



# UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

Dottorato di ricerca in Scienze Ostetriche e Ginecologiche

Ciclo XXII

**Immunoistochimica della tirosin fosfatasi SHP1  
nell'adenocarcinoma endometriale. Dati preliminari**

Coordinatore:  
Chiar.mo Prof. Alberto Bacchi Modena

Tutor:  
Chiar.mo Prof.ssa Carla Merisio

Dottorando: Roberto Berretta

## **INTRODUZIONE**

Il carcinoma endometriale è la più comune neoplasia invasiva ginecologica, con una incidenza di circa 33000 nuovi casi/anno, costituisce il 7% dei tumori della donna, inferiore come frequenza solo al carcinoma della mammella, intestino e polmone. Complessivamente il 2-3% delle donne si ammalerà di carcinoma endometriale nel corso della vita<sup>1</sup>.

I fattori di rischio identificati per il carcinoma endometriale comprendono: 1) fattori costituzionali: bassa parità, obesità, ipertensione e diabete mellito 2) dieta: eccessiva introduzione di proteine animali e grassi animali. 3) fattori genetici: a) Lynch II [ carcinoma del colon non associato a poliposi, carcinoma ovarico ed endometriale] b) sindrome del carcinoma endometriale familiare.

In base all'epidemiologia, alla presentazione clinica e al comportamento biologico si distinguono due tipi di carcinoma endometriale: estrogeno dipendente ( Tipo 1) tipico di donne più giovani, in perimenopausa, in genere di basso grado, con comportamento biologico più indolente negli stadi iniziali, correlato con una stimolazione estrogenica non bilanciata ed estrogeno indipendente ( Tipo 2), più aggressivo, tipico di donne più anziane in post menopausa.

Il trattamento dell'adenocarcinoma endometriale è passato da un programma d'isterectomia preceduta o seguita da radioterapia ad una singola sessione di brachiterapia seguita immediatamente dall'isterectomia, fino ad un approccio individualizzato che prevede l'isterectomia come terapia primaria impiegando quindi

trattamenti aggiuntivi (radio-chemioterapia) sulla base dei riscontri anatomico-chirurgici.

La chirurgia rappresenta comunque il cornerstone della terapia del carcinoma endometriale, indipendentemente dall'età. Secondo la FIGO ( International Federation of Gynecology and Obstetrics) la stadiazione anatomico-chirurgica dovrebbe includere l'isterectomia totale con annessiectomia bilaterale e la linfadenectomia pelvica e lombo-aortica<sup>2</sup>.

Il ciclo cellulare è un evento geneticamente controllato nel quale si succedono eventi coordinati e dipendenti tra loro. Gli aspetti molecolari che controllano il ciclo cellulare sono ordinati e direzionali: ogni processo è la conseguenza dell'evento precedente ed è la causa di quello successivo. Molti sono i geni coinvolti nella progressione del ciclo cellulare. Nelle cellule eucariotiche la progressione attraverso le varie fasi del ciclo cellulare risulta essere finemente regolata dalle chinasi ciclina-dipendenti o CDK (Cyclin-dependent Kinases) una famiglia di protein chinasi la cui attività dipende dalla loro associazione con delle subunità proteiche dette ciclina: proteine instabili, sintetizzate e degradate periodicamente, che si accumulano in fasi del ciclo specifiche e che non solo attivano le CDK, ma ne determinano anche la specificità di substrato. In questo senso le tirosin-chinasi (PTKs) sono proteine che svolgono un ruolo cruciale nella regolazione della cinetica cellulare. I processi di tirosin-fosforilazione sono delle vie di comunicazione nelle cellule eucariotiche utilizzate in differenti processi: comunicazione intra e transcellulare, differenziazione, motilità, proliferazione/apoptosi cellulare, trascrizione genica, codifica di m-RNA.

Le PTKs svolgono anche un ruolo fondamentale nell' embriogenesi e nell' organogenesi, nell'omeostasi tissutale e nella coordinazione del sistema immunitario<sup>3</sup>.

Si distinguono tirosin-chinasi recettoriali e non-recettoriali, classificate in base all'oncogene dal quale derivano. I recettori tirosin-chinasi sono proteine che presentano un solo dominio transmembrana, dotate di attività chinastica intrinseca.

Tra questi grande rilievo hanno PDGFR, IGFR, EGFR e VEGFR.

Le tirosin-chinasi citoplasmatiche coinvolte nella trasmissione del segnale comprendono essenzialmente dieci famiglie, tra cui Src, Abl e Jak, che hanno suscitato particolare interesse da parte dei gruppi di ricerca. Al contrario di quanto avviene nelle cellule normali, dove funzionano soprattutto chinasi proteiche, quali serina- e treonina-chinasi, e dove le tirosin-chinasi sono quasi inesistenti, nelle cellule tumorali il livello di attività tirosin-chinastica può aumentare di 10-20 volte<sup>3</sup>.

Accanto alla fosforilazione dei residui tirosinici operata dalle kinasi, sono presenti anche proteine ad azione defosforilizzante le protein tyrosine fosfatasi (PTPs). Il processo di defosforilazione e fosforilazione dei residui tirosinici configura un equilibrio dinamico nei sistemi biologici. Ogni deviazione in questa omeostasi, dovuta sia ad un aumento dell'attività di segnale delle PTK che ad una diminuita attività delle PTPs può portare ad un accumulo intracellulare di proteine fosforilate con conseguente abnorme proliferazione cellulare, risultando uno dei promoter della carcinogenesi<sup>4-7</sup>). Le PTPs infatti sin dalla loro scoperta sono state indicate come importanti oncosoppressori in antagonismo col potenziale oncogenico delle PTKs.

La SRC homolog phosphatases (SHP) 2 e il suo omologo SHP-1, sono fosfotirosin-fosfasi intracitoplasmatiche che giocano un ruolo chiave nella regolazione delle citokine/protein tirosin chinasi implicate nella replicazione cellulare sia di cellule normali che cancerizzate<sup>8-11</sup>. La SHP-1 è espressa fisiologicamente nelle cellule emopoietiche, laddove svolge un ruolo di regolatore dell'espressione di alcune citokine quali: IL-3R, PDGF, EGF receptors, e altri recettori tyrosin kinasi<sup>12-14</sup>

La SHP-1 si lega agli immunorecettori tirosinici determinando l'inibizione di recettori come il CD22, CD72, fcγRIIB, p70-NKB1 e KIR, attraverso i suoi domini SH2 defosforila le proteine a valle della cascata portando all'inattivazione dell'apoptosi<sup>15</sup>

La disfunzione di SHP-1, conseguentemente, è stata ritenuta implicata nella patogenesi di linfomi e leucemie<sup>16</sup>. Se nei tumori emopoietici il ruolo della SHP1 è abbastanza chiaro, nei tumori solidi il suo studio è ancora agli albori. Insabato<sup>17</sup> ha correlato positivamente l'ipo-espressione di SHP1 col carcinoma della mammella e Zapata<sup>18</sup> col cancro della prostata .

Allo stato attuale nessun lavoro ha preso in considerazione l'attività di SHP-1 nel carcinoma endometriale.

Scopo di questo lavoro è stato quello di valutare l'espressione di tale proteina nei tumori endometriali sia di tipo 1 che 2 in differenti stadi clinici.

## **MATERIALI E METODI**

Lo studio condotto in collaborazione tra l'unità operativa complessa di Ginecologia e Ostetricia ed il Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Sezione di Anatomia Patologica dell'Università degli Studi di Parma, ha preso in considerazione 66 pazienti con diagnosi istologica di adenocarcinoma dell'endometrio dal 1998 al 2007. La diagnosi istologica è stata ottenuta in 21 (32%) pazienti tramite Vabra, in 38 (57%) tramite D&C e in 7 (11%) casi tramite biopsia isteroscopica mirata. Tutte le pazienti sono state stadiate pre-operatoriamente con RX torace, TAC addomino pelvica, ecografia transvaginale e dosaggio del Ca 125 al fine di valutare eventuali localizzazioni a distanza, adenomegalie e l'infiltrazione miometriale e cervicale. Tutte le pazienti sono state stadiate chirurgicamente in accordo alle direttive FIGO. Prima di intraprendere l'indagine molecolare tutti i vetrini sono stati ricontrollati da un unico anatomo-patologo con specifica competenza nella ginecopatologia.

Tutte le pazienti sono state seguite in follow-up clinico strumentale per almeno 36 mesi (range 36-140).

Tutti i preparati sono stati fissati e inclusi in formalina.

Le sezioni istologiche sono state ottenute con tagli a 4 micron e colorate come di routine con l'ematossilina-eosina per la diagnosi istologica, la valutazione dell'istotipo, del Grading e dello stadio della malattia (FIGO).

Ulteriori sezioni della neoplasia sono state tagliate per l'esecuzione dell'analisi immunohistochimica.

## ***STUDIO IMMUNOISTOCHIMICO***

Le reazioni immunoistochimiche sono state eseguite impiegando la tecnica dell'immunoperossidasi, mediante l'utilizzo di catene polimeriche (Dako, ADVANCE, HRP). Le sezioni di tessuto sono state incubate con l'anticorpo monoclonale primario SHP1 (c-term, rabbit dil. 1 : 100, ditta Epitomics). E' stato necessario sottoporre le sezioni a smascheramento antigenico mediante bagno termostato a 98° C per 30 minuti con tampone EDTA a Ph9.

I siti di legame sono stati individuati con 3,3' diaminobenzidina (DAB) come substrato cromogeno, infine le sezioni sono state controcolorate con l'ematossilina di Harrys.

Al fine di ridurre i possibili falsi negativi ed assicurare una corretta verifica della correttezza dell'indagine immunoistochimica, anche nei casi risultati negativi, le ghiandole endometriali normali circostanti la neoplasia e l'infiltrato infiammatorio leucocitario peritumorale, che fisiologicamente esprimono la proteina SHP1, sono stati considerati come controlli positivi (*controllo interno*).

## **ANALISI IMMUNOISTOCHEMICA DELLE NEOPLASIE**

La valutazione della reazione immunistochemica è stata valutata al microscopio in diverse aree della neoplasia. Nelle sezioni dove erano presenti diversi gradi di differenziazione, la colorazione immunistochemica è stata valutata in ciascuna di essa. L'intensità della reazione immunistochemica è stata classificata di tipo 3 se della stessa intensità del controllo positivo (linfociti o ghiandole endometriali normali), tipo 2 se lievemente ridotta rispetto a quella del controllo positivo, tipo 1 se notevolmente ridotta e 0 se completamente negativa.

## **ANALISI STATISTICA**

L'immuno-istochimica, il Grading della neoplasia, lo stadio FIGO, la sopravvivenza, l'eventuali recidive e l'istotipo tumorale sono stati codificati con codice numerico

La correlazione è stata cercata fra: Grading, Stadio FIGO, Istotipo tumorale, sopravvivenza-recidiva e l'espressione della SHP1 attraverso il test del Chi quadrato

Le curve di sopravvivenza a multiple variabile sono state ottenute mediante il test di Kaplan Mayer.

Il software statistico utilizzato è stato SPSS 11.0. (SPSS Inc., Chicago, IL).



## RISULTATI

Le pazienti analizzate dal 1998 al 2007 sono state 66, di queste 38 (57%) presentavano un istotipo endometrioidale (Tipo I), 28 (43%) un istotipo sieroso o a cellule chiare ( Tipo II), la suddivisione per stadio FIGO ha evidenziato 51 (77%) pazienti al I stadio, 5 (7%) al II, 8 (13%) al III e 2 (3%) al IV stadio, la stratificazione per grading era: 23 (35,5%) ADK G1, 36 (35,5%) G2 e 20 (29%) G3. Le pazienti sottoposte a terapia adiuvante sono state 27 (41%), di queste 14 (52%) hanno eseguito terapia radiante, 9 (33%) chemioterapia e 4 (15%) chemioradio concomitante. La determinazione della SHP1 suddivisa nei 4 score ( 0: proteina assente, 3 proteina ben rappresentata) era: 0 in 15 (23%) pazienti, 1 in 17 ( 26%), 2 in 21 (32%), 3 in 13 (19%) pazienti.

La correlazione tra SHP1 e Istotipo (Tabella 1) ha evidenziato per gli adenocarcinomi di Tipo I che in 6 (16%) casi la proteina era assente, in 8 (21%) scarsamente espressa, in 14 (37%) moderatamente presente e in 10 (26%) fortemente espressa. Per i tumori di Tipo II in 9 casi (32 %) la SHP1 era assente, in 9 (32%) scarsamente espressa, in 7 (25%) moderatamente presente e in 3 (11%) fortemente espressa.

Correlando grading e SHP1 abbiamo riscontrato: nei tumori G1 la proteina era assente, in 6 casi (26%) era espressa debolmente, in 9 casi (39%) moderatamente e in 8 (35%) fortemente espressa. Nei tumori G2 6 casi (26%) non esprimevano la fosfatasi, 6 casi (26%) la esprimevano in maniera debole, in 9 (39%) moderatamente e 2 (9%) fortemente.

Nelle neoplasie G3 in 9 casi (45%) nessuna positività, in 5 (25%) debole positività, in 3 (15%) moderata e in 3 (15%) forte (tabella 2)

Comparando stadio FIGO ed espressione di SHP1 (tabella 3) abbiamo riscontrato i seguenti dati: per le neoplasie al I stadio si riscontrava l'assenza della proteina in 11 casi (21%), la debole espressione in 12 (24%), moderata espressione in 16 (31%) e un'alta espressione in 12 (24%).

Per le neoplasie al secondo stadio in 2 casi (40%) la proteina era assente, in nessun caso era espressa debolmente o fortemente, in 3 casi invece era presente in maniera moderata.

Negli stadi 3 di malattia in funzione dell'espressione di SHP1 è risultato che 2 pazienti (25%) non presentassero espressione di SHP1, 5 (62%) espressione debole, 1 (13%) moderata e nessun caso la proteina era fortemente espressa.

Infine nei quarti stadi in nessun caso era assente o debolmente espressa mentre in 1 caso (50%) era moderatamente e fortemente espressa.

La valutazione statistica di tali valutazioni ha evidenziato significatività  $p < 0.5$  solo per la correlazione G- Stadio e SHP1. Gli altri parametri, comprese la correlazione tra recidiva/ morte ed espressione di SHP1 pur risultando a inversamente proporzionale non raggiunge il valori di significatività ( $p=0,6$  e  $p=0.7$  rispettivamente).

## DISCUSSIONE

Il ruolo delle proteine fosfatasi negli ultimi anni ha suscitato vivo interesse, è infatti stato ormai dimostrato come una mutazione della SHP-1 nelle cellule emopoietiche e nelle cellule ghiandolari di alcuni tumori solidi, sia correlata con l'insorgenza di leucemie e linfomi<sup>19</sup>.

Nelle neoplasie emopoietiche SHP-1 gioca un ruolo chiave mantenendo l'equilibrio tra processi di fosforilazione/ defosforilazione contribuendo all'omeostasi del ciclo cellulare. E' probabile infatti che SHP-1 agendo a livello del recettore di membrana INFa/b, del recettore EPO e di altri substrati tipo JAK sia in grado di regolare il segnale di traduzione mediato da JAK/STAT bloccando la proliferazione cellulare<sup>20-21</sup>. Nei tumori solidi SHP-1 è stata anche associata alla modulazione dell'espressione di fattori di crescita come epidermal growth factor receptor (EGFR), platelet-derived growth factor receptor (PDGFR), vascular endothelial growth factor (VEGF), interleukin-3 receptor (IL-3R) e IL-6<sup>22-23</sup>, questi fattori sembrano infatti implicati verosimilmente nella patogenesi del carcinoma della mammella, della prostata, dell'ovaio e dell'endometrio attraverso una loro up-regulation.

Tassidis<sup>24</sup> et al hanno dimostrato come nel carcinoma prostatico il diminuiti livelli di SHP-1 sono associati significativamente con un intervallo libero da malattia statisticamente ridotto rispetto ai controlli con normale espressione della proteina.

Insabato et al<sup>17</sup> hanno confermato nel carcinoma duttale della mammella dati analoghi rivelando una correlazione sia in termine di DFS (disease free survival) che OS (Overall Survival) tra SHP-1 e neoplasia.

Dai nostri dati, per ora preliminari in quanto eseguiti solo sul 50% del campione disponibile, è emerso che l'espressione di SHP-1 non è correlata significativamente né con l'istotipo ( endometrioides Vs sieroso) né con lo stadio FIGO. L'analisi sui dati di sopravvivenza e recidiva non hanno mostrato correlazione con SHP-1.

E' invece risultata statisticamente significativa l'associazione SHP-1 e Grading( livelli di SHP-1 più bassi nelle forme G3), e come già ampiamente documentato dalla letteratura è risultato significativa la correlazione tra G, stadio e sopravvivenza ( G3 e stadio avanzato: poor prognosis)<sup>25</sup>.

In conclusione una drastica riduzione nell' espressione della proteina SHP1 è stata documentata in gran parte dei tumori linfociti-correlati, ed una sua diminuzione è stata trovata in alcuni tumori non-linfociti-correlati.

La ridotta o abolita espressione di SHP-1 potrebbe essere dovuta ad una mutazione del gene SHP-1, alla metilazione della regione promoter del gene SHP-1 o ad una sua down regulation post recettoriale con ridotta sintesi della proteina.

Nel loro insieme, SHP-1 svolge un ruolo importante nella patogenesi di una vasta gamma di tumori tra cui il linfoma / leucemia, cancro al seno, cancro ovarico, cancro alla prostata e il cancro del pancreas. Questi risultati suggeriscono il valore potenziale di SHP-1 gene come bersaglio per la terapia nei pazienti oncologici. Riteniamo che il presente studio nonostante i primi dati parziali non incoraggianti possa, una volta conclusa l'analisi di tutti i casi selezionati, portare alla luce un risultati significativi.

## TABELLE

	<b>Istotipo I n:38</b>	<b>Istotipo II n:28</b>
<b>SHP1 :0</b>	<i>6 (16%)</i>	<i>9 (32%)</i>
<b>SHP1: 1</b>	<i>8 (21%)</i>	<i>9 (32%)</i>
<b>SHP1: 2</b>	<i>14 (37%)</i>	<i>7 (25%)</i>
<b>SHP1: 3</b>	<i>10 (26%)</i>	<i>3 (11%)</i>

**Tabella 1: correlazione espressione SHP1 ed istotipo**

	<b>Grading 1 n:23</b>	<b>Grading 2 n:23</b>	<b>Grading 3 n:20</b>
<b>SHP1 :0</b>	<i>0 (0%)</i>	<i>6 (26%)</i>	<i>9 (45%)</i>
<b>SHP1: 1</b>	<i>6 (26%)</i>	<i>6 (26%)</i>	<i>5 (25%)</i>
<b>SHP1: 2</b>	<i>9 (39%)</i>	<i>9 (39%)</i>	<i>3 (15%)</i>
<b>SHP1: 3</b>	<i>8 (35%)</i>	<i>2 (9%)</i>	<i>3 (15%)</i>

**Tabella 2: correlazione SHP1 e Grading**

	<b>FIGO I</b>	<b>FIGO II</b>	<b>FIGO III</b>	<b>FIGO IV</b>
	<b>n:51</b>	<b>n:5</b>	<b>n:8</b>	<b>n:2</b>
<b>SHP1 :0</b>	<i>11 (21%)</i>	<i>2 (40%)</i>	<i>2 (25%)</i>	<i>0 (0%)</i>
<b>SHP1: 1</b>	<i>12 (24%)</i>	<i>0 (0%)</i>	<i>5 (62%)</i>	<i>0 (0%)</i>
<b>SHP1: 2</b>	<i>16 (31%)</i>	<i>3 (60%)</i>	<i>1 (13%)</i>	<i>1 (50%)</i>
<b>SHP1: 3</b>	<i>12 (24%)</i>	<i>0 (0%)</i>	<i>0 (0%)</i>	<i>1 (50%)</i>

**Tabella 3: correlazione SHP1 e FIGO stage**

## BIBLIOGRAFIA

1. A. Jemal, R. Siegel, E. Ward, Y. Hao, J. Xu and T. Murray *et al.*, Cancer statistics, *CA Cancer J Clin* **58** (2008), pp. 71–96
2. Creasman W. Revised FIGO staging for carcinoma of the endometrium. *Int J Gynaecol Obstet.* 2009 May;105(2):109. Epub 2009 Apr 3.
3. Andersen JN, Jansen PG, Echwald SM, Mortensen OH, Fukada T, Del Vecchio R, Tonks NK, Møller NP. A genomic perspective on protein tyrosine phosphatases: gene structure, pseudogenes, and genetic disease linkage, *FASEB J.* 2004 Jan;18(1):8-30.
4. Qian D, Lev S, van Oers NS, Dikic I, Schlessinger J, Weiss A. Tyrosine phosphorylation of Pyk2 is selectively regulated by Fyn during TCR signaling. *J Exp Med.* 1997 Apr 7;185(7):1253-9.
5. Healy JI, Goodnow CC. Positive versus negative signaling by lymphocyte antigen receptors. *Annu Rev Immunol.* 1998;16:645-70.
6. Zhang J, Somani AK, Yuen D, Yang Y, Love PE, Siminovitch KA. Involvement of the SHP-1 tyrosine phosphatase in regulation of T cell selection. *J Immunol.* 1999 Sep 15;163(6):3012-21.
7. Piao X, Paulson R, van der Geer P, Pawson T, Bernstein A. Oncogenic mutation in the Kit receptor tyrosine kinase alters substrate specificity and induces degradation of the protein tyrosine phosphatase SHP-1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Dec 10;93(25):14665-9.

8. Neel BG, Gu H, Pao L: The 'Shp'ing news: SH2 domain-containing tyrosine phosphatases in cell signaling. *Trends Biochem Sci* 2003;28:284–293.
9. Wu CJ, O'Rourke DM, Feng GS, Johnson GR, Wang Q, Greene MI: The tyrosine phosphatase SHP-2 is required for mediating phosphatidylinositol 3-kinase/Akt activation by growth factors. *Oncogene* 2001;20:6018–6025.
10. Feng GS: Shp-2 tyrosine phosphatase: signaling one cell or many. *Exp Cell Res.* 1999;253:47–54.
11. D'Alessio A, Cerchia L, Amelio I, Incoronato M, Condorelli G, de Franciscis V: Shp-2 in PC12 cells: NGF versus EGF signalling. *Cell Signal* 2007;19:1193–1200.
12. Mizuno K, Katagiri T, Hasegawa K, Ogimoto M, Yakura H: Hematopoietic cell phosphatase, SHP-1, is constitutively associated with the SH2 domain-containing leukocyte protein, SLP-76, in B cells. *J Exp Med* 1996;184:457–463.
13. Su L, Zhao Z, Bouchard P, Banville D, Fischer EH, Krebs EG, Shen SH: Positive effect of overexpressed protein-tyrosine phosphatase PTP1C on mitogen-activated signaling in 293 cells. *J Biol Chem* 1996;271:10385–10390.
14. Tamir I, Dal Porto JM, Cambier JC: Cytoplasmic protein tyrosine phosphatases SHP-1 and SHP-2: regulators of B cell signal transduction. *Curr Opin Immunol* 2000;12:307–315.



- 15.** Christensen MD, Geisler C. Recruitment of SHP-1 protein tyrosine phosphatase and signalling by a chimeric T-cell receptor-killer inhibitory receptor. *Scand J Immunol.* 2000 Jun;51(6):557-64.
- 16.** Yang W, Tabrizi M, Berrada K, Yi T. SHP-1 phosphatase C-terminus interacts with novel substrates p32/p30 during erythropoietin and interleukin-3 mitogenic responses. *Blood.* 1998 May 15;91(10):3746-55.
- 17.** Insabato L, Amelio I, Quarto M, Zannetti A, Tolino F, de Mauro G, Cerchia L, Riccio P, Baumhoer D, Condorelli G, Terracciano L, de Franciscis V. Elevated expression of the tyrosine phosphatase SHP-1 defines a subset of high-grade breast tumors. *Oncology.* 2009;77(6):378-84. Epub 2010 Jan 18.
- 18.** Cariaga-Martinez AE, Lorenzati MA, Riera MA, Cubilla MA, De La Rossa A, Giorgio EM, Tiscornia MM, Gimenez EM, Rojas ME, Chaneton BJ, Rodríguez DI, Zapata PD. Tumoral prostate shows different expression pattern of somatostatin receptor 2 (SSTR2) and phosphotyrosine phosphatase SHP-1 (PTPN6) according to tumor progression. *Adv Urol.* 2009:723831. Epub 2009 Apr 12.
- 19.** C. Wu, M. Sun, L. Liu, and G. W. Zhou. The function of the protein tyrosine phosphatase SHP-1 in cancer. *Gene*, vol. 306, no. 1-2, pp. 1-12, 2003
- 20.** Reubi JC, Waser B, Schaer JC, Markwalder R. Somatostatin receptors in human prostate and prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995 Sep;80(9):2806-14.

21. Kaplan SA. Expression of somatostatin receptor subtypes 2 and 4 in human benign prostatic hyperplasia and prostatic cancer. *J Urol.* 2003 Apr;169(4):1621.
22. Tatoud R, Degeorges A, Prévost G, Hoepffner JL, Gauvillé C, Millot G, Thomas F, Calvo F. Somatostatin receptors in prostate tissues and derived cell cultures, and the in vitro growth inhibitory effect of BIM-23014 analog. *Mol Cell Endocrinol.* 1995 Sep 22;113(2):195-204.
23. Tagliati F, Zatelli MC, Bottoni A, Piccin D, Luchin A, Culler MD, Degli Uberti EC. Role of complex cyclin d1/cdk4 in somatostatin subtype 2 receptor-mediated inhibition of cell proliferation of a medullary thyroid carcinoma cell line in vitro. *Endocrinology.* 2006 Jul;147(7):3530-8.
24. Tassidis H, Culig Z, Wingren AG, Härkönen P. Role of the protein tyrosine phosphatase SHP-1 in Interleukin-6 regulation of prostate cancer cells *Prostate.* 2010 Oct 1;70(14):1491-500.
25. Steiner E, Eicher O, Sagemüller J, Schmidt M, Pilch H, Tanner B, Hengstler JG, Hofmann M, Knapstein PG. Multivariate independent prognostic factors in endometrial carcinoma: a clinicopathologic study in 181 patients: 10 years experience at the Department of Obstetrics and Gynecology of the Mainz University. *Int J Gynecol Cancer.* 2003 Mar-Apr;13(2):197-203.

*Ringrazio tutti gli amici e colleghi che in questi anni mi hanno aiutato e sopportato, ringrazio Michela e Laura collaboratrici infaticabili e future promesse, ringrazio il Prof. Bacchi Modena per la fiducia riposta in me, la prof.ssa Giordano senza la quale questo studio non sarebbe mai nato, Martino e Carla perché ci sono.*

## ABSTRACT

### **Introduzione**

Il carcinoma endometriale è la più comune neoplasia invasiva ginecologica, con una incidenza di circa 33000 nuovi casi/anno e una prevalenza in costante aumento. L'analisi genetica delle neoplasie volta all'identificazione dei geni implicati nello sviluppo, crescita e aggressività dei tumori sta suscitando ormai da anni l'interesse dei ricercatori per le possibilità di trattamenti mirati di alta efficacia e basso profilo di tossicità. In questo senso il presente studio è stato disegnato al fine di valutare l'espressione della proteina fosfatasi SHP1 nel carcinoma endometriale di Tipo I e II.

### **Materiali e metodi**

Lo studio ha preso in considerazione 66 pazienti con diagnosi istologica di adenocarcinoma dell'endometrio dal 1998 al 2007. Le reazioni immunohistochimiche sono state eseguite impiegando la tecnica dell'immunoperoxidasi. Le sezioni di tessuto sono state incubate con l'anticorpo monoclonale primario SHP1 previo smascheramento antigenico mediante bagno termostato a 98° C per 30 minuti con tampone EDTA a Ph9. Il software statistico utilizzato è stato SPSS 11.0. (SPSS Inc., Chicago, IL).

### **Risultati**

La correlazione tra SHP1 - l'istotipo e stadio FIGO non ha evidenziato valori statisticamente significativi, mentre tra SHP1 e Grading l'analisi è risultata significativa  $p < 0.5$ .

La correlazione tra recidiva/ morte ed espressione di SHP1 pur risultando inversamente proporzionale non raggiunge il valori di significatività.

### **Discussione**

Dai nostri dati, per ora preliminari in quanto eseguiti solo sul 50% del campione disponibile, è emerso che l'espressione di SHP-1 non è correlata significativamente né con l'istotipo né con lo stadio FIGO. L'analisi sui dati di sopravvivenza e recidiva non hanno mostrato correlazione con SHP-1. E' invece risultata statisticamente significativa l'associazione SHP-1 e Grading. Riteniamo che il presente studio nonostante i primi dati parziali non incoraggianti possa, una volta conclusa l'analisi di tutti i casi selezionati, portare alla luce un risultati significativi.