

**M A S A R Y K O V A
U N I V E R Z I T A**

LÉKAŘSKÁ FAKULTA

**Klinický význam
prognostických a prediktivních
markerů u gynekologických
zhoubných nádorů**

HABILITAČNÍ PRÁCE

Komentovaný soubor prací

MUDr. Markéta Bednaříková, Ph.D.

Interní hematologická a onkologická klinika
Obor Onkologie

Brno 2026

Poděkování

Ráda bych poděkovala všem kolegům a spolupracovníkům, kteří se v průběhu uplynulých let podíleli na projektech prezentovaných v této habilitační práci. Většina výsledků vznikla díky mezioborové spolupráci odborníků různých specializací a byla by nemyslitelná bez otevřeného sdílení znalostí, zkušeností a společného úsilí o rozvoj gynekologické onkologie.

Zcela zvláštní poděkování patří prof. MUDr. Vítu Weinbergerovi, Ph.D., s nímž jsem měla možnost sdílet profesní cestu od počátků svého působení v oblasti gynekologické onkologie. Děkuji za dlouholetou podporu, důvěru, inspiraci a spolupráci při budování odborných i výzkumných aktivit, které významně ovlivnily mé profesní směřování.

Velmi děkuji také MUDr. Jitce Hausnerové, Ph.D., za dlouholetou odbornou i lidskou podporu, nesčetné odborné diskuse, cenné připomínky a spolupráci při realizaci řady výzkumných projektů.

Mé poděkování patří rovněž všem kolegům, kteří se podílejí na péči o pacientky s gynekologickými malignitami ve Fakultní nemocnici Brno. Každodenní spolupráce klinických onkologů, onkogynekologů, patologů, radiologů, radiačních onkologů, molekulárních biologů, specializovaných sester a dalších odborníků představuje nejen základ kvalitní péče o pacientky, ale také zdroj odborné inspirace a nových výzkumných otázek.

Velmi si vážím rovněž spolupráce se členy Mezioborové pracovní skupiny pro onkogynekologii FN Brno, kolegy z Masarykovy univerzity, Centra precizní onkologie FN Brno a partnerských pracovišť v České republice i zahraničí. Možnost podílet se na společných klinických a translačních projektech významně přispěla k mému odbornému i vědeckému rozvoji.

V neposlední řadě děkuji své rodině za trpělivost, podporu a pochopení během celého období, kdy tato práce vznikala. Jejich zázemí, povzbuzení a důvěra pro mě byly nepostradatelné a umožnily mi věnovat se vedle klinické práce také vědecké činnosti.

STRUKTURA TEXTU PRÁCE

Tuto habilitační práci tvoří soubor 10 publikovaných prací, jejichž autorkou nebo spoluautorkou je uchazečka. Publikované práce jsou vloženy v PDF formátu, tedy v grafické podobě a jazyku odpovídajícím jejich původnímu časopiseckému nebo knižnímu vydání. Jednotlivé práce jsou uvedeny krátkými shrnujícími komentáři včetně hodnoty impakt faktoru a počtu citací ve Web of Science, jsou-li tyto údaje k dispozici. Komentáře jsou také propojeny doplňujícím textem, který jednotlivé publikace uvádí do kontextu se současným stavem poznání.

OBSAH

Poděkování	- 2 -
STRUKTURA TEXTU PRÁCE	- 3 -
OBSAH	- 4 -
KOMENTÁŘ	- 7 -
COMMENTARY	- 9 -
1 Úvod	- 14 -
2 Karcinom endometria: prognostické a prediktivní markery	- 25 -
2.1 Predikce rizika recidivy v době diagnózy	- 25 -
2.2 Rizikové skupiny před integrací molekulární klasifikace	- 27 -
2.3 Tkáňové prognostické markery a riziko recidivy	- 28 -
2.3.1 Vlastní přínos k problematice	- 29 -
<i>Příloha 1: A Novel Approach to Preoperative Risk Stratification in Endometrial Cancer: The Added Value of Immunohistochemical Markers</i>	<i>- 30 -</i>
2.4 Sérové markery a jejich klinický význam u karcinomu endometria	- 44 -
2.4.1 Vlastní přínos k problematice	- 44 -
<i>Příloha 2: The Clinical Significance of DJ1 and L1CAM Serum Level Monitoring in Patients with Endometrial Cancer</i>	<i>- 45 -</i>
2.5 Molekulární klasifikace karcinomu endometria a predikce rizika recidivy v době diagnózy	- 61 -
2.5.1 Vlastní přínos k problematice	- 62 -
<i>Příloha 3: Molekulární testování karcinomu endometria – analýza prvních zkušeností z klinické praxe</i>	<i>- 63 -</i>
2.6 Molekulární charakteristika karcinomu endometria a individualizace systémové léčby.....	- 73 -
2.6.1 Molekulárně cílená léčba a imunoterapie	- 73 -
2.6.2 Vlastní přínos k problematice	- 74 -
<i>Příloha 4: Druhá a vyšší linie systémové léčby karcinomu endometria – zkušenosti z reálné klinické praxe</i>	<i>- 75 -</i>
2.7 Současné principy diagnostiky a léčby karcinomu endometria – syntéza poznatků pro klinickou praxi.....	- 87 -
2.7.1 Vlastní přínos k problematice	- 87 -

Příloha 5: Karcinom endometria	- 87 -
3 Karcinom ovaria: prediktivní markery chemosenzitivity a individualizace systémové léčby	- 107 -
3.1 Význam hodnocení odpovědi na platinovou chemoterapii.....	- 109 -
3.2 Molekulární determinanty odpovědi na platinovou chemoterapii.....	- 110 -
3.3 Schlafen11 a odpověď na DNA-poškozující léčbu	- 111 -
3.3.1 Vlastní přínos k problematice	- 112 -
Příloha 6: Can Schlafen 11 Help to Stratify Ovarian Cancer Patients Treated with DNA-Damaging Agents?	- 113 -
Příloha 7: Význam nového prediktivního markeru Schlafen 11 u pacientek s karcinomem ovaria léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu – výsledky pilotní analýzy	- 127 -
3.4 Imunitní mikroprostředí a exprese PD-L1 u karcinomu ovaria.....	- 132 -
3.4.1 Vlastní přínos k problematice	- 132 -
Příloha 8: Pilotní analýza exprese PD-L1 u pacientek s ovariálním karcinomem léčených chemoterapií na bázi platiny	- 133 -
3.5 Klinický význam alterací SMARCA4 u karcinomu ovaria	- 137 -
3.5.1 Vlastní přínos k problematice	- 137 -
Příloha 9: SMARCA4-deficient dedifferentiated ovarian carcinoma with rapid progression during adjuvant platinum-based chemotherapy: a case report and implications for molecular-driven treatment strategies	- 138 -
3.6 Komplexní genomové profilování a individualizace léčby karcinomu ovaria	- 147 -
3.6.1 Vlastní přínos k problematice	- 148 -
Příloha 10: Genomic complexity and evolution of high-grade serous ovarian cancer treated with platinum-based chemotherapy: advancing precision oncology beyond BRCA1/BRCA2	- 148 -
4 Syntéza výsledků habilitační práce a související vědecké činnosti	- 160 -
5 Závěr	- 163 -
Seznam zkratk	- 164 -
Seznam obrázků	- 166 -
Seznam tabulek	- 167 -
Literatura	- 168 -

KOMENTÁŘ

Předložená habilitační práce je sestavena jako komentovaný soubor publikací věnovaných problematice prognostických a prediktivních markerů u gynekologických zhoubných nádorů. Zařazené práce vznikaly v průběhu posledního desetiletí a dokumentují postupný vývoj odborného a vědeckého zaměření autorky v oblasti gynekologické onkologie. Společným jmenovatelem všech publikací je snaha o lepší pochopení biologické podstaty gynekologických malignit a o využití získaných poznatků k individualizaci diagnostických a léčebných postupů. V posledních dvou desetiletích došlo v onkologii k zásadnímu posunu od tradičního hodnocení klinicko-patologických charakteristik nádorů k integraci molekulárních a genetických informací, které stále významněji ovlivňují diagnostické i terapeutické rozhodování. Právě tento vývoj představuje základní rámec předložené habilitační práce.

