

Molekulární testování u karcinomu endometria. Společné doporučení ČOS, onkogynekologické sekce ČGPS, SROBF a SČP ČLS JEP.

Pavel Dundr^{1*}, David Cibula², Martin Doležel³, Pavel Fabián⁴, Jindřich Fínek⁵, Tomáš Jirásek⁶, Radoslav Matěj^{1,7,8}, Luboš Petruželka⁹, Lukáš Rob¹⁰, Aleš Ryška¹¹, Marián Švajdler¹², Vít Weinberger¹³, Michal Zikán¹⁴

¹Ústav patologie 1. LF UK a VFN v Praze

²Onkogynekologické centrum, Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

⁷Ústav patologie, 3. LF UK a FN Královské Vinohrady

⁸Ústav patologie a molekulární medicíny, 3. LF UK a Fakultní Thomayerova nemocnice

¹¹Fingerlandův ústav patologie, LF UK a FN Hradec Králové

¹² Šiklův ústav patologie, Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Plzni a Fakultní nemocnice Plzeň; Bioptická laboratoř, s.r.o., Plzeň

*Adresa pro korespondenci:

Prof. MUDr. Pavel Dundr, Ph.D.

Ústav patologie 1. LF UK a VFN v Praze

Studničkova 2, 128 00 Praha 2

email: pavel.dundr@vfn.cz

Abstrakt

Molekulární klasifikace karcinomu endometria se stává důležitou součástí diagnostického procesu s přímými léčebnými dopady. Recentní mezinárodní doporučené postupy včetně společného doporučení ESGO-ESTRO-ESP proto zahrnují molekulární klasifikaci do standardních diagnostických algoritmů, stejně tak je molekulární testování doporučováno i podle nejnovější (5. edice) WHO klasifikace nádorů ženského genitálu z roku 2020. Vzhledem k potřebě implementace těchto doporučení do diagnostické praxe v České republice proběhlo jednání zástupců čtyř odborných společností ČLS JEP (České onkologické společnosti, Onkogynekologické sekce České gynekologické a porodnické společnosti, Společnosti radiační onkologie, biologie a fyziky a Společnosti českých patologů). Výsledkem tohoto jednání je doporučení pro molekulární testování karcinomu endometria v rutinní diagnostické praxi v České republice.

Úvod

Klasifikace karcinomů endometria je tradičně založena na hodnocení definovaných morfologických znaků, často v kombinaci s imunohistochemickým profilem, přesto je však diagnostická shoda zejména u high grade karcinomů poměrně nízká [1, 2]. V poslední 5. edici WHO klasifikace nádorů ženského genitálu je uvedeno 10 histologických typů karcinomu endometria, zahrnujících i nové typy jako je “mesonephric-like” karcinom a mucinózní karcinom gastrického typu [3]. Zásadní dopad však v posledních letech přináší zejména molekulární klasifikace karcinomů endometria, která se stává důležitou součástí diagnostického procesu [3, 4]. To se odrazilo i v tom, že je v nové WHO klasifikaci karcinomů endometria uvedena i molekulární subklasifikace endometroidního karcinomu do čtyř samostatně vyčleněných subtypů [3]. Tato molekulární klasifikace je podle WHO možná a doporučovaná nejen u endometroidního karcinomu, ale i u ostatních histologických typů karcinomu endometria. Bližší indikační kritéria pro molekulární testování jsou řešena na úrovni mezinárodních guidelines, recentně jde o společné doporučení ESGO-ESTRO-ESP z roku 2020 [4]. Podle tohoto doporučení je optimální testování všech karcinomů endometria, nicméně testování karcinomů ze skupiny nízkého (“low”) a středního (“intermediate”) rizika (podle stratifikace do rizikových skupin dle ESGO kritérií) má v současnosti menší význam pro indikaci adjuvantní léčby. Molekulární testování je v obecné úrovni vnímáno jako zásadně důležité a přínosné, nutné je však zohlednit regionální zdroje a jeho dostupnost, v některých oblastech světa tak může být jeho implementace do praxe problematická. Na podkladě recentních doporučení na mezinárodní úrovni a potřeby implementace těchto doporučení do diagnostické praxe v České republice proběhlo jednání zástupců

čtyř odborných společností ČLS JEP (České onkologické společnosti, onkogynekologické sekce České gynekologické a porodnické společnosti, Společnosti radiační onkologie, biologie a fyziky a Společnosti českých patologů), jehož výsledkem je toto doporučení pro molekulární testování karcinomu endometria v rutinní diagnostice v České republice.

Doporučený postup pro molekulární testování karcinomu endometria v ČR

Kdy a koho testovat:

Optimální by bylo testování všech karcinomů endometria. V současné době však molekulární testování nemá stejný klinický význam pro všechny rizikové skupiny. Vzhledem k nutnosti zhodnocení všech potřebných klinicko-patologických parametrů důležitých pro indikaci molekulárního testování se doporučuje testování až po vyšetření definitivního resektátu, nikoliv hned v rámci diagnostického biopsického odběru. Každý případ je však posuzován individuálně a v případě klinické relevance je možné příslušná vyšetření provést i z diagnostické biopsie. Vyšetření je prováděno vždy na žádost klinika (onkologa nebo onkogynekologa).

Rizikové skupiny (dle ESGO kritérií):

1) Skupina nízkého rizika (LR - low risk)

Stádium IA endometroidní karcinom, G1-2, LVSI negativní nebo fokální

2) Skupina středního rizika (IR - intermediate risk)

Stádium IB endometroidní karcinom, G1-2, LVSI negativní nebo fokální

Stádium IA endometroidní karcinom, G3, LVSI negativní nebo fokální

Stádium IA, non-endometroidní karcinom, bez invaze do myometria

3) Skupina vysokého/středního rizika (HIR - high-intermediate risk)

Stádium I endometroidní karcinom bez ohledu na grade a hloubku invaze s podstatnou

(„substantial“) LVSI

Stádium IB endometroidní karcinom grade 3, bez ohledu na LVSI

Stádium II

4) Skupina vysokého rizika (HR - high risk)

Stádium III-IVA bez reziduálního nádoru

Non-endometroidní histologický typ (stádium I-IVA) s invazí do myometria a bez reziduálního nádoru

Současná mezinárodní doporučení vznikala jako konsensuální dokument mnoha odborníků, zastupujících několik odborností. Jednou z nejdiskutovanějších otázek během jejich přípravy byly indikace pro adjuvantní léčbu po operaci. Odrážejí tak poznatky z dostupných prospektivních studií, současně však i rozdílnou klinickou praxi. V doporučení typu adjuvantního zajištění nejsou zcela striktní, ale nechávají volbu na multidisciplinárním týmu (MDT). Význam molekulární testování u jednotlivých rizikových skupin se tak může na pracovištích lišit v závislosti na tom, jaká je jejich klinická praxe. Molekulární testování je obecně kliniky velmi vítané i proto, že přináší další argument pro jejich rozhodnutí.

Níže je uvedena zjednodušená rozvaha o možném významu molekulárního testování dle rizikové skupiny:

1) Nízké riziko (LR)

U této skupiny není doporučeno adjuvantní zajištění. Aberantní typ exprese p53 / mutace *TP53* však posouvá pacientky do středního rizika. Testování stavu p53 je tak vhodné na pracovištích, kde je u žen se středním rizikem indikována adjuvantní léčba. V případě aberantního typu exprese p53 je však nutné provést kompletní molekulární testování k vyloučení případů, u kterých je aberantní exprese p53 (mutace *TP53*) sekundárním projevem ultramutovaného stavu při *POLE* mutaci a jedná se tedy o nádory, jejichž prognóza se odvíjí od *POLE* mutace, a tedy jde o nádory s výbornou prognózou.

2) Střední riziko (IR)

U této skupiny je ponecháno na volbě MDT, zda zajistit pacientku brachyterapií (BRT) s cílem snížit riziko lokálních recidiv nebo zda ponechat bez zajištění. Při znalosti molekulárního profilu nádoru se nádory ze skupiny P53-mutovaných posouvají do vysokého rizika, zatímco *POLE*-ultramutované do rizika nízkého. Molekulární testování by tedy u těchto pacientek mělo být provedeno na pracovištích, kde je u žen se středním rizikem indikována BRT. Testování stavu p53, které posouvá pacientku do vysokého rizika, by mělo být provedeno u všech případů. V případě aberantního typu exprese p53 je však nutné provést kompletní molekulární testování k vyloučení případů, u kterých je aberantní exprese p53 (mutace *TP53*) sekundárním projevem ultramutovaného stavu při *POLE* mutaci či v rámci mikrosatelitové instability a jedná se tedy o nádory, jejichž prognóza se odvíjí od *POLE* mutace (mikrosatelitové instability).

3) Střední/vysoké riziko (HIR)

U této skupiny je ponechána největší svoboda pro rozhodnutí MDT, od podání BRT, EBRT, až po ponechání bez zajištění.

Stejně jako v předchozí skupině se při znalosti molekulárního subtypu nádory ze skupiny P53-mutovaných posouvají do vysokého rizika, zatímco POLE-utramutované do rizika nízkého.

Molekulární testování by tedy u těchto pacientek mělo být provedeno na pracovištích, kde je u žen se středním rizikem indikována BRT. Testování stavu p53, které posouvá pacientku do vysokého rizika, by mělo být provedeno u všech případů. V případě aberantního typu exprese p53 je však nutné provést kompletní molekulární testování k vyloučení případů, u kterých je aberantní exprese p53 (mutace *TP53*) sekundárním projevem ultramutovaného stavu při *POLE* mutaci či v rámci mikrosatelitové instability a jedná se tedy o nádory, jejichž prognóza se odvíjí od přítomnosti *POLE* mutace (mikrosatelitové instability).

4) Vysoké riziko (HR)

U této skupiny je adjuvantní radioterapie indikována. Aberantní typ exprese p53 / mutace *TP53* nemění zařazení do skupiny, na některých pracovištích je však používáno jako argument pro podání sekvenční chemoterapie po ukončení zevní či kombinované radioterapie. Přítomnost *POLE* mutace je však velmi významná, protože posouvá pacientku do nízkého rizika bez adjuvantního zajištění. U těchto pacientek je tedy molekulární testování doporučeno vždy.

Na základě uvedené rozvahy je možné dojít k doporučení pro molekulární testování, které zohledňuje strategii pracoviště s ohledem na jeho preference v podání či nepodání adjuvantní léčby u jednotlivých rizikových skupin:

a) testování p53 u všech rizikových skupin. V případě aberantního typu exprese p53 / mutace *TP53* však musí být provedeno kompletní molekulární testování k vyloučení mutací *TP53* sekundárním projevem ultramutovaného stavu při *POLE* mutaci či v rámci mikrosatelitové instability a jedná se tedy o nádory, jejichž prognóza se odvíjí od *POLE* mutace (mikrosatelitové instability).

b) Kompletní molekulární testování se stanovením molekulárního subtypu u všech případů ze skupiny vysokého rizika (HR); u HIR a IR na těch pracovištích, na kterých může vést k deeskalaci adjuvantní léčby; u všech případů s abnormálním typem exprese p53 testovaných dle indikace podle bodu a)

V jakých laboratořích testovat:

Všechny laboratoře patologie, které mají zavedené, validované a akreditované příslušné laboratorní metody umožňující plnou klasifikaci nádorů podle uvedeného algoritmu. Vyšetření pouze části markerů není s ohledem na nastavený algoritmus molekulární klasifikace karcinomů endometria přijatelné.

Testování jednotlivých parametrů:

POLE mutace

Vyšetření mutačního stavu *POLE* může být provedeno jakoukoliv molekulární metodou umožňující stanovení mutací v exonukleázové doméně (exon 9-14). Preferováno je jednoznačně vyšetření metodou NGS, které kromě mutačního stavu *POLE* umožní i vyšetření dalších genů a stanovení komplexního molekulárního profilu nádoru. V případě využití jiné molekulární metody je nutné vzít v potaz případné limitace dané zejména nízkou senzitivitou Sangerova sekvenování a při použití komerčních PCR kitů potřebou pokrytí všech relevantních „hot-spotů“ genu *POLE* v exonu 9-14.

Zdůvodnění:

Preference metody NGS vychází ze skutečnosti, že touto metodou lze současně s mutačním stavem *POLE* vyšetřit i další geny významné s ohledem na molekulární klasifikaci, tedy *TP53* a *CTNNB1*. Imunohistochemické vyšetření exprese p53 lze podle nastavených algoritmů testování použít, má však oproti vyšetření mutačního stavu genu *TP53* metodou NGS nižší senzitivitu (část případů s wild-type typem exprese p53 má mutaci genu *TP53*, která se však neprojeví abnormální expresí proteinu). Vyhodnocení mutačního stavu genu *CTNNB1* potenciálně umožňuje další stratifikaci nádorů ze skupiny nespecifického molekulárního subtypu (NSMP) do prognosticky příznivé (v případě wild-type *CTNNB1*) a intermediální (v případě mutace *CTNNB1*) kategorie. Aktuálně se však jedná o subklasifikaci s nízkým stupněm evidence, která doposud není všeobecně akceptována. Komplexní molekulární vyšetření nádoru metodou NGS má také diagnostický význam u morfoloicky sporných nádorů, z nichž část je možno přesně zařadit právě jen s použitím molekulárního vyšetření. Dále se jedná o vyšetření s potenciálně prediktivním významem u pokročilých nádorů, tedy s možností detekce případných terapeuticky ovlivnitelných molekulárních aberací. V této indikaci je však nutno postupovat podle stávajících algoritmů komplexního molekulárního vyšetření za prediktivním účelem, tak, jak je domluveno na úrovni odborných společností (ČOS a SČP) a plátců.

Vyhodnocení *POLE* mutace

Jako *POLE*-ultramutované nádory by měly být hodnoceny pouze nádory, které mají některou z definovaných „hot-spotových“ patogenních mutací (variant) v exonukleázové doméně genu *POLE* v exonu 9-14 uvedených v tabulce X. Uvedený seznam těchto variant představuje aktuální situaci a může se s rozvojem vědeckých poznatků dále měnit.

Defekt proteinů tzv. mismatch repair systému (MMR deficiencie)

V souladu s ESMO doporučením je preferováno testování pomocí imunohistochemické detekce (IHC) exprese MMR proteinů [5]. Optimálně by měla být testována exprese všech 4 proteinů (MLH1, PMS2, MSH2, MSH6), v praxi lze použít i testování pouze 2 tzv. vedlejších proteinů (PMS2 a MSH6) v případě potřeby doplněných o expresi 2 tzv. hlavních proteinů (MLH1 a MSH2). Pro případ nejednoznačné exprese na IHC úrovni musí laboratoř IHC vyšetření doplnit či upřesnit některou molekulární metodou (zejména PCR s fragmentační analýzou nebo metodu NGS s nastavením příslušného algoritmu umožňujícího detekci mikrosatelitové instability). V případě IHC testování exprese MMR proteinů musí mít laboratoř také zavedenou metodu umožňující stanovení metylačního stavu promotoru MLH1 k rozlišení mezi deficiencí MMR (dMMR) vyskytující se u sporadických nádorů a dMMR s možnou souvislostí s Lynchovým syndromem, kdy je nutné vyšetření klinickým genetikem.

Hodnocení stavu MMR

V případě IHC vyšetření se hodnotí jakákoliv jaderná exprese proteinu, která může být vzácně přítomna v < 10 % nádorových buněk (zejména u PMS2 a MSH6) [6]. Sporné nebo neprůkazné výsledky je nutné verifikovat jinou metodou. Nutné je vždy vyhodnocení vnitřní kontroly v nenádorové tkáni (bez této vnitřní kontroly nelze výsledek hodnotit). V případě ztráty exprese některého z MMR proteinů je případ vyhodnocen jak MMR-deficientní (dMMR). V případě zachování exprese všech vyšetřovaných proteinů je případ vyhodnocen jako MMR-proficientní (pMMR). Každé pracoviště musí mít nastavený algoritmus jak postupovat u dMMR případů s ohledem na možnou souvislost s Lynchovým syndromem a formulací doporučení v závěru vyšetření. Doporučení panelu na interpretaci výsledku exprese MMR vycházející ze studií a doporučení zaměřených na problematiku screeningu Lynchova syndromu je uvedeno v **tabulce X** [7, 8].

V případě využití metody PCR s fragmentační analýzou se postupuje podle příslušného algoritmu dle použitého spektra a počtu analyzovaných mikrosatelitů. Jako mikrosatelitově instabilní se hodnotí případy v kategorii MSI-H. Kategorie MSI-L je sporná a v souladu s revidovanými Bethesda kritérii a ESMO guideline jsou tyto případy nahlíženy jako MSS (mikrosatelitově stabilní) [5, 9].

Vyšetření P53

Vyšetření se provádí primárně IHC metodou. Zásadní je správné nastavení protokolu tak, aby splňoval kritéria vysoké senzitivity a specifity. V rámci hodnocení je vždy nutné vyhodnocení interní a externí kontroly. V případě absence interní kontroly nelze vyšetření u případů s úplnou ztrátou exprese proteinu vyhodnotit jako validní. IHC vyšetření je v případě NGS testování doplněno i o stanovení mutačního stavu genu *TP53*. Výsledky vyšetření se uvádí v kategoriích „wild-type“ / normální typ exprese a abnormální / aberantní / mutovaný typ exprese. Způsob hodnocení s ohledem na kritéria zařazení do jednotlivých kategorií je uveden v **tabulce X**.

Klasifikace molekulárních kategorií nádorů:

Vzhledem k poněkud odlišné terminologii používané v rámci klasifikace TCGA a skupin nejvíce se věnujících této problematice (PORTEC a ProMisE) (tabulka X) je doporučeno sjednocené reportování tak, aby pokrývalo všechny alternativy a zachovalo srozumitelnost mezi jednotlivými pracovišti do 4 molekulárních subtypů následovně:

- 1) POLE-ultramutovaný
- 2) mikrosatelitově instabilní
- 3) nescifický molekulární profil
- 4) P53 mutovaný

Úhrada testování:

Úhrada testování je s poměrně výraznými omezeními možná i v rámci v současné době nastavených úhradových mechanismů. Z dlouhodobějšího hlediska jsou však tyto mechanismy nevyhovující. Konsenzus panelu je, že bude iniciováno jednání mezi odbornými společnostmi a plátcí s cílem nového nastavení úhradových mechanismů a vytvoření specifického kódu či kódů tak, aby umožnily molekulární testování karcinomu endometria v kontextu stávající diagnostiky a následné léčebné péče.

Diskuze

Historicky byly definovány 2 základní patogenetické typy karcinomu endometria, zahrnující typ I (low grade estrogen-dependentní nádory, endometrioidní a mucinózní typ, převážně s dobrou prognózou) a typ II (high grade estrogen-independentní nádory, non-endometrioidní typy, převážně se špatnou prognózou) [10]. Tyto dvě skupiny nádorů však vykazovaly značný překryv na úrovni morfoloické, klinické i molekulární a s ohledem na prognostický či další dopad neměly praktický význam. Současné znalosti týkající se molekulární klasifikace karcinomů endometria vychází z výsledků studie "The Cancer Genome Atlas" (TCGA), která definovala 4 molekulární subtypy zahrnující POLE-ultramutovaný (dobrá prognóza), mikrosatelitově instabilní hypermutovaný (intermediální prognóza), "copy-number low" (intermediální prognóza) a "copy-number high" (špatná prognóza) [11]. Výsledky této studie prokázaly, že molekulární klasifikace je prognosticky významná a může mít přímé terapeutické dopady. Metodicky byl však jejich přístup poměrně komplikovaný a pro praktické využití nevhodný. Z tohoto důvodu se do praxe prosadil zjednodušený přístup kombinující využití imunohistochemických analýz a molekulárních metod [12-22].

Molekulární klasifikace karcinomů endometria představuje zásadní posun v diagnostice těchto nádorů s přímými dopady na léčbu pacientek [3, 4]. Nutné je však zdůraznit, že molekulární klasifikace karcinomů endometria je doplněním a nikoliv náhradou stávajících diagnostických postupů a nenahrazuje tedy histopatologické vyšetření, které je nutné pro stanovení stadia onemocnění a vyhodnocení dalších důležitých parametrů, jako je histologický typ nádoru, grading a zhodnocení nádorové angioinvasze (LVSI). Molekulární klasifikace poskytuje nezávislou prognostickou informaci nad rámec stratifikace do prognostických skupin vycházející pouze z hodnocení tradičních klinicko-patologických parametrů, což se odráží i v definici těchto prognostických skupin v recentním doporučení ESGO-ESTRO-ESP [4]. Obecně platí, že *POLE*-ultramutované nádory mají výbornou prognózu (kategorie „favourable“) a p53 mutované nádory mají nejhorší prognózu (kategorie „unfavourable“). Mezi vysoce rizikovými („high risk“) nádory definovanými na podkladě tradičních klinicko-patologických parametrů a molekulárně klasifikovanými nádory p53 mutovaného typu je asi 89 % překryv [14]. Molekulární klasifikace je však z kategorie vysoce rizikových nádorů schopna vyčlenit nádory s výbornou prognózou (*POLE*-ultramutované) a nádory s intermediální prognózou (mismatch repair deficientní). Bez molekulární klasifikace by asi 50 % nádorů z kategorie *POLE*-ultramutovaných a MMR deficientních bylo klasifikováno v kategorii vysoce rizikových („high risk“).

Molekulární klasifikaci lze použít u všech histologických typů endometriálního karcinomu, včetně karcinosarkomu. U jiných než endometroidních karcinomů má však určitá specifika a nedořešené aspekty, kterých bychom si měli být vědomi. Pro nediferencovaný / dediferencovaný karcinom obecně platí, že i přesto, že asi 50 % případů vykazuje dMMR, se jedná o nádor se špatnou prognózou [23, 24]. Nicméně minorita těchto nádorů, které vykazují *POLE* mutace, se zdá mít prognózu podstatně lepší, data jsou však poměrně limitovaná [25]. Dalším sporným bodem je molekulární klasifikace světlouněčného karcinomu endometria (ECCC) zejména s ohledem na fakt, že samotná existence výskytu *POLE* mutací a dMMR je u těchto nádorů, pokud jsou diagnostikovány dle striktních kritérií, sporná. V největší studii analyzující 37 případů ECCC nebyl nalezen žádný případ s *POLE* mutací či dMMR [26]. Podle literárních údajů se sice dMMR vyskytuje u 0 - 68.8% případů ECCC, případy vykazující dMMR jsou však nejspíše chybně diagnostikované jiné histologické typy karcinomu endometria [27-29]. Naopak abnormality p53 se u ECCC prokazatelně vyskytují (asi u 50-60 % případů) a nejspíše se jedná o prognosticky nepříznivý faktor [30].

Určitou limitací stávající molekulární klasifikace je poměrně široká skupina nádorů v kategorii nespecifického molekulárního profilu, které jsou řazeny do skupiny nádorů s intermediální prognózou. V této oblasti však probíhá intenzivní výzkum zaměřený na možnou stratifikaci těchto nádorů, který má poměrně nadějně výsledky. Jako slibné se v tomto kontextu jeví hodnocení imunohistochemické exprese L1-CAM a mutačního stavu *CTNNB1*. Nádory kategorie NSMP vykazující

L1-CAM expresi a/nebo mutaci *CTNNB1* se zdají mít horší prognózu a podle dosavadních výsledků by zůstávaly v kategorii intermediálního rizika, ostatní nádory z kategorie NSMP mají prognózu výbornou a řadily by se do kategorie „favourable“ [17, 18, 31-36].

S ohledem na molekulární klasifikaci karcinomu endometria je vhodné zdůraznit, že na rozdíl od např. karcinomu ovaria, u kterého je úzká vazba mezi histologickým typem nádoru a molekulárním profilem, u karcinomu endometria histologický typ s molekulárním subtypem významněji nekoreluje [37]. Bylo prokázáno, že zejména *POLE*-ultramutované a MMR deficientní nádory vykazují významnou morfológickou variabilitu a jejich morfológické rysy nejsou specifické pro žádnou molekulární kategorii [38, 39]. Například *POLE*-ultramutované nádory jsou často high grade, vykazují významnou LVSI, a i když jsou převážně endometroidního typu, mohou být i smíšené či mají nejednoznačné rysy s překryvnou endometroidní a serózní diferenciací [39]. Většina low grade endometroidních karcinomů (G1, G2) spadá do kategorie NSMP, minorita z nich však může patřit do jakékoliv jiné molekulární kategorie, tedy včetně *POLE*-ultramutované, MMR deficientní a p53 mutované. Prognostický význam low grade endometroidních karcinomů spadajících do kategorie p53 mutovaných není v současné době jednoznačný. Podle jedné recentní studie se však mutace *TP53* vyskytuje asi u 10 % low grade endometroidních karcinomů a jedná se o nádory s více agresivním potenciálem [40]. V této studii však nebyla provedena kompletní molekulární klasifikace nádorů, která je pro správné stanovení molekulárního subtypu nezbytná. Absence znalostí o mutačním stavu genu *POLE* a stavu exprese MMR proteinů neumožňuje rozlišit mezi „driver“ mutací *TP53* a nádory ze skupiny tzv. „double“ či „multiple classifiers“, u kterých může být *TP53* mutace sekundární při *POLE*-ultramutačním stavu či MMR deficienci [41, 42]. Tyto nádory jsou pak klasifikovány jako *POLE*-ultramutované či MMR deficientní, a nikoliv tedy jako p53 mutované [41]. Případy, u kterých je přítomna současně mutace *POLE* a dMMR jsou klasifikovány jako *POLE*-ultramutované [42].

Závěrem lze shrnout, že molekulární klasifikace karcinomu endometria představuje zásadní posun v problematice těchto nádorů s přímými terapeutickými dopady. Molekulární testování se stává standardní součástí diagnostiky a v podmínkách České republiky by mělo být aktuálně prováděno podle výše uvedeného algoritmu. Indikační kritéria v aktuální době nastavená na podkladě jednání odborných společností v České republice představují kompromis mezi optimem, kterým by bylo testování všech karcinomů endometria, a reálnými možnostmi se zohledněním ekonomických aspektů a přímého dopadu na volbu léčby. Tato kritéria však mohou být v budoucnu podle potřeby upravena. V brzké budoucnosti lze také očekávat rozšíření diagnostického algoritmu molekulárního testování o další parametry, které by umožnily další stratifikaci nádorů zejména ze skupiny NSMP. S ohledem na testování MMR deficiencie se panel shodl na potřebě zdůraznění faktu, že dMMR sama o sobě představuje u pokročilých nádorů prediktor terapie checkpoint inhibitory [43]. Dále je

testování mikrosatelitové instability důležité s ohledem na roli ve screeningu Lynchova syndromu [44-46]. Problematika screeningu Lynchova syndromu v České republice však není řešena tímto doporučením.

Literatura

1. Thomas, S., et al., *Interobserver Variability in the Diagnosis of Uterine High-Grade Endometrioid Carcinoma*. Arch Pathol Lab Med, 2016. **140**(8): p. 836-43.
2. Gilks, C.B., E. Oliva, and R.A. Soslow, *Poor interobserver reproducibility in the diagnosis of high-grade endometrial carcinoma*. Am J Surg Pathol, 2013. **37**(6): p. 874-81.
3. Board, W.C.o.T.E., *Female Genital Tumours*. 5 ed. WHO Classification of Tumours. 2020, Lyon: IARC Press. 631.
4. Concin, N., et al., *ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma*. Int J Gynecol Cancer, 2021. **31**(1): p. 12-39.
5. Luchini, C., et al., *ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach*. Ann Oncol, 2019. **30**(8): p. 1232-1243.
6. Doghri, R., et al., *Mismatch Repair Deficiency in Endometrial Cancer: Immunohistochemistry Staining and Clinical Implications*. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2019. **27**(9): p. 678-682.
7. Chen, W. and W.L. Frankel, *A practical guide to biomarkers for the evaluation of colorectal cancer*. Mod Pathol, 2019. **32**(Suppl 1): p. 1-15.
8. Stelloo, E., et al., *Practical guidance for mismatch repair-deficiency testing in endometrial cancer*. Ann Oncol, 2017. **28**(1): p. 96-102.
9. Umar, A., et al., *Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability*. J Natl Cancer Inst, 2004. **96**(4): p. 261-8.
10. Bokhman, J.V., *Two pathogenetic types of endometrial carcinoma*. Gynecol Oncol, 1983. **15**(1): p. 10-7.
11. Cancer Genome Atlas Research, N., et al., *Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma*. Nature, 2013. **497**(7447): p. 67-73.
12. Talhouk, A., et al., *A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers*. Br J Cancer, 2015. **113**(2): p. 299-310.
13. Talhouk, A., et al., *Molecular classification of endometrial carcinoma on diagnostic specimens is highly concordant with final hysterectomy: Earlier prognostic information to guide treatment*. Gynecol Oncol, 2016. **143**(1): p. 46-53.
14. Talhouk, A., et al., *Confirmation of ProMisE: A simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer*. Cancer, 2017. **123**(5): p. 802-813.
15. Wortman, B.G., et al., *Molecular-integrated risk profile to determine adjuvant radiotherapy in endometrial cancer: Evaluation of the pilot phase of the PORTEC-4a trial*. Gynecol Oncol, 2018. **151**(1): p. 69-75.
16. Wortman, B.G., et al., *Ten-year results of the PORTEC-2 trial for high-intermediate risk endometrial carcinoma: improving patient selection for adjuvant therapy*. Br J Cancer, 2018. **119**(9): p. 1067-1074.
17. Stelloo, E., et al., *Improved Risk Assessment by Integrating Molecular and Clinicopathological Factors in Early-stage Endometrial Cancer-Combined Analysis of the PORTEC Cohorts*. Clin Cancer Res, 2016. **22**(16): p. 4215-24.

18. Stelloo, E., et al., *Refining prognosis and identifying targetable pathways for high-risk endometrial cancer; a TransPORTEC initiative*. Mod Pathol, 2015. **28**(6): p. 836-44.
19. Plotkin, A., et al., *Interlaboratory Concordance of ProMisE Molecular Classification of Endometrial Carcinoma Based on Endometrial Biopsy Specimens*. Int J Gynecol Pathol, 2019.
20. Parra-Herran, C., et al., *Molecular-based classification algorithm for endometrial carcinoma categorizes ovarian endometrioid carcinoma into prognostically significant groups*. Mod Pathol, 2017. **30**(12): p. 1748-1759.
21. Kommoss, S., et al., *Final validation of the ProMisE molecular classifier for endometrial carcinoma in a large population-based case series*. Ann Oncol, 2018. **29**(5): p. 1180-1188.
22. Bosse, T., et al., *Molecular Classification of Grade 3 Endometrioid Endometrial Cancers Identifies Distinct Prognostic Subgroups*. Am J Surg Pathol, 2018. **42**(5): p. 561-568.
23. Altrabulsi, B., et al., *Undifferentiated carcinoma of the endometrium*. Am J Surg Pathol, 2005. **29**(10): p. 1316-21.
24. Silva, E.G., M.T. Deavers, and A. Malpica, *Undifferentiated carcinoma of the endometrium: a review*. Pathology, 2007. **39**(1): p. 134-8.
25. Espinosa, I., et al., *Undifferentiated and Dedifferentiated Endometrial Carcinomas With POLE Exonuclease Domain Mutations Have a Favorable Prognosis*. Am J Surg Pathol, 2017. **41**(8): p. 1121-1128.
26. Baniak, N., et al., *Targeted Molecular and Immunohistochemical Analyses of Endometrial Clear Cell Carcinoma Show that POLE Mutations and DNA Mismatch Repair Protein Deficiencies Are Uncommon*. Am J Surg Pathol, 2019. **43**(4): p. 531-537.
27. An, H.J., et al., *Molecular characterization of uterine clear cell carcinoma*. Mod Pathol, 2004. **17**(5): p. 530-7.
28. DeLair, D.F., et al., *The genetic landscape of endometrial clear cell carcinomas*. J Pathol, 2017. **243**(2): p. 230-241.
29. Bae, H.S., et al., *Should endometrial clear cell carcinoma be classified as Type II endometrial carcinoma?* Int J Gynecol Pathol, 2015. **34**(1): p. 74-84.
30. Fadare, O., et al., *The clinicopathologic significance of p53 and BAF-250a (ARID1A) expression in clear cell carcinoma of the endometrium*. Mod Pathol, 2013. **26**(8): p. 1101-10.
31. Kommoss, F.K., et al., *L1CAM further stratifies endometrial carcinoma patients with no specific molecular risk profile*. Br J Cancer, 2018. **119**(4): p. 480-486.
32. Kommoss, F., et al., *L1CAM: amending the "low-risk" category in endometrial carcinoma*. J Cancer Res Clin Oncol, 2017. **143**(2): p. 255-262.
33. Bosse, T., et al., *L1 cell adhesion molecule is a strong predictor for distant recurrence and overall survival in early stage endometrial cancer: pooled PORTEC trial results*. Eur J Cancer, 2014. **50**(15): p. 2602-10.
34. Kim, G., et al., *Nuclear β -catenin localization and mutation of the CTNNB1 gene: a context-dependent association*. Mod Pathol, 2018. **31**(10): p. 1553-1559.
35. Klat, J., et al., *L1CAM as a Negative Prognostic Factor in Endometrioid Endometrial Adenocarcinoma FIGO Stage IA-IB*. Anticancer Res, 2019. **39**(1): p. 421-424.
36. Smogeli, E., et al., *L1CAM as a prognostic marker in stage I endometrial cancer: a validation study*. BMC Cancer, 2016. **16**: p. 596.
37. Hoang, L.N., et al., *Interobserver Agreement in Endometrial Carcinoma Histotype Diagnosis Varies Depending on The Cancer Genome Atlas (TCGA)-based Molecular Subgroup*. Am J Surg Pathol, 2017. **41**(2): p. 245-252.
38. Bakhsh, S., et al., *Histopathological features of endometrial carcinomas associated with POLE mutations: implications for decisions about adjuvant therapy*. Histopathology, 2016. **68**(6): p. 916-24.
39. Hussein, Y.R., et al., *Clinicopathological analysis of endometrial carcinomas harboring somatic POLE exonuclease domain mutations*. Mod Pathol, 2015. **28**(4): p. 505-14.
40. Yano, M., et al., *Impact of TP53 immunohistochemistry on the histological grading system for endometrial endometrioid carcinoma*. Mod Pathol, 2019. **32**(7): p. 1023-1031.

41. Leon-Castillo, A., et al., *Clinicopathological and molecular characterisation of 'multiple-classifier' endometrial carcinomas*. J Pathol, 2020. **250**(3): p. 312-322.
42. Leon-Castillo, A., et al., *Interpretation of somatic POLE mutations in endometrial carcinoma*. J Pathol, 2020. **250**(3): p. 323-335.
43. Petrelli, F., et al., *Outcomes Following Immune Checkpoint Inhibitor Treatment of Patients With Microsatellite Instability-High Cancers: A Systematic Review and Meta-analysis*. JAMA Oncol, 2020. **6**(7): p. 1068-1071.
44. Snowsill, T.M., et al., *Cost-effectiveness analysis of reflex testing for Lynch syndrome in women with endometrial cancer in the UK setting*. PLoS One, 2019. **14**(8): p. e0221419.
45. Ryan, N., et al., *Lynch syndrome screening in gynaecological cancers: results of an international survey with recommendations for uniform reporting terminology for mismatch repair immunohistochemistry results*. Histopathology, 2019. **75**(6): p. 813-824.
46. Zeimet, A.G., et al., *AGO Austria recommendation on screening and diagnosis of Lynch syndrome (LS)*. Arch Gynecol Obstet, 2017. **296**(1): p. 123-127.