ecancermedicalsecience, 2015. **9**: p. 584.

[145] Oseledchyk, A., et al., *Adjuvant chemotherapy in patients with stage I endometrioid or clear cell ovarian cancer in the platinum era: a Surveillance, Epidemiology, and End Results Cohort Study, 2000-2013*. Ann Oncol, 2017. **28**(12): p. 2985-2993.

[146] Umezu, T., et al., *Taxol resistance among the different histological subtypes of ovarian cancer may be associated with the expression of class III beta-tubulin*. Int J Gynecol Pathol, 2008. **27**(2): p. 207-12.

[147] Bell, J., et al., *Randomized phase III trial of three versus six cycles of adjuvant carboplatin and paclitaxel in early stage epithelial ovarian carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study*. Gynecol Oncol, 2006. **102**(3): p. 432-9.

[148] Mannel, R.S., et al., *A randomized phase III trial of IV carboplatin and paclitaxel*

- x 3 courses followed by observation versus weekly maintenance low-dose paclitaxel in patients with early-stage ovarian carcinoma: a Gynecologic Oncology Group Study.* Gynecol Oncol, 2011. **122**(1): p. 89-94.
- [149] Bristow, R.E., et al., *Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis.* J Clin Oncol, 2002. **20**(5): p. 1248-59.
- [150] Allen, D.G., A.P. Heintz, and F.W. Touw, *A meta-analysis of residual disease and survival in stage III and IV carcinoma of the ovary.* Eur J Gynaecol Oncol, 1995. **16**(5): p. 349-56.
- [151] Dahm-Kahler, P., et al., *Centralized primary care of advanced ovarian cancer improves complete cytoreduction and survival - A population-based cohort study.* Gynecol Oncol, 2016. **142**(2): p. 211-6.
- [152] van der Burg, M.E., et al., *The effect of debulking surgery after induction chemotherapy on the prognosis in advanced epithelial ovarian cancer. Gynecological Cancer Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer.* N Engl J Med, 1995. **332**(10): p. 629-34.
- [153] Rose, P.G., et al., *Secondary surgical cytoreduction for advanced ovarian carcinoma.* N Engl J Med, 2004. **351**(24): p. 2489-97.
- [154] Cowan, R.A., et al., *A comparative analysis of prediction models for complete gross resection in secondary cytoreductive surgery for ovarian cancer.* Gynecol Oncol, 2017. **145**(2): p. 230-235.
- [155] van de Laar, R., et al., *External validation of two prediction models of complete secondary cytoreductive surgery in patients with recurrent epithelial ovarian cancer.* Gynecol Oncol, 2015. **137**(2): p. 210-5.
- [156] Janco, J.M., et al., *Performance of AGO score for secondary cytoreduction in a high-volume U.S. center.* Gynecol Oncol, 2016. **141**(1): p. 140-7.
- [157] Harter, P., et al., *Surgery in recurrent ovarian cancer: the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie (AGO) DESKTOP OVAR trial.* Ann Surg Oncol, 2006. **13**(12): p. 1702-10
- [158] Chi, D.S., et al., *Guidelines and selection criteria for secondary cytoreductive surgery in patients with recurrent, platinum-sensitive epithelial ovarian carcinoma.* Cancer, 2006. **106**(9): p. 1933-9.

- [159] Felsing, M., et al., *Secondary cytoreductive surgery - viable treatment option in the management of platinum-sensitive recurrent ovarian cancer*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2018. **228**: p. 154-160.
- [160] Petrillo, M., et al., *Long-Term Survival for Platinum-Sensitive Recurrent Ovarian Cancer Patients Treated with Secondary Cytoreductive Surgery Plus Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy (HIPEC)*. Ann Surg Oncol, 2016. **23**(5): p. 1660-5.
- [161] *Ledermann et al., 2013; RCP Avastin, 2017*
- [162] *RCP Avastin, 2017*
- [163] *RCP Lynparza, 2014*
- [164] Macmillan, 2016a
- [165] Lee SW, Park SM, Kim YM, et al. Radiation Therapy is a treatment to be considered for recurrent epithelial ovarian cancer after chemotherapy. Tumori, 97: 590-595, 2011
- [166] Potters L, Kavanagh B, Galvin JM, Hevezi JM, Janjan NA, Larson DA, Mehta MP, Ryu S, Steinberg M, Timmerman R, Welsh JS, Rosenthal SA; American Society for Therapeutic Radiology and Oncology; American College of Radiology. American Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ASTRO) and American College of Radiology (ACR) practice guideline for the performance of stereotactic body radiation therapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2010;76(2):326-32.
- [167] Garcia-Barros M, Paris F, Cordon-Cardo C, Lyden D, Rafii S, Haimovitz-Friedman A, Fuks Z, Kolesnick R. Tumor response to radiotherapy regulated by endothelial cell apoptosis. Science. 2003;300(5622):1155-9.
- [168] Gruppo di Studio AIRO Tosco Umbro. La radioterapia stereotassica nel trattamento della malattia oligometastatica – Position paper; 2019.
- [169] Trimbos, J.B., et al., *International Collaborative Ovarian Neoplasm trial 1 and Adjuvant ChemoTherapy In Ovarian Neoplasm trial: two parallel randomized phase III trials of adjuvant chemotherapy in patients with early-stage ovarian carcinoma*. J Natl Cancer Inst, 2003. **95**(2): p. 105-12.
- [170] Rustin, G.J., et al., *Early versus delayed treatment of relapsed ovarian cancer (MRC OV05/EORTC 55955): a randomised trial*. Lancet, 2010. **376**(9747): p. 1155-63.
- [171] Gadducci, A., et al., *Are surveillance procedures of clinical benefit for patients treated for ovarian cancer?: A retrospective Italian multicentric study*. Int J Gynecol

Cancer, 2009. **19**(3): p. 367-74.

[172] von Georgi, R., et al., *Post-therapy surveillance and after-care in ovarian cancer.*

Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2004. **114**(2): p. 228-33.

[173] Pignata, S., et al., *Follow-up with CA125 after primary therapy of advanced ovarian cancer: in favor of continuing to prescribe CA125 during follow-up.* Ann Oncol, 2011.

[174] Bentivegna, E., et al., *Long-term follow-up of patients with an isolated ovarian recurrence after conservative treatment of epithelial ovarian cancer: review of the results of an international multicenter study comprising 545 patients.* Fertil Steril, 2015. **104**(5): p. 1319- 24.

[175] Tanner, E.J., et al., *Surveillance for the detection of recurrent ovarian cancer: survival impact or lead-time bias?* Gynecol Oncol, 2010. **117**(2): p. 336-40.

[176] Bhosale, P., et al., *Clinical utility of positron emission tomography/computed tomography in the evaluation of suspected recurrent ovarian cancer in the setting of normal CA-125 levels.* Int J Gynecol Cancer, 2010. **20**(6): p. 936-44.

[177] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008. CA Cancer J Clin. 2008;58:71–96.

[178] Chan JK, Teoh D, Hu JM, et al. *Do clear cell ovarian carcinomas have poorer prognosis compared to other epithelial cell types? A study of 1411 clear cell ovarian cancers.* Gynecol Oncol. 2008;109:370.

[179] Heintz APM, Odicino F, Maisonneuve P, et al. Carcinoma of the ovary. FIGO 26th annual report on the results of treatment in gynecological Cancer. Int J Gynaecol Obstet. 2006;95(Suppl 1):S161–92.

[180] Zeppernick F, Meinhold-Heerlein I. *The new FIGO staging system for ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer.* Arch Gynecol Obstet. 2014;290:839–42.

[181] Enakpene CA, Omigbodun AO, Goecke TW, et al. *Preoperative evaluation and triage of women with suspicious adnexal masses using risk of malignancy index.* J Obstet Gynaecol Res. 2009;35:131–8.

[182] Brun J-L, Fritel X, Levêque J. *Recommandations pour la pratique clinique: tumeurs ovariennes présumées bénignes – Objectifs, méthodes et organisation.* J Gynecol Obstet Biol Reprod. 2013;42:710.

- [183] Urban N, McIntosh MW, Andersen M, Karlan BY. *Ovarian cancer screening*. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2003;17:989–1005 ix.
- [184] Buamah P. *Benign conditions associated with raised serum CA-125 concentration*. *J Surg Oncol*. 2000;75:264–5.
- [185] Hellström I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, et al. *The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma*. *Cancer Res*. 2003;63:3695–700.
- [186] Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y, et al. *Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas*. *Cancer Res*. 2005;65:2162–9.
- [187] Ferraro S, Braga F, Lanzoni M, et al. *Serum human epididymis protein 4 vs carbohydrate antigen 125 for ovarian cancer diagnosis: a systematic review*. *J Clin Pathol*. 2013;66:273–81.
- [188] Wang J, Gao J, Yao H, et al. *Diagnostic accuracy of serum HE4, CA125 and ROMA in patients with ovarian cancer: a meta-analysis*. *Tumour Biol*. 2014; 35:6127–38.
- [189] Zhen S, Bian L-H, Chang L-L, Gao X. *Comparison of serum human epididymis protein 4 and carbohydrate antigen 125 as markers in ovarian cancer: a meta-analysis*. *Mol Clin Oncol*. 2014;2:559–66.
- [190] Moore RG, Brown AK, Miller MC, et al. *The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvi mass*. *Gynecol Oncol*. 2008;108:402–8.
- [191] Andersen MR, Goff BA, Lowe KA, et al. *Use of a symptom index, CA125, and HE4 to predict ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*. 2010;116:378–83.
- [192] Anastasi E, Granato T, Falzarano R, et al. *The use of HE4, CA125 and CA72-4 biomarkers for differential diagnosis between ovarian endometrioma and epithelial ovarian cancer*. *J Ovarian Res*. 2013;6:44.
- [193] Zhao T, Hu W. *CA125 and HE4: measurement tools for ovarian Cancer*. *Gynecol Obstet Investig*. 2016;81:430–5.
- [194] Jacobs I, Oram D, Fairbanks J, et al. *A risk of malignancy index incorporating CA 125, ultrasound and menopausal status for the accurate preoperative diagnosis of ovarian cancer*. *Br J Obstet Gynaecol*. 1990;97:922–9.

- [195] Van Holsbeke C, Van Calster B, Bourne T, et al. *External validation of diagnostic models to estimate the risk of malignancy in adnexal masses*. Clin Cancer Res. 2012;18:815–25.
- [196] Meys EMJ, Kaijser J, Kruitwagen RFPM, et al. *Subjective assessment versus ultrasound models to diagnose ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis*. Eur J Cancer. 2016;58:17–29.
- [197] Van Gorp T, Veldman J, Van Calster B, et al. *Subjective assessment by ultrasound is superior to the risk of malignancy index (RMI) or the risk of ovarian malignancy algorithm (ROMA) in discriminating benign from malignant adnexal masses*. Eur J Cancer. 2012;48:1649–56.
- [198] Moore RG, McMeekin DS, Brown AK, et al. *A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass*. Gynecol Oncol. 2009;112:40.
- [199] Chudecka-Głaz AM. *ROMA, an algorithm for ovarian cancer*. Clin Chim Acta. 2014;440C:143–51.
- [200] Wilailak S, Chan KK, Chen CA, et al. *Distinguishing benign from malignant pelvic mass utilizing an algorithm with HE4, menopausal status, and ultrasound findings*. J Gynecol Oncol. 2015;26:46–53.
- [201] Kaijser J, Van Belle V, Van Gorp T, et al. *Prognostic value of serum HE4 levels and risk of ovarian malignancy algorithm scores at the time of ovarian cancer diagnosis*. Int J Gynecol Cancer. 2014;24:1173–80.
- [202] Wei SU, Li H, Zhang B. *The diagnostic value of serum HE4 and CA-125 and ROMA index in ovarian cancer*. Biomed Rep. 2016;5:41–4.
- [203] Plebani M. HE4 study group. *HE4 in gynecological cancers: report of a European investigators and experts meeting*. Clin Chem Lab Med. 2012;50:2127–36.
- [204] Bolstad N, Øijordsbakken M, Nustad K, Bjerner J. *Human epididymis protein 4 reference limits and natural variation in a Nordic reference population*. Tumour Biol. 2012;33:141–8.
- [205] Moore RG, Miller MC, Eklund EE, et al. *Serum levels of the ovarian cancer biomarker HE4 are decreased in pregnancy and increase with age*. Am J Obstet Gynecol. 2012;206:349.e1–7.

- [206] Karlsen MA, Høgdall EVS, Christensen IJ, et al. *A novel diagnostic index combining HE4, CA125 and age may improve triage of women with suspected ovarian cancer - an international multicenter study in women with an ovarian mass.* *Gynecol Oncol.* 2015;138:640–6.
- [207] Chudecka-Głaz A, Cymbaluk-Płoska A, Jastrzębska J, Menkiszak J. *Can ROMA algorithm stratify ovarian tumor patients better when being based on specific age ranges instead of the premenopausal and postmenopausal status?* *Tumour Biol.* 2016;37:8879–87.
- [208] Timmerman D, Van Calster B, Jurkovic D, Valentin L, Testa AC, Bernard JP, et al. *Inclusion of CA-125 does not improve mathematical models developed to distinguish between benign and malignant adnexal tumors.* *J Clin Oncol* 2007;25:4194-200.
- [209] Ben Van Calster, Lil Valentin, Wouter Froyman, Chiara Landolfo, Jolien Ceusters, Antonia C Testa, Laure Wynants, Povilas Sladkevicius, Caroline Van Holsbeke, Ekaterini Domali, Robert Fruscio, Elisabeth Epstein, Dorella Franchi, Marek J Kudla, Valentina Chiappa, Juan L Alcazar, Francesco P G Leone, Francesca Buonomo, Maria Elisabetta Coccia, Stefano Guerriero, Nandita Deo, Ligita Jokubkiene, Luca Savelli, Daniela Fischerova, Artur Czekierdowski, Jeroen Kaijser, An Coosemans, Giovanni Scambia, Ignace Vergote, Tom Bourne, Dirk Timmerman. *Validation of models to diagnose ovarian cancer in patients managed surgically or conservatively: multicentre cohort study.* *BMJ*2020;370:m2614
- [210] Massimo Gion, Tiziano Maggino. *Biomarcatori nella diagnosi del carcinoma dell'ovaio: dialogo fra un patologo clinico e un ginecologo oncologo.* 2013
- [211] Robert J. Kurman and Ie-Ming Shih. *The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis. Revisited, Revised, and Expanded.* *The American Journal of Pathology*, Vol. 186, No. 4, April 2016
- [212] Maria Lycke, Benjamin Ulfenborg, Björg Kristjansdottir and Karin Sundfeldt. *Increased Diagnostic Accuracy of Adnexal Tumors with A Combination of Established Algorithms and Biomarkers.* *Journal of Clinical Medicine*, 2020.
- [213] Maciej Stukan, Michał Badocha and Karol Ratajczak. *Development and validation of a model that includes two ultrasound parameters and the plasma D-dimer level for predicting malignancy in adnexal masses: an observational study.* *BMC Cancer*, 2019.

Sitografia

[I] AIOM [http://www.registri-](http://www.registri-tumori.it/PDF/AIOM2016/I_numeri_del_cancro_2016.pdf)

[tumori.it/PDF/AIOM2016/I_numeri_del_cancro_2016.pdf](http://www.registri-tumori.it/PDF/AIOM2016/I_numeri_del_cancro_2016.pdf)

[II] <https://www.irccs.com/it/node/108>

[III] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4402441/figure/F1/>

[IV] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/core/lw/2.0/html/tileshop_pmc/tileshop_pmc_inline.html?title=Click%20on%20image%20to%20zoom&p=PMC3&id=4402441_FVVinObGyn-7-32-41-g002.jpg

[V] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/core/lw/2.0/html/tileshop_pmc/tileshop_pmc_inline.html?title=Click%20on%20image%20to%20zoom&p=PMC3&id=4402441_FVVinObGyn-7-32-41-g005.jpg

[VI] <https://www.radioterapiaitalia.it/linee-guida-raccomandazioni/raccomandazioni-e-position-paper.it>