Významná část prezentovaných výzkumných aktivit byla realizována v rámci Mezioborové pracovní skupiny pro onkogynekologii Fakultní nemocnice Brno, která vznikla s cílem propojit klinickou péči s výzkumnou činností a vytvořit platformu pro spolupráci klinických onkologů, onkogynekologů, patologů, molekulárních biologů, radiologů, radiačních onkologů a dalších odborností. Mezioborová spolupráce představuje nezbytný předpoklad moderního klinického výzkumu a umožňuje efektivní přenos nových poznatků mezi laboratorním a klinickým prostředím. Vytvoření této platformy významně přispělo k rozvoji řady výzkumných projektů zaměřených na biologické charakteristiky gynekologických nádorů a jejich klinické souvislosti.

První tematický okruh habilitační práce je věnován karcinomu endometria. Toto onemocnění představuje nejčastější gynekologickou malignitu ve vyspělých zemích a v posledních letech prošlo zásadní proměnou, zejména díky zavedení molekulární klasifikace. Ta významně doplnila tradiční klinicko-patologickou stratifikaci pacientek v době diagnózy podle míry rizika recidivy a umožnila přesnější odhad prognózy, větší individualizaci léčebných postupů a v některých případech také predikci léčebné odpovědi.

Publikace zařazené do této části práce se zaměřují na klinický význam molekulární klasifikace, možnosti její implementace do běžné klinické praxe a využití molekulárních markerů při rozhodování o rozsahu operační léčby. Významnou součástí těchto aktivit představovala také mezinárodní spolupráce v rámci European Network of Individualized Treatment in Endometrial Cancer (ENITEC), která umožnila zapojení do projektů zaměřených na validaci molekulárně založených prognostických modelů a jejich využití v každodenní klinické praxi.

Druhý tematický celek je věnován karcinomu ovaria. Navzdory pokrokům v chirurgické i systémové léčbě zůstává karcinom ovaria jednou z nejzávažnějších gynekologických malignit a významným klinickým problémem zůstává zejména primární nebo získaná rezistence k systémové léčbě. Publikace zařazené do této části práce se zabývají studiem nových prognostických a prediktivních markerů, zejména proteinu Schlafen 11 (SLFN11), exprese PD-L1 a alterací genu *SMARCA4*. Tyto práce přispěly k lepšímu pochopení biologické heterogenity onemocnění, mechanismů léčebné odpovědi i vzniku rezistence k protinádorové léčbě. Současně reflektují rostoucí význam nádorového mikroprostředí a interakcí mezi nádorovými a imunitními buňkami, které představují jednu z klíčových oblastí současného onkologického výzkumu.

Postupně se výzkumné aktivity autorky rozšířily také o problematiku komplexního genomového profilování nádorů a precizní onkologii. Zavedení metod sekvenování nové generace umožnilo identifikovat molekulární alterace s potenciálním terapeutickým významem a otevřelo cestu k širšímu využití cílené léčby u pacientek s gynekologickými malignitami. Součástí prezentovaných aktivit bylo rovněž hodnocení významu genomového profilování u pacientek z běžné praxe i posouzení klinické a terapeutické využitelnosti identifikovaných molekulárních alterací. Tyto práce dokumentují postupný přechod od studia jednotlivých biomarkerů ke komplexnímu molekulárnímu pohledu na nádorové onemocnění.

Současně s výzkumem biomarkerů byla významná část aktivit věnována implementaci nových poznatků do klinické péče. Vedle vlastních výzkumných projektů se autorka podílela na zavádění nových léčebných postupů do klinické praxe, tvorbě odborných doporučení a realizaci klinických studií. Zvláštní pozornost byla věnována hodnocení nových možností systémové léčby gynekologických malignit a jejich uplatnění v klinické praxi. Tyto aktivity představují přirozené propojení vědecké práce s každodenní péčí o pacientky a odrážejí přesvědčení, že hlavním cílem klinického výzkumu není pouze generování nových poznatků, ale především jejich využití ve prospěch pacientek.

Předložený soubor publikací dokumentuje postupný vývoj výzkumných aktivit autorky od studia jednotlivých prognostických a prediktivních markerů až po integraci molekulárních informací do diagnostiky a léčby gynekologických malignit. Současně odráží dlouhodobou snahu o propojení klinické a výzkumné činnosti a o implementaci nových poznatků do každodenní péče o pacientky s gynekologickými nádory. Do předkládané habilitační práce nebyly zařazeny všechny publikace autorky, ale pouze vybrané práce zvolené s ohledem na jejich tematickou návaznost na předmět habilitační práce a schopnost odrážet odborný a vědecký vývoj autorky. Zařazené studie představují práce, na jejichž návrhu, získávání a analýze dat, interpretaci výsledků, přípravě rukopisů a/nebo celkovém vědeckém směřování se autorka významným způsobem podílela.

V následující části jsou uvedeny bibliografické údaje vybraných publikací spolu s charakteristikou podílu autorky na jednotlivých studiích.

COMMENTARY

The submitted habilitation thesis is presented as a commented collection of publications focused on prognostic and predictive biomarkers in gynecological malignancies. The included studies were conducted over the past decade and document the gradual evolution of the author's scientific and professional interests in gynecological oncology. A common theme across the publications is the effort to deepen understanding of the biological basis of gynecological cancers and to translate newly acquired knowledge into individualized diagnostic and therapeutic approaches.

Over the past two decades, oncology has undergone a profound transformation, shifting from the traditional assessment of clinicopathological tumor characteristics toward the integration of molecular and genetic information, which increasingly influences both diagnostic and therapeutic decision-making. This development forms the conceptual framework of the present habilitation thesis.

A substantial portion of the research presented was conducted within the Multidisciplinary Gynecologic Oncology Working Group at University Hospital Brno. The group was established to link clinical care with research and to create a collaborative platform for clinical oncologists, gynecologic oncologists, pathologists, molecular biologists, radiologists, radiation oncologists, and other specialists. Interdisciplinary collaboration represents an essential prerequisite for modern clinical research and enables the effective translation of scientific discoveries from the laboratory into clinical practice. The establishment of this platform significantly contributed to the development of multiple research projects focused on the biological characteristics of gynecological cancers and their clinical implications.

The first thematic section of the thesis is devoted to endometrial cancer. As the most common gynecological malignancy in developed countries, endometrial cancer has undergone substantial changes in recent years, particularly with the introduction of molecular classification. This approach has significantly complemented traditional clinicopathological risk stratification at the time of diagnosis and has enabled more accurate prognostic assessment, greater individualization of treatment strategies, and, in selected situations, prediction of treatment response. The publications in this section focus on the clinical significance of molecular classification, its implementation in routine clinical practice, and the use of molecular markers in treatment decision-making. An important component of these activities was international collaboration within the European Network of Individualized Treatment in Endometrial Cancer (ENITEC), which provided opportunities to participate in projects focused on validating molecularly based prognostic models and applying them in everyday clinical practice.

The second thematic section addresses ovarian cancer. Despite advances in surgical and systemic treatment, ovarian cancer remains one of the most serious gynecological malignancies, and both primary and acquired resistance to systemic therapy pose a major clinical challenge. The publications in this part of the thesis focus on novel prognostic and predictive biomarkers, particularly Schlafen 11 (SLFN11), PD-L1 expression, and SMARCA4 alterations. These studies have advanced understanding of tumor heterogeneity, mechanisms of treatment response, and the development of therapeutic resistance. They also underscore the growing importance of the tumor microenvironment

and interactions between tumor and immune cells, which are key areas of oncological research.

Over time, the author's research expanded to include comprehensive genomic profiling and precision oncology. The implementation of next-generation sequencing technologies enabled the identification of molecular alterations with potential therapeutic relevance and opened new opportunities for targeted treatment in patients with gynecological malignancies. These activities also included evaluating genomic profiling in routine clinical practice and assessing the clinical utility and therapeutic actionability of identified molecular alterations. Collectively, these studies document a gradual transition from investigating individual biomarkers to a comprehensive molecular view of cancer.

In parallel with biomarker research, considerable attention was devoted to translating new scientific findings into clinical care. In addition to conducting research projects, the author helped introduce novel therapeutic approaches into routine practice, developed clinical recommendations, and conducted clinical trials. Particular emphasis was placed on evaluating new systemic treatment options for gynecological malignancies and their application in everyday clinical practice. These activities represent a natural integration of scientific research with patient care and reflect the conviction that the primary goal of clinical research is not only the generation of new knowledge but also its translation into meaningful patient benefits.

The collection of publications documents the gradual evolution of the author's research activities, from the study of individual prognostic and predictive biomarkers to the integration of molecular information into the diagnosis and treatment of gynecological malignancies. At the same time, it reflects a long-term effort to bridge clinical and research activities and to facilitate the implementation of novel scientific findings into the everyday care of patients with gynecological cancers. The studies included in the present habilitation thesis do not represent the complete publication record but rather a selection chosen for their relevance to the topic and their ability to reflect the author's scientific development. The included studies are those in which the author made a substantial contribution to study design, data acquisition and analysis, interpretation of results, manuscript preparation, and/or overall research direction. Together, these publications constitute the principal scientific outputs that form the basis of the present habilitation thesis.

Bibliographic records for the selected publications, along with the author's contribution to each study, are provided below.

[1] WEINBERGER, Vit, **Marketa BEDNARIKOVA**, Jitka HAUSNEROVA, Petra OVESNA, Petra VINKLEROVA, Lubos MINAR, Michal FELSINGER, Eva JANDAKOVA, Marta CIHALOVA and Michal ZIKAN. A Novel Approach to Preoperative Risk Stratification in Endometrial Cancer: The Added Value of Immunohistochemical Markers. *Frontiers In Oncology* [online]. 2019, **9**(265, Article 265). ISSN 2234-943X. Available at: doi:10.3389/fonc.2019.00265

Document Type: Article; IF = 4,848; median IF ONCOLOGY – 3,297; according to IF ONCOLOGY Q2

Experimental work (%)	Supervision (%)	Manuscript (%)	Research direction (%)
40	20	40	40

[2] **BEDNARIKOVA, Marketa**, Petra VINKLEROVA, Jana GOTTWALDOVA, Petra OVESNA, Jitka HAUSNEROVA, Lubos MINAR, Michal FELSINGER, Dalibor VALIK, Zdenka CERMAKOVA and Vit WEINBERGER. The Clinical Significance of DJ1 and L1CAM Serum Level Monitoring in Patients with Endometrial Cancer. Journal Of Clinical Medicine [online]. 2021, 10(12, Article 2640). ISSN 2077-0383. Available at: doi:10.3390/jcm10122640

Document Type: Article; IF = 4,964; median IF MEDICINE, GENERAL & INTERNAL – 2,982; according to IF MEDICINE, GENERAL & INTERNAL Q2; according to AIS MEDICINE, GENERAL & INTERNAL Q2

Experimental work (%)	Supervision (%)	Manuscript (%)	Research direction (%)
70	90	90	90

[3] **BEDNAŘÍKOVÁ, Markéta *(corresponding author)***, J. HAUSNEROVÁ, L. MINÁŘ, R. TASLEROVÁ, P. VINKLEROVÁ, L. EHRLICHOVÁ, J. TRIZULJAK, I. BLAHÁKOVÁ, D. PRINC, K. MATULOVÁ, P. OVESNÁ, O. SLABÝ and V. WEINBERGER. Molecular testing of endometrial carcinoma in real-world clinical practice; [Molekulární testování karcinomu endometria – analýza prvních zkušeností z klinické praxe]. Klinická Onkologie [online]. 2023, 36(3), 215–223. ISSN 0862-495X. Available at: doi:10.48095/ccko2023215

Document Type: Article; Category: Oncology – SJR Q4

Experimental work (%)	Supervision (%)	Manuscript (%)	Research direction (%)
60	90	90	70

[4] **BEDNAŘÍKOVÁ, M. *(corresponding author)***, M. KOBLÍŽKOVÁ, P. OVESNÁ, J. HAUSNEROVÁ, L. EHRLICHOVÁ, M. FELSINGER, M. TOMKOVÁ, L. MINÁŘ a V. WEINBERGER. Second and subsequent lines of systemic therapy in endometrial cancer: A real-world clinical experience; [Druhá a vyšší linie systémové léčby karcinomu endometria – zkušenosti z reálné klinické praxe]. Klinická Onkologie [online]. 2026, 39 (3), 1-12. ISSN 0862-495X. Available at doi: 10.48095/ccko2026184

Document Type: The article was published in *Klinická onkologie* on June 15, 2026; however, as of the application date to initiate the habilitation procedure, it had not yet been indexed in the Scopus database.

Experimental work (%)	Supervision (%)	Manuscript (%)	Research direction (%)
90	100	90	100

[5] **BEDNAŘÍKOVÁ, Markéta**; Vít WEINBERGER; Petra BRETOVÁ a Lucie EHRLICHOVÁ. Endometrial cancer; [Karcinom endometria]. In ZIKÁN, Michal.

Onkogynekologie. 1. vyd. Praha: Maxdorf, 2024, s. 159-176. Jessenius. ISBN 978-80-7345-786-0.

Document Type: Chapter in textbook

Experimental work (%)	Supervision (%)	Manuscript (%)	Research direction (%)
-	90	80	90

[6] **BEDNARIKOVA, Marketa**, Jitka HAUSNEROVA, Lucie EHRLICHOVA, Kvetoslava MATULOVA, Eliska GAZARKOVA, Lubos MINAR and Vit WEINBERGER. Can Schlafen 11 Help to Stratify Ovarian Cancer Patients Treated with DNA-Damaging Agents?. *Cancers* [online]. 2022, 14(10, Article 2353). ISSN 2072-6694. Available at: doi:10.3390/cancers14102353

Document Type: Review; IF = 5,200; median IF ONCOLOGY – 3,600; according to IF ONCOLOGY Q2; according to AIS ONCOLOGY Q2

Experimental work (%)	Supervision (%)	Manuscript (%)	Research direction (%)
-	80	90	90

[7] HAUSNEROVÁ, J., L. EHRLICHOVÁ, P. OVESNÁ, K. MATULOVÁ, J. CHLUBNOVÁ, V. WEINBERGER and **Markéta BEDNAŘÍKOVÁ *(corresponding author)***. The role of Schlafen 11 as a predictive biomarker in ovarian cancer patients treated with platinum-based chemotherapy – results of the pilot analysis; [Význam nového prediktivního markeru Schlafen 11 u pacientek s karcinomem ovaria léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu – výsledky pilotní analýzy]. *Klinická Onkologie* [online]. 2023, 36, S127 - S130. ISSN 0862-495X. Available at: doi:10.48095/ccko2023S127

Document Type: Article; Category: Oncology – SJR Q4

Experimental work (%)	Supervision (%)	Manuscript (%)	Research direction (%)
50	70	80	70

[8] HAUSNEROVÁ, J., L. EHRLICHOVÁ, P. OVESNÁ, E. GAZÁRKOVÁ, J. CHLUBNOVÁ, K. MATULOVÁ, L. MINÁŘ, V. WEINBERGER and **M. BEDNAŘÍKOVÁ *(corresponding author)***. Pilot analysis of the PD-L1 expression in ovarian cancer patients treated with platinum-based chemotherapy; [Pilotní analýza exprese PD-L1 u pacientek s ovariálním karcinomem léčených chemoterapií na bázi platiny]. *Klinická Onkologie*. 2022, 35, S135 - S137. ISSN 0862-495X.

Document Type: Article; Category: Oncology – SJR Q4

Experimental work (%)	Supervision (%)	Manuscript (%)	Research direction (%)
50	70	80	70

[9] **BEDNARIKOVA, Marketa**, Jitka HAUSNEROVA, Petra POKORNA, Michal FELSINGER, Svatopluk RICHTER, Lucie EHRLICHOVA, Jana ORLICKOVA, Lubos MINAR,

Ondrej SLABY and Vit WEINBERGER. SMARCA4-deficient dedifferentiated ovarian carcinoma with rapid progression during adjuvant platinum-based chemotherapy: a case report and implications for molecular-driven treatment strategies. Therapeutic Advances In Medical Oncology [online]. 2025, 17(17588359251376858, Article 17588359251376858). ISSN 1758-8359. Available at: doi:10.1177/17588359251376858

Document Type: Article; in 2024 IF = 4,200; median IF ONCOLOGY – 2,800; according to IF ONCOLOGY Q2; according to AIS ONCOLOGY Q2

Experimental work (%)	Supervision (%)	Manuscript (%)	Research direction (%)
70	90	80	90

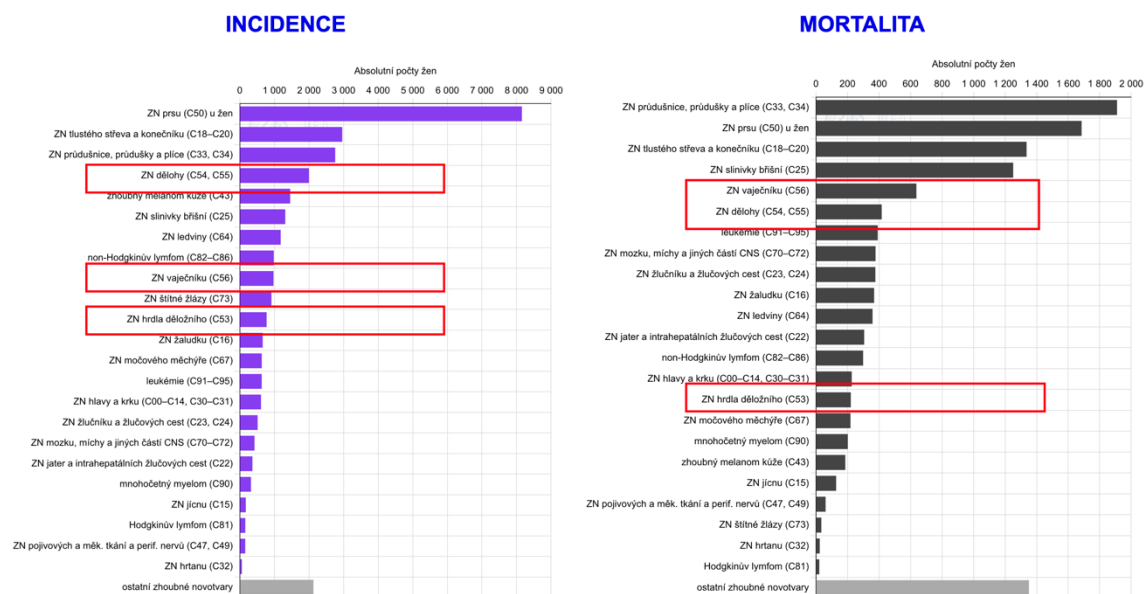
[10] POKORNA, Petra, Jana ORLICKOVA, Tana MACHACKOVA, Jitka HAUSNEROVA, Lucie EHRLICHOVA, Robin JUGAS, Eliska HLOUSKOVA, Alena HOMOLOVA, Sara VILMANOVA, Julia BOHOSOVA, Kamila SOUCKOVA, Marek SVOBODA, Vit WEINBERGER, Ondrej SLABY and **Marketa BEDNARIKOVA *(corresponding author)***. Genomic complexity and evolution of high-grade serous ovarian cancer treated with platinum-based chemotherapy: advancing precision oncology beyond BRCA1/BRCA2. Journal Of Ovarian Research [online]. 2025, 19(1, Article 3). ISSN 1757-2215. Available at: doi:10.1186/s13048-025-01911-z

Document Type: Article; in 2024 IF = 4,200; median IF REPRODUCTIVE BIOLOGY – 2,400; according to IF REPRODUCTIVE BIOLOGY Q1; according to AIS REPRODUCTIVE BIOLOGY Q2

Experimental work (%)	Supervision (%)	Manuscript (%)	Research direction (%)
30	80	30	70

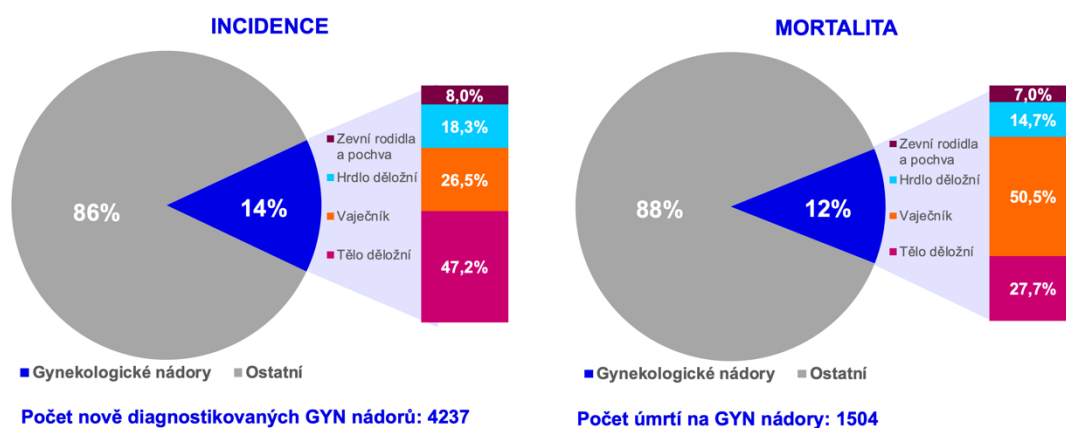
1 Úvod

Gynekologické zhoubné nádory (ZN) představují nádorová onemocnění postihující ženský reprodukční systém, která se tradičně rozdělují podle místa původu na nádory vaječníků, těla a hrdla děložního, pochvy a zevních rodidel. Každoročně je v České republice diagnostikováno více než 4000 nových případů, čímž se tato skupina nádorů řadí v incidenci u žen na druhé místo, hned za nádory prsu. Přibližně 1500 žen na toto onemocnění ročně umírá, což odpovídá třetímu místu z hlediska mortality (Obr. 1).



Obr. 1. Incidence a mortalita zhoubných nádorů u žen v České republice podle diagnóz (2023). Data: Národní onkologický registr ČR, Český statistický úřad (korekce dle NOR).

Gynekologické malignity jako celek zaujímají 14 % všech nově diagnostikovaných případů zhoubných nádorů u žen a 12 % všech úmrtí. Nejčastější gynekologickou malignitou jsou nádory těla děložního (47,2 %), následované nádory vaječníků (26,5 %), nádory hrdla děložního (18,3 %) a nádory pochvy, resp. zevních rodidel (8,0 %). Naopak nejvyšší podíl úmrtí je zaznamenán u zhoubných nádorů vaječníků (50,5 %) (Obr. 2).

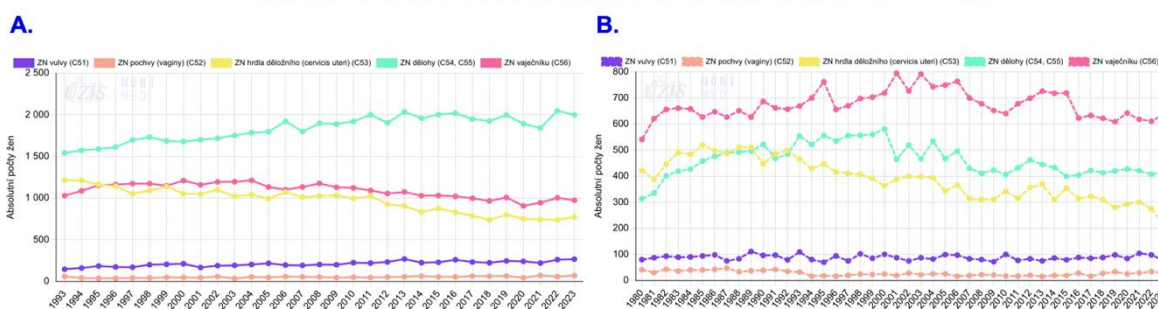


Data za rok 2023 v České republice. Zdroj dat: ČSÚ, korekce dle NOR

Obr. 2. Incidence a mortalita gynekologických zhoubných nádorů v kontextu celkové nádorové zátěže žen v České republice (2023). Data: ČSÚ, korekce dle Národního onkologického registru.

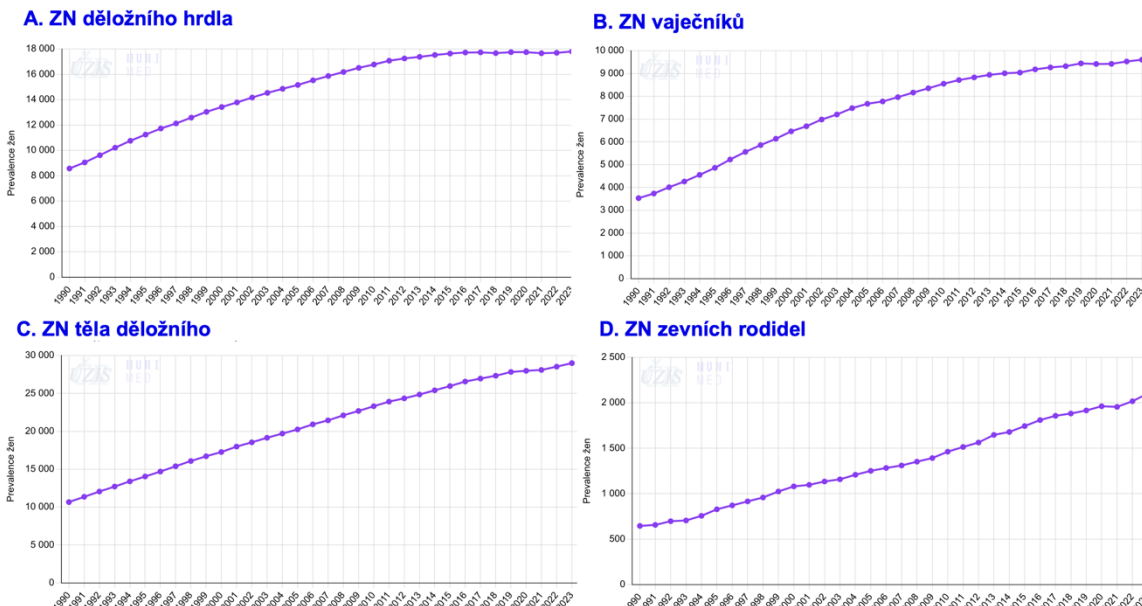
Z dlouhodobého hlediska je patrný pokles incidence nádorů vaječníků a děložního hrdla, zatímco u nádorů těla děložního a pochvy přetrvává spíše stabilní vývoj. Naopak vzestupný trend nově diagnostikovaných případů je pozorován u nádorů zevních rodidel. Mortalita v posledních letech vykazuje klesající tendenci u nádorů děložního hrdla a zevních rodidel, zatímco u nádorů vaječníků, děložního těla a pochvy převažuje spíše setrvalý stav (Obr. 3). Zátěž, kterou gynekologické zhoubné nádory představují pro systém zdravotní péče v České republice, dále dokládají údaje o dlouhodobě narůstající prevalenci jednotlivých typů gynekologických malignit, s výjimkou nádorů děložního hrdla (Obr. 4) [1].

TRENDY INCIDENCE A MORTALITY GYNEKOLOGICKÝCH ZN V ČR



Obr. 3. Dlouhodobé trendy incidence (A) a mortality (B) gynekologických zhoubných nádorů v České republice v letech 1993–2023 (absolutní počty žen). Data: Národní onkologický registr ČR, Český statistický úřad (korekce dle NOR).

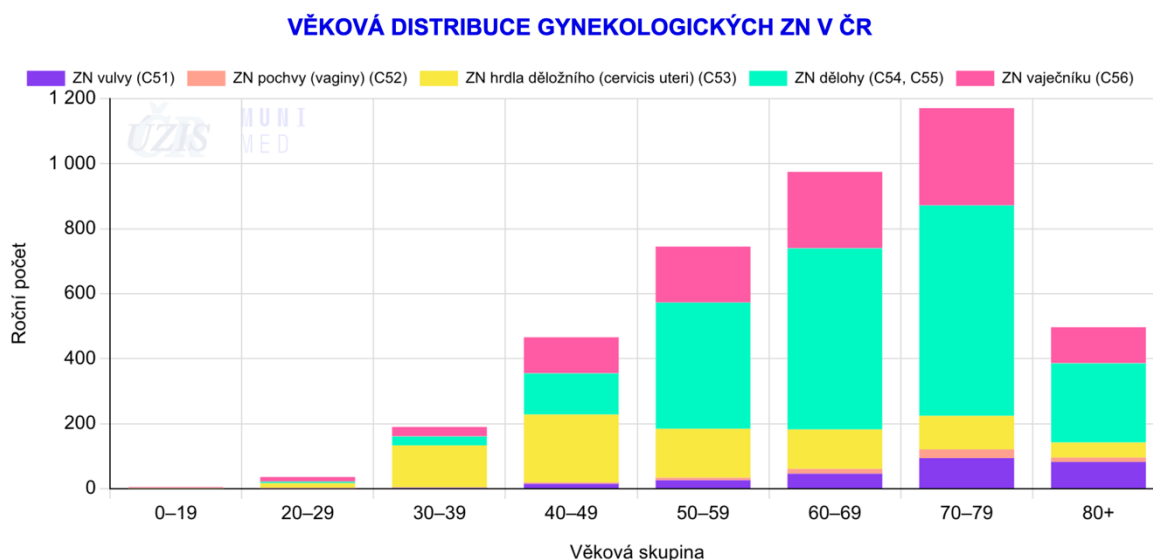
PREVALENCE VYBRANÝCH GYNEKOLOGICKÝCH ZN V ČR



Obr. 4. Časový trend prevalence vybraných gynekologických zhoubných nádorů v České republice v období 1990–2023 (absolutní počty žen): A) zhoubné nádory hrdla děložního, B) zhoubné nádory vaječníků, C) zhoubné nádory těla děložního, D) zhoubné nádory zevních rodidel. Data: Národní onkologický registr ČR, Český statistický úřad (korekce dle NOR).

Z pohledu etiopatogeneze, možností prevence, klinického obrazu i prognózy jde o velmi heterogenní skupinu nádorových onemocnění se specifickými diagnosticko-léčebnými postupy pro každou jednotlivou topiku. Zřetelné rozdíly lze pozorovat již ve

věkové distribuci jednotlivých diagnóz. Zatímco zhoubné nádory děložního hrdla jsou častěji diagnostikovány u mladších žen (30–49 let), nádory těla děložního a zevních rodidel postihují především ženy vyššího věku, s maximem výskytu ve věkové skupině 60–79 let u nádorů těla děložního, resp. 70 a více pro nádory zevních rodidel. Zhoubné nádory vaječníků se mohou vyskytovat ve všech věkových kategoriích, nejvyšší incidence je však pozorována u žen ve věku 50–79 let (Obr. 5).



Obr. 5. Věková distribuce vybraných gynekologických zhoubných nádorů v době diagnózy u žen v České republice (absolutní počty žen). Data: Národní onkologický registr ČR, Český statistický úřad (korekce dle NOR).

Přestože většina gynekologických zhoubných nádorů vzniká sporadicky, genetická dispozice se podílí na vzniku přibližně 15 % karcinomů vaječníků, nejčastěji v souvislosti se zárodečnými mutacemi genů *BRCA1* a *BRCA2*, a 5 % karcinomů endometria v rámci Lynchova syndromu. Významnou roli v etiopatogenezi některých gynekologických malignit hraje také infekce lidským papilomavirem (human papillomavirus; HPV). Ta je zásadním rizikovým faktorem zejména pro nádory děložního hrdla (90–95 %) a podílí se rovněž na vzniku části nádorů pochvy (65–80 %) a zevních rodidel (přibližně 60 %). Karcinom děložního hrdla je zároveň jedinou gynekologickou malignitou, pro kterou je v České republice zaveden celoplošný screeningový program. Ten je založen na cytologickém a kolposkopickém vyšetření děložního hrdla a umožňuje záchyt i léčbu prekancerózních lézí. Významný posun v prevenci karcinomu děložního hrdla i dalších HPV-asociovaných malignit představuje rovněž očkování proti HPV, které spolu se screeningem významně přispívá k dlouhodobému poklesu incidence tohoto onemocnění (Obr. 3A).

Spektrum dalších rizikových faktorů asociovaných se vznikem gynekologických zhoubných nádorů se rovněž liší podle jejich orgánového původu. Například stavy spojené se zvýšenou estrogenní stimulací jsou považovány za významný predispoziční faktor zejména pro nejčastější histologický typ karcinomu endometria, tedy endometroidní karcinom. Vyšší počet ovulací je spojován se zvýšeným rizikem karcinomů vaječníků, zatímco faktory vedoucí ke snížení počtu ovulací, jako jsou těhotenství nebo užívání hormonální antikoncepce (HAK), mají protektivní efekt. Z faktorů životního stylu

je prokázán rizikový vliv kouření zejména pro karcinomy děložního hrdla, pochvy a zevních rodidel, naproti tomu rizikové sexuální chování je spojováno především se zvýšeným rizikem infekce HPV a následným vznikem karcinomu děložního hrdla. Obezita a další metabolické determinanty jsou asociovány především s vyšším rizikem vzniku karcinomu endometria a v menší míře také karcinomu vaječníků. Předchozí ozáření pánve je spojováno zejména se vznikem sekundárních nádorů, včetně sarkomů dělohy a některých nádorů pochvy (Tabulka 1).

Tabulka 1: Přehled vybraných etiologických a rizikových faktorů spojených se vznikem jednotlivých gynekologických zhoubných nádorů.

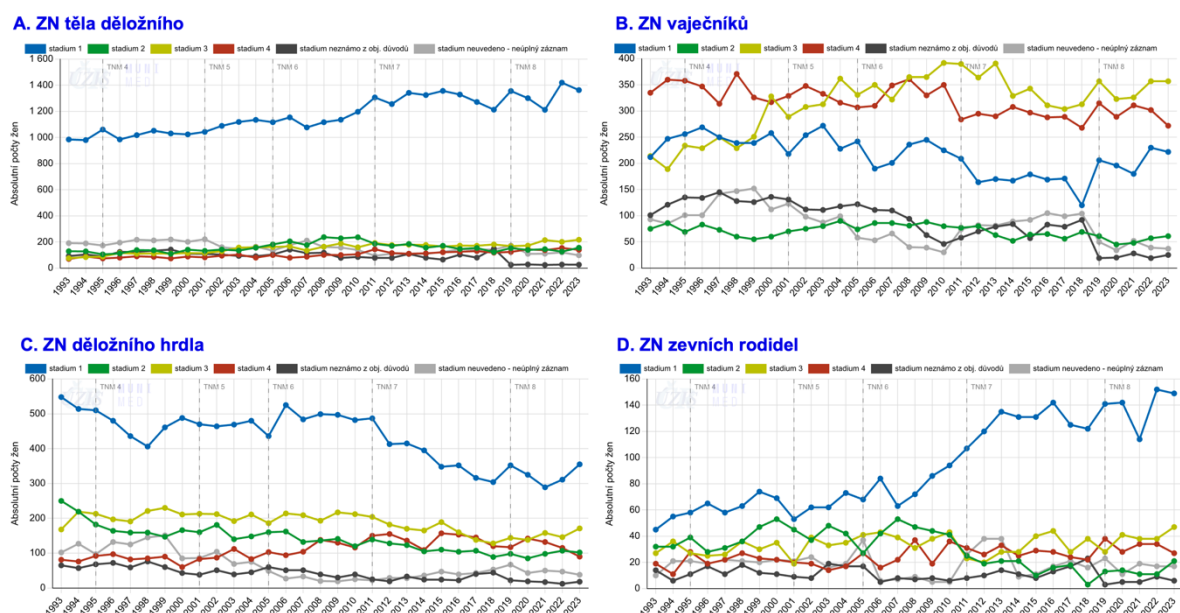
Upraveno podle ESMO guidelines a FIGO Cancer Reports [2, 3]

Rizikový faktor	ZN dělohy	ZN hrdla	ZN vaječníku	ZN pochvy	ZN vulvy
Věk	+		+	+	+
HPV infekce		+		+	+
Genetika	+	(+)	+		
Estrogenní stimulace ↑	+				
Nižší počet ovulací, HAK (protektivní)			+		
Kouření		+		+	+
Obezita a metabolické faktory	+		(+)		
Rizikové sexuální chování		+			
Ozáření pánve	+		(+)	+	

Symbol + označuje významnou epidemiologickou asociaci, symbol (+) méně častou nebo slabší souvislost. HPV – Human Papillomavirus; HAK – hormonální antikoncepce; ZN – zhoubné nádory.

Rovněž symptomatologie v době diagnózy není u gynekologických zhoubných nádorů totožná. Společným rysem je často absence příznaků v časných stadiích onemocnění, s výjimkou nádorů děložního těla, u nichž bývá patologické vaginální krvácení zpravidla příznakem již v počátečních fázích nemoci. U ostatních nádorů je typický dlouhodobě bezpříznakový průběh a nástup klinických potíží až v pokročilejších stadiích. Mezi nejčastější projevy nádorů děložního hrdla a pochvy patří vedle abnormálního vaginálního krvácení (například po pohlavním styku nebo v menopauze) také zapáchající či krvavý výtok a bolesti při pohlavním styku nebo v podbřišku. Příznaky nádorů vaječníků jsou zpravidla velmi nespecifické; patří mezi ně zejména pocity plnosti, nadýmání a zvětšování objemu břicha související s rozšířením nádoru mimo pánevní dutinu. Nádory zevních rodidel na sebe mohou upozornit například úporným svěděním či pálením, vznikem hmatné rezistence doprovázené chronickou bolestí, změnami barvy kůže nebo výtokem a zvětšením uzlin v tříselech [4–8]. Absence efektivního screeningu a pozdní nástup symptomů patří mezi hlavní příčiny skutečnosti, že až 75 % nádorů vaječníků je diagnostikováno v pokročilém stadiu onemocnění (Obr. 6B). Naopak časná symptomatologie nádorů těla děložního se zásadním způsobem podílí na vysokém podílu časných stadií v době diagnózy u této malignity (Obr. 6A).

KLINICKÁ STADIA V DOBĚ DIAGNÓZY V ČR



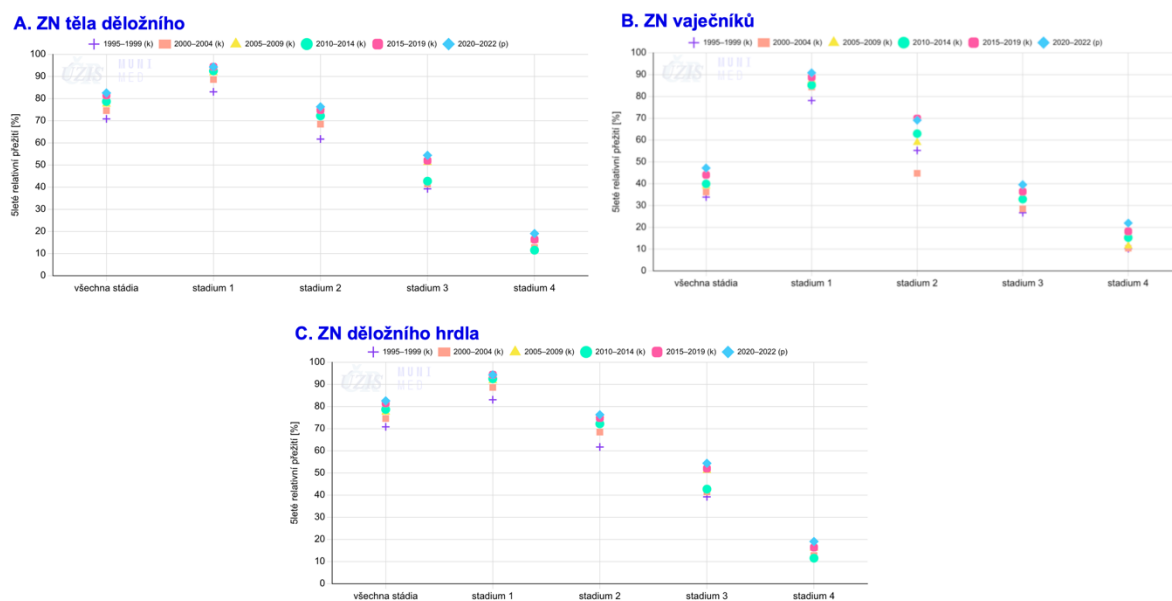
Obr. 6. Rozložení klinických stadií v době diagnózy u vybraných gynekologických zhoubných nádorů v České republice (absolutní počty žen). Data: Národní onkologický registr ČR, Český statistický úřad (korekce dle NOR).

Gynekologické zhoubné nádory se odlišují také z hlediska histomorfologických charakteristik a spektra histologických typů. Ve všech lokalizacích sice převažují karcinomy jako dominantní skupina nádorů, nicméně jejich zastoupení a biologické vlastnosti se výrazně liší. U nádorů těla děložního je nejčastější variantou dobře diferencovaný endometroidní adenokarcinom, který představuje 70–80 % všech případů a jehož prekancerózou je endometroidní intraepiteliální neoplazie (endometrioid intraepithelial neoplasia, EIN). U nádorů vaječníků převládá high-grade serózní karcinom (high-grade serous carcinoma, HGSC), tvořící přibližně 70–75 % nově diagnostikovaných případů a většinu úmrtí na toto onemocnění. Většina těchto nádorů vyrůstá z prekursorových lézí serózního tubárního intraepiteliálního karcinomu (serous tubal intraepithelial carcinoma, STIC) lokalizovaných ve vejcovodu. U nádorů děložního hrdla je dominantním histologickým typem spinocelulární karcinom vyrůstající z dlaždicového epitelu exocervixu (85–90 %), zpravidla na podkladě skvamozní intraepiteliální léze (SIL), zatímco adenokarcinomy představují minoritní variantu (10–15 %). Obdobná situace je u nádorů pochvy a zevních rodidel, kde rovněž převládají spinocelulární karcinomy [9].

Obecné zásady léčby gynekologických zhoubných nádorů vycházejí z obdobných principů jako u ostatních solidních tumorů. Mezi zásadní léčebné modalitty patří chirurgie, která má vedle terapeutického také zásadní stagingový význam, tedy umožňuje přesné stanovení rozsahu nemoci. Radioterapie jako další lokální léčebná metoda doplňuje, případně v indikovaných případech nahrazuje operační léčbu. Systémová léčba zahrnuje jak standardní chemoterapii, tak i molekulárně cílenou léčbu a imunoterapii, které zaznamenávají v posledních letech významný rozvoj v souvislosti s pokroky v molekulární biologii nádorů. Role systémové léčby se postupně rozšiřuje z původně převážně paliativního přístupu u pokročilých stadií také do časnějších fází onemocnění, kde se stává nedílnou součástí léčebných postupů umožňujících dlouhodobou kontrolu nemoci a v řadě případů i její úplné vyléčení.

Zásadním faktorem ovlivňujícím prognózu jednotlivých typů gynekologických zhoubných nádorů je stadium onemocnění v době diagnózy. Zatímco pacientky diagnostikované v prvním stadiu dosahují pětiletého přežití kolem 90 %, ve druhém stadiu klesá přibližně na 70 %, ve třetím se pohybuje mezi 30–50 % a ve čtvrtém stadiu zpravidla nepřesahuje 20 %. V České republice je v průběhu posledních let patrný trend ke zlepšování přežití napříč jednotlivými stadii onemocnění (Obr. 7). Na tomto vývoji se podílí zejména optimalizace chirurgické léčby, zdokonalování radioterapeutických postupů a rozšiřující se dostupnost moderní systémové léčby.

PŘEŽITÍ PODLE STADIÍ V DOBĚ DIAGNÓZY V ČR



Obr. 7. Pětileté relativní přežití žen s vybranými gynekologickými zhoubnými nádory v České republice podle stadia v době diagnózy. Data: Národní onkologický registr ČR, Český statistický úřad (korekce dle NOR).

Vedle stadia onemocnění v době diagnózy ovlivňují prognózu gynekologických zhoubných nádorů také další klinicko-patologické faktory, mezi které patří především histologický typ a stupeň diferenciacie (grading). U nádorů vaječníků představuje významný nezávislý prognostický faktor dosažení nulového pooperačního rezidua (R0), u nádorů dělohy jsou významnými parametry hloubka stromální invaze nebo přítomnost lymfovaskulární invaze (lymphovascular space invasion, LVSI) a u nádorů pochvy hraje důležitou roli také lokalizace nádoru. Prognózu dále ovlivňují rovněž faktory na straně pacientek, zejména věk a celkový stav v době diagnózy. Přehled vybraných klinických, patologických a laboratorních faktorů ovlivňujících prognózu nad rámec klinického stadia u nejčastějších gynekologických zhoubných nádorů shrnuje Tabulka 2.

Tabulka 2: Přehled vybraných klinických, patologických a laboratorních prognostických faktorů u gynekologických zhoubných nádorů nad rámec stadia onemocnění.

Upraveno podle ESMO guidelines a FIGO Cancer Reports [2, 3].

Diagnóza	Faktor	Typ faktoru	Prognostický význam
Děložní tělo (karcinomy)	LVSI	Patologický	Nepříznivý
	Grading	Patologický	Nepříznivý
	Věk > 60 let	Klinický	Nepříznivý

Děložní hrdlo	LVSI	Patologický	Nepříznivý
	Hloubka stromální invaze	Patologický	Nepříznivý
	Velikost tumoru	Klinický	Nepříznivý
	SCCA	Laboratorní	Korelace s prognózou
Vaječník (karcinomy)	Reziduum po operaci (R+)	Klinický	Nepříznivý
	CA125 po léčbě	Laboratorní	Korelace s prognózou
	Věk ↑	Klinický	Nepříznivý
Vulva	Hloubka stromální invaze	Patologický	Nepříznivý
	Pozitivní resekční okraje	Patologický	Nepříznivý
	Multifokalita	Patologický	Nepříznivý
Vagina	Velikost tumoru > 4 cm	Klinický	Nepříznivý
	Lokalizace nádoru	Klinický	Nepříznivý

LVSI – lymfovaskulární invaze; SCCA – antigen skvamózního karcinomu.

Tyto tradiční klinicko-patologické parametry však nedokáží plně postihnout interindividuální variabilitu biologického chování nádorů téže lokalizace, stadia, histologického typu i stupně diferenciaci. V posledních letech se proto do popředí zájmu dostává celá řada nových prognostických markerů, které tyto charakteristiky doplňují a poskytují další informace o molekulárních vlastnostech nádorové tkáně, jako jsou poruchy DNA reparace, změny v regulaci buněčného cyklu či aktivace signálních drah podporujících nádorový růst. Právě tyto rozdíly v molekulárním profilu se zásadním způsobem podílejí na variabilitě biologického chování nádorů a představují základ současného konceptu precizní onkologie. Jejich stanovení umožňuje přesnější stratifikaci pacientek podle rizika recidivy i celkové prognózy onemocnění a přispívá k další individualizaci terapeutického přístupu, včetně optimalizace rozsahu chirurgické léčby a indikace adjuvantní terapie. Souhrn klíčových molekulárních a biologických markerů, které již v klinické praxi doplňují tradiční prognostické faktory, je uveden v Tabulce 3.

Tabulka 3: Přehled vybraných molekulárních a biologických prognostických markerů u gynekologických zhoubných nádorů.

Upraveno podle WHO Classification of Female Genital Tumors a recentních přehledových prací [9–11].

Diagnóza	Marker	Typ/alterace	Prognostický význam
Ovarium	BRCA1/2	Germinální/somatická mutace	Příznivější prognóza
	HRD	Deficit homologní rekombinace	Příznivější prognóza
Endometrium	POLE	Patogenní mutace v exonukleázové doméně	Příznivá prognóza
	MMR deficit	MSI-H (molekulárně); ztráta exprese proteinů (IHC)	Intermediární prognóza
	TP53	mutace	Nepříznivá prognóza
	ER/PR	ztráta exprese (IHC)	Nepříznivá prognóza
	HPV status	HPV asociovaný nádor	Příznivější prognóza
Cervix	HPV status	HPV asociovaný nádor	Příznivější prognóza
Vulva	TP53	mutace	Nepříznivá prognóza
	HPV status	HPV asociovaný nádor	Pravděpodobně příznivější prognóza

BRCA1/2 – mutace genů BRCA1/2; HRD – deficit homologní rekombinace; POLE – gen pro polymerázu epsilon; MMR – mismatch repair systém; MSI-H – vysoká mikrosatelitová nestabilita; IHC – imunohistochemie; TP53 – gen TP53; ER – estrogenové receptory; PR – progesteronové receptory; HPV – lidský papilomavirus.

Vedle co nejpřesnějšího stanovení prognózy onemocnění nabývá zásadního významu také predikce odpovědi na systémovou léčbu. Základem systémové léčby gynekologických zhoubných nádorů nadále zůstává tradiční chemoterapie, která nespécificky cílí na rychle proliferující buňky a vedle žádoucího cytotoxického účinku na nádorové buňky způsