

**I.O.S.U.D. UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA**  
**ȘCOALA DOCTORALĂ U.M.F. CRAIOVA**

**LUCRARE DE DOCTORAT**

*Rolul tranziției epitelio-mezenchimale în progresia carcinoamelor  
endometriale*

Coordonator științific:

**Prof. Univ. Dr. Cristiana Eugenia Simionescu**

Doctorand

**Ciucă (Florescu) Mirela-Marinela**

**Craiova, 2017**

### III.2. ROLUL TRANZIȚIEI EPITELIO-MEZENCHIMALE ÎN CARCINOAMELE ENDOMETRIALE

Procesul TEM a fost descris pe larg în multe tipuri de cancer, dar este insuficient studiat în carcinoamele endometriale. Studii recente sugerează că tumorile endometriale, indiferent de încadrarea lor în carcinoame de tip I și tip II, sunt capabile să sufere procesul de TEM, care facilitează invazia miometrială și ulterior metastazarea.

- Caracteristica moleculară esențială a procesului de TEM, o reprezintă scăderea expresiei E-caderinei, proces controlat de proteine cum este Snail, expresia ambilor markeri, E-caderinei și Snail, având valoare predictivă în carcinoamele endometriale endometroide [4].

- Oncogena BMI-1 (polycomb ring finger oncogene) poate induce TEM în celulele canceroase, și în plus, studii recente au sugerat că micro ARN-ul necodificat (miRNAs) acționează în calitate de modulator crucial pentru TEM [69].

- Activarea căii PI3K/AKT constituie un mecanism comun în toate subtipurile de cancer endometrial (endometroide și non-endometroide) și are rol important în TEM [72]. MiRNAs sunt molecule de ARN necodificate care afectează simultan mai multe gene țintă și reglează o gamă largă de gene implicate în modularea TEM. Mai multe studii recente au dezvăluit impactul miRNAs asupra TEM și al fenotipului celulelor stem canceroase în cancerul endometrial, prin reglarea căii PI3K/AKT [72]. În celulele carcinoamelor endometriale, miRNAs pot activa sau atenua TEM și celulele stem canceroase prin intermediul PTEN și a altor gene asociate TEM, cum sunt Twist1, ZEB1 și BMI-1 [72]. Direcționarea componentei cheie de semnalizare a căii PI3K/AKT pentru restabilirea sau inhibarea funcției miRNAs poate constitui o potențială abordare terapeutică pentru a suprima TEM și celulele stem canceroase în cancerul endometrial [72].

- Factorul Kruppel 17 (KLF17) reprezintă un membru al familiei factorilor de transcripție KLF, care poate inhiba TEM și creșterea tumorală. Cu toate acestea, expresia, funcția celulară și mecanismul KLF17 în cancerul endometrial de tip endometroid rămân evazive. Într-un studiu realizat de Dong și colab., autorii au

constatat că printre membrii familiei KLF, KLF17 a fost constant supraexprimat în liniile celulare ale carcinoamele endometriale endometroide [70]. Supraexpresia KLF17 din liniile celulare ale carcinoamelor endometroide a indus TEM și a promovat invazia celulară și rezistența la medicamente, având ca rezultat creșterea expresiei Twist1 [70]. În schimb, suprimarea KLF17 inversează procesul TEM, diminuează invazia celulară, restaurează sensibilitatea la medicamente și suprimă expresia Twist1 [70]. Autorii au raportat corelarea expresiei KLF17 cu gradul tumoral, KLF17 putând avea rol de oncogenă în progresia carcinoamelor endometriale endometroide prin inițierea TEM [70].

- Factorul de creștere D derivat din trombocite (PDGF-D) poate promova creșterea și invazia în tumorile maligne. PDGF-D face parte din familia PDGF implicată în diverse mecanisme celulare, cum sunt proliferarea, migrarea, invazia, transformarea și supraviețuirea acestora [83, 307]. PDGF-D interacționează în principal cu PDGFR- $\beta$  (receptorul- $\beta$  al PDGF) pentru activarea căilor sale de semnalizare din aval, ce conțin Wnt/ $\beta$ -catenin, PI3K/Akt/mTOR și NF- $\kappa$ B, care în final accelerează tumorigeneza și progresia tumorală [286, 288].

- Receptorii factorului de creștere epidermal (EGFR), respectiv EGFR1 (HER1), Erb2 (Her2/neu), Erb3, și erbB4, sunt intens exprimați în carcinoamele endometriale și au fost situați în topul terapiilor specifice ale acestuia [23].

Aceste date ar putea contribui la o mai bună înțelegere a patogeniei carcinoamelor endometriale și pot furniza informații importante pentru o mai bună gestionare a cancerului endometrial [169].

## **CAPITOLUL IV. MATERIAL ȘI METODE**

### **IV.A. MATERIALUL STUDIAT**

Studiul efectuat a fost de tip analitic, retrospectiv și prospectiv în cadrul căruia am analizat o serie de caracteristici clinico-epidemiologice, histopatologice și biomoleculare ale carcinoamelor endometriale.

Am selectat un număr de 50 de carcinoame endometriale, într-un interval de timp de 4 ani (2011-2014). Cazuistica analizată a provenit de la paciente internate și operate în cadrul clinicilor de Ginecologie și Chirurgie ale Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova.

Materialul de studiu a fost reprezentat de registrele anatomo-patologice din care am extras informații privind datele clinico-epidemiologice analizate și parametrii histopatologici ai tumorilor investigate. Pentru cazurile analizate retrospectiv am utilizat și blocurile de parafină, precum și lamele histologice aflate în histotecile Laboratorului de Anatomie patologică al Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova. Pentru cazurile actuale, am utilizat piesele de histerectomie, care au fost supuse prelucrării histologice uzuale prin tehnica includerii la parafină în cadrul aceluiași laborator.

Ulterior, cazurile investigate histopatologic au fost supuse examenului imunohistochimic în cadrul Laboratorului Disciplinei de Morfopatologie al UMF Craiova.

## **CAPITOLUL V**

### **REZULTATE**

#### **V.4. STUDIUL IMUNOHISTOCHIMIC AL CARCINOAMELOR ENDOMETROIDE**

Analiza imunohistochimică a cuprins un total de 40 de cazuri de carcinoame endometroide, rezultatele obținute fiind apoi interpretate din punct de vedere statistic în raport cu parametrii clinico-patologici.

Din totalul de 40 de pacienți, analiza parametrilor morfologici a indicat o vârstă medie a diagnosticului de 60.8 ani. Cele mai multe dintre leziunile prezentate au fost bine și moderat diferențiate (19 cazuri, respectiv 12 cazuri), cu invazie în jumătatea internă a miometrului (23 de cazuri), și fără metastaze în ganglionii limfatici (38 de cazuri), majoritatea fiind încadrate în stadiul I pTNM al bolii (23 cazuri) (tabel 21). În acest studiu numărul cazurilor în raport cu extensia tumorală (categoria T) și stadiul tumoral a fost același.

Markerii folosiți pentru analiza imunohistochimică a cazurilor de carcinoame endometroide selectate sunt implicați în tranziția epitelio-mezenchimală care vor fi ulterior analizați în raport cu parametrii clinico-morfologici investigați, cu scopul aprecierii implicării lor în prognosticul acestor neoplazii. În acest scop am utilizat markeri de adeziune intercelulară, markeri mezenchimali, factori de transcripție și factori de creștere.

#### V.4.1. STUDIUL IMUNOEXPRESIEI MARKERILOR DE ADEZIVITATE INTERCELULARĂ

Markerii de adezivitate celulară investigați pentru cele 40 cazuri de carcinoame endometroide, au fost reprezentați de: P-caderină, E-caderină și N-caderină.

##### *IMUNOEXPRESIA E-CADERINEI*

Imunoreacția pentru E-caderina a fost identificată în 85% din cele 40 de cazuri de carcinoame endometroide analizate imunohistochimic, cu localizare la nivel membranar (tabel 22).

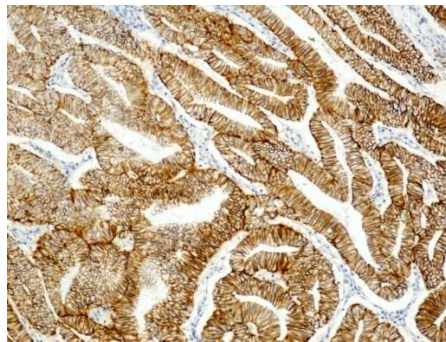
**Tabel 22. Imunoexpresia E-caderinei în raport cu parametrii clinico-morfologici**

Parametri		Nr cazuri	E-caderina		p
			% celule +	SMI	
<b>Vârsta</b>	<50	3	96.3±6.3	9.3	0.145
	>50	37	54.9±34.1	6.1	
<b>Grad de diferențiere</b>	G1	19	69.6±31.4	8.3	<b>0.004</b>
	G2	12	53±36.1	5.2	
	G3	9	30.5±30.2	2.8	
<b>Categoria N</b>	N0	38	67.3±26.1	7.5	0.413
	N	2	50±70.7	4	
<b>Categoria T/ Stadiu</b>	T1/ I	23	59.5±33.3	7.3	0.229
	T2/ II	12	65.3±29.6	5.8	
	T3/ III	5	34±47.7	3.2	

## SMI - Scor mediu de imunocolorare

Marcajul E-caderinei a variat în funcție de gradul de diferențiere tumorală, atât în ceea ce privește procentul de celule imunomarcate cât și intensitatea acestuia.

Carcinoamele endometroide bine diferențiate au prezentat un procent mediu de celule marcate de  $69,63 \pm 31,44$ , intensitatea reacțiilor fiind puternică sau moderată, cu un scor mediu al imunocolorării de 8,3 (fig43, tabel 22).



**Figura 43. Carcinom endometroid G1, imunomarcaj E-caderina, ob. X100**

Pentru carcinoamele moderat și slab diferențiate valorile procentuale medii de celule pozitive au fost de  $53 \pm 36,19$  și respectiv  $30,55 \pm 30,25$ , iar intensitatea reacțiilor a variat de la slabă la intensă, scorurile mediale imunocolorării fiind de 5.25 și respectiv 2,8 (fig 44, fig 45; tabel 22).

În raport cu gradul extensiei tumorale, procentul mediu de celule tumorale imunomarcate a fost mai mare în categoriile pT1 și pT2 ( $59.5 \pm 33.3$ ;  $65.3 \pm 29.6$ ), intensitatea reacțiilor fiind variabilă, iar scorul mediu de 7.3 și respectiv 5.8. Spre deosebire, în categoria pT3 procentul mediu al celulelor tumorale imunomarcate a fost de  $34 \pm 47.7$ , intensitatea reacțiilor de asemenea variabilă, iar scorul mediu de 3.2 (tabel 22).

Subloturile analizate pentru gradul extensiei tumorale și stadiul tumoral au coincis, astfel încât cele mai mari valori ale marcajelor E-caderinei au fost prezente în cazul carcinoamelor aflate în stadiul I și II tumoral.

## *IMUNOEXPRESIA N-CADERINEI*

Imunoreacția a fost identificată în 45% din cazuri la nivelul celulelor tumorale cu localizare citoplasmatică (tabel 24).

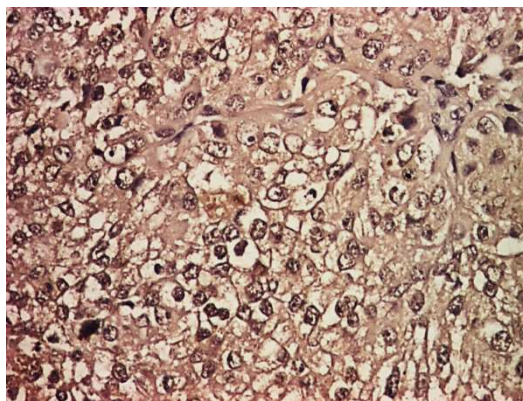
**Tabel 24. Imunoexpresia N-caderinei în raport cu parametrii clinico-morfologici**

Parametri		Nr cazuri	N-caderina		p
			% celule +	SMI	
<b>Vârsta</b>	<50	3	13.3±23	1	0.648
	>50	37	41±21.6	5.8	
<b>Grad de diferențiere</b>	G1	19	33.2±13.7	4.7	<b>0.028</b>
	G2	12	40±21.9	6.3	
	G3	9	50.7±25.8	6.1	
<b>Categoria N</b>	N0	38	43.2±20.5	5.9	0.465
	N	2	60 ±28.2	7	
<b>Categoria T/ Stadiu</b>	T1/ I	23	38.5±19.2	5.4	0.138
	T2/ II	12	46.1±22.7	6.2	
	T3/ III	5	56.2±22.1	7	

SMI - Scor mediu de imunocolorare

Analiza carcinoamelor bine diferențiate a evidențiat un procent mediu de celule tumorale marcate de 33.2± 13.7, intensitatea reacțiilor fiind slabă/moderată cu un scor mediu de 4.7(fig 61, tabel24).

Carcinoamele moderat diferențiate și cele slab diferențiate au prezentat valori procentuale medii ale celulelor imunomarcate de 40±21.9 si respectiv 50.7 ± 25.8, intensitatea reacțiilor fiind variabilă, iar scorurile medii de 6.3 si respectiv de 6.1 (fig 62, fig 63, tabel 24).



**Figura 63. Carcinom endometroid G3, imunomarcaj N-caderina, ob. X200**

Gradul extensiei tumorale și respectiv stadiul tumoral au prezentat procente medii ale celulelor tumorale imunomarcate mai mari în categoria/stadiu pT2/II și pT3/III ( $46.1 \pm 22.7$ , respectiv  $56.2 \pm 22.1$ ), intensitatea reacțiilor fiind și în aceste cazuri variabilă, iar scorul mediu fiind de 6.2, respectiv 7. Procentul mediu al celulelor tumorale marcate în pT1/I a fost de  $38.5 \pm 19.2$ , intensitatea reacțiilor fiind variabilă, cu un scor mediu de 5.1 (tabel 24).

## **CAPITOLUL VI**

### **DISCUȚII**

#### **VI.2. DISCUȚII ASUPRA STUDIULUI IMUNOHISTOCHIMIC**

Tranziția epitelio-mezenchimală este un proces biologic în care celulele epiteliale își pierd polaritatea și contactul celulă-celulă pentru a dobândi un fenotip mezenchimal migrator [173, 280]. Procesul se caracterizează prin pierderea expresiei markerilor epiteliali și achiziționarea celor mezenchimali, jucând astfel un rol cheie în procesul de invazie și metastazare a cancerului [248]. Asocierea tranziției epitelio-mezenchimale cu progresia cancerului a fost raportată în mai multe tipuri de cancer, inclusiv cancerul mamar, de prostată, cancerul pancreatic și hepatocarcinomul [118, 156].



## **VI.2.1. DISCUȚII ASUPRA STUDIULUI IMUNOHISTOCHEMIC AL MARKERILOR DE ADEZIVITATE**

### ***E-CADERINA***

Una dintre caracteristicile procesului de tranziție epiteliale-mezenchimale este pierderea adeziunii intercelulare, care este asociată cu expresia scăzută a E-caderinei [45, 94].

Imunoreacția pentru E-caderina am identificat-o în 85% din cazurile de carcinoame endometroide analizate imunohistochimic. Rezultatele studiului efectuat au relevat diferențe semnificative între expresia E-caderinei și gradul de diferențiere tumorală, aspect raportat și în alte studii similare. Expresia E-caderinei a fost mai intensă în carcinoamele endometroide bine diferențiate, în tumorile cu invazia superficială a miometrului și în tumori în stadiile incipiente. Aceste caracteristici histopatologice se asociază în multe studii cu un prognostic mai favorabil [45, 233].

### ***N-CADERINA***

Ca o caracteristică a tumorilor agresive, tranziția epitelio-mezenchimală este caracterizată prin reducerea expresiei E-caderinei și creșterea expresiei N-caderinei, contribuind la conturarea profilului de adeziune celulară, cu creșterea motilității celulelor tumorale și a proprietăților invazive, aspect raportat recent în mai multe tumori [49, 64, 130].

Pentru a putea verifica această ipoteză pentru cancerule endometriale am studiat expresia citoplasmatică a N-caderinei în celulele tumorale. Procentul de celule tumorale marcate a fost mai mare în cazurile de carcinom endometroid slab diferențiat (50,7%) comparativ cu tumorile moderat sau bine diferențiate (40%, 33,2%). Analiza statistică a permis evidențierea unei asocieri semnificative statistice ale creșterii expresiei N-caderinei cu creșterea gradului tumoral ( $p=0.028$ ). În plus am remarcat o creștere a expresiei N-caderinei în funcție de stadiul tumoral și extensia tumorilor. Procentul mediu de celule marcate a fost mai mare în pT3/III decât în pT2/II, respectiv pT1/I.

## **CAPITOLUL VII**

## CONCLUZII

Studiul efectuat care a cuprins un număr de 50 de cazuri de carcinoame endometriale, a permis următoarele concluzii:

- Imunoreacția pentru E-caderină a fost identificată în 85% din carcinoamele analizate; marcajele fiind superioare în cazul tumorilor bine diferențiate, precum și stadiile precoce ale bolii;

- Analiza statistică a evidențiat asocieri semnificative statistice ale expresiei E-caderinei cu gradul de diferențiere tumorală ( $p=0.004$ );

- Imunoreacția pentru N-caderină a fost prezentă în 45% din cazuri, cu marcaj superior în cazul tumorilor moderat și slab diferențiate, precum și stadii avansate de boală;

- Analiza statistică a pus în evidență asocieri semnificative ale creșterii expresiei N-caderinei și creșterea gradului tumoral ( $p=0.028$ );

- "Switch"-ul caderinic caracteristic tranziției epitelio-mezenchimale a fost pus în evidență prin prezența unei corelații liniare negative între E-caderină și N-caderină.

- Modificarea fenotipului epitelio-mezenchimal în carcinoamele endometriale prin alterarea expresiei E-caderinei, alături de supraexpresia P-caderinei, N-caderinei și Snail în leziunile de grad înalt și stadiu avansat, constituie mecanisme implicate în procesul de progresie tumorală.

- Investigarea tranziției epitelio-mezenchimale în carcinoamele endometriale susține studiul suplimentar atât al markerilor protectivi (E-caderină) cât și a celor de agresivitate (N-caderina, P-caderina și Snail) pentru stratificarea pacienților cu risc crescut și totodată pot constitui potențiale ținte terapeutice.

## BIBLIOGRAFIE

1. Abeler VM, Kjorstad KE, Berle E. Carcinoma of the endometrium in Norway: a histopathological and prognostic survey of a total population *Int J Gynecol Cancer*. 1992;2:9-22.
2. Abeler VM, Kjorstad KE. Endometrial adenocarcinoma in Norway. A study of a total population. *Cancer* 1991; 67: 3093–3103.
3. Abeler VM, Kjorstad KE. Endometrial adenocarcinoma with squamous cell differentiation. *Cancer* 1992;69:488–495
4. Abouhashem NS, Ibrahim DA, Mohamed AM. Prognostic implications of epithelial to mesenchymal transition related proteins (E-cadherin, Snail) and hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  in endometrioid endometrial carcinoma. *Ann Diagn Pathol*. 2016;22:1-11.
5. Ahlam A. Abd El-Maksoud, Ahmed M. Fahmy. Expression of apoptosis related proteins, P-cadherin and Claudin-3 in different endometrial lesions. *Med. J. Cairo Univ.*, 2011. 79,(1): 465-474.
6. Ahmed AR, Muhammad EM. E-cadherin and CD10 expression in atypical hyperplastic and malignant endometrial lesions. *J Egypt Natl Canc Inst*, 2014, 26(4):211–217.
7. Ai Z, Wang J, Wang Y, Lu L, et al. Overexpressed epidermal growth factor receptor (EGFR)-induced progestin insensitivity in human endometrial carcinoma cells by the EGFR/mitogenactivated protein kinase signaling pathway. *Cancer* 2010;116:3603-13.
8. Akhtar K, Ara A, Siddiqui SA, et al. Transition of Immunohistochemical Expression of E-Cadherin and Vimentin from Premalignant to Malignant Lesions of Oral Cavity and Oropharynx. *Oman Med J* 2016;31(3):165-9.
9. Albergaria A, Ribeiro AS, Vieira AF, Sousa B, Nobre AR, Seruca R, et al. P-cadherin role in normal breast development and cancer. *Int J Dev Biol*.2011;55(7-8-9):811–22.
10. Ali A, Black D, Soslow RA. Difficulties in assessing the depth of myometrial invasion in endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2007;26:115–23.

11. Amant F, Mirza MR, Koskas M, et al. Cancer of the corpus uteri. *Int J Gynaecol Obstet* 2015;131(2): 96-104.
12. Ambros RA, Kurman RJ, Identification of patients with stage I uterine endometrioid adenocarcinoma at high risk of recurrence by DNA ploidy, myometrial invasion and vascular invasion. *Gynecol Oncol* 1992;45: 235– 9.
13. American Cancer Society. *Cancer Facts and Figures 2008*.
14. American Joint Committee on Cancer. *Corpus Uteri. AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed. New York: Springer; 2010:403.
15. Anderson B, Connor JP, Andrews JI, et al. Obesity and prognosis in endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;174:1171–1178.
16. Angiolo Gadducci, Stefania Cosio, Andrea Riccardo Genazzani. Tissue and serum biomarkers as prognostic variables in endometrioid-type endometrial cancer. *Critical Reviews in Oncol/Hematol.*, 2011,80(2):181–192.
17. Arun S , Shulin L . Vimentin as a potential molecular target in cancer therapy Or Vimentin, an overview and its potential as a molecular target for cancer therapy. *Cell Mol Life Sci*. 2011;68(18): 3033–3046.
18. Ascher SM, Reinhold C. Imaging of cancer of the endometrium. *Radiol Clin North Am*. 2002;40:563–76.
19. Ashley S. Felix, Hannah P. Yang, Gretchen L. Gierarch, et al, Cigarette smoking and endometrial carcinoma risk: the role of effect modification and tumor heterogeneity, *Cancer Causes Control* 2014;25(4):479–489.
20. Auersperg N, Wong AST, Choi K-C. et al. Ovarian surface epithelium: biology, endocrinology, and pathology. *Endocr Rev*. 2001;22:255–288
21. Auersperg N, Woo MM, Gilks CB. The origin of ovarian carcinomas: a developmental view. *Gynecol Oncol*. 2008 Sep;110(3):452-4.
22. Balkwill F, Mantovani A 2001 Inflammation and cancer: back to Virchow *Lancet* 357, 539–545.

23. Bansal N, Yendluri V, Wenham RM. The molecular biology of endometrial cancers and the implications for pathogenesis, classification, and targeted therapies. *Cancer Control* 2009;16:8-13.
24. Baum B, Settleman J, Quinlan MP. Transitions between epithelial and mesenchymal states in development and disease. *Semin Cell Dev Biol* 2008;19: 294-308.
25. Becker K.-F, Rosivatz E., Blehschmidt K , et al. Analysis of the E-Cadherin Repressor Snail in Primary Human Cancers. *Cells Tissues Organs*, 2007;185:204–212.
26. Berg A, Hoivik EA, Mjøs S et al. Molecular profiling of endometrial carcinoma precursor, primary and metastatic lesions suggests different targets for treatment in obese compared to non-obese patients. *Oncotarget* 2015;6(2): 1327–1339
27. Bilgin T, Ozuysal S, Ozan H. A comparison of three histological grading systems in endometrial cancer. *Arch Gynecol Obstet*. 2005;272(1):23-5.
28. Blehschmidt K, Kremmer E, Hollweck R, et al. The E-cadherin repressor snail plays a role in tumor progression of endometrioid adenocarcinomas. *Diagn Mol Pathol*. 2007;16(4):222-8.
29. Bohîlțea I.RE, Ancăr V, Cirstoiu MM, et al. Project for the National Program of Early Diagnosis of Endometrial Cancer Part, *J Med Life* 2015; 8(3): 305–314
30. Bokhari AA, Lee LR, Raboteau D, et al. Progesterone inhibits endometrial cancer invasiveness by inhibiting the TGF $\beta$  pathway. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2014;7(10):1045-55.
31. Bokhman JV: Two pathogenetic types of endometrial carcinoma, *Gynecol Oncol* 1983, 15:10–17.
32. Boren T, Lea J, Kehoe S, et al. Lymph node metastasis in endometrioid adenocarcinomas of the uterine corpus with occult cervical involvement. *Gynecol Oncol* 2012;127(1):43-6.

33. Bouamrani A, Ramus C, Gay E, et al. Increased phosphorylation of vimentin in noninfiltrative meningiomas. *PLoS One* 2010; 5(2):e9238.
34. Boyer B, Vallés AM, Edme N. Induction and regulation of epithelial-mesenchymal transitions. *Biochem Pharmacol*, 2000;60(8):1091-9
35. Bremnes RM, Veve R, Gabrielson E, et al. High-throughput tissue microarray analysis used to evaluate biology and prognostic significance of the E-cadherin pathway in nonsmall- cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:2417-28.
36. Brinton LA, Bennan ML, Mortel R, et al. Reproductive, menstrual, and medical risk factors for endometrial cancer results from a case-control study. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:1317-25.
37. Brinton LA, Melton LJITL, Malkasian GD Jr, et al. Cancer risk after evaluation for infertility. *Am J Epidemiol* 1989;129:712-22.
38. Burks RT, Kessis TD, Cho KR, et al. Microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Oncogene* 1994;9: 1163–6.
39. Caduff RF, Johnston CM, Frank TS. Mutations of the Ki-ras oncogene in carcinoma of the endometrium. *Am J Pathol* 1995;146:182–8.
40. Caduff RF, Johnston CM, Svoboda Newman SM, et al. Clinical and pathological significance of microsatellite instability in sporadic endometrial carcinoma. *Am J Pathol* 1996;148:1671–8.
41. Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer* 2004; 4(8):579–91.
42. Cano A, Perez-Moreno MA, Rodrigo I, et al. The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat Cell Biol.* 2000;2:76–83
43. Cappellesso, Marioni et al. The prognostic role of the Epithelial-Mesenchymal Transition markers in head and neck squamous cell carcinoma *Histopathology*. 2015 Oct;67(4):491-500

44. Cavallaro U, Dejana E. Adhesion molecule signalling: not always a sticky business. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2011;12(3):189–97.
45. Chan AO, Chu KM, Lam SK, et al. E-cadherin is an independent pretherapeutic factor for long-term survival in gastric cancer. *J Clin Oncol,* 2003, 21(12):2288–2293.
46. Chan JK, Cheung MK, Huh WK, et al. Therapeutic role of lymph node resection in endometrioid corpus cancer: a study of 12,333 patients. *Cancer.* 2006;107:1823-1830.
47. Cheng L, Nagabhushan M, Pretlow TP, et al. Expression of E-cadherin in primary and metastatic prostate cancer. *Am J Pathol* 1996; 148:1375-80.
48. Chen J, Kuo S, Liaw Y, et al. Endometrial Cancer Incidence in Breast Cancer Patients Correlating with Age and Duration of Tamoxifen Use: a Population Based Study. *J Cancer.* 2014; 5(2): 151–155.
49. Christiansen JJ, Rajasekaran AK. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis. *Cancer Res* 2006; 66:8319 - 26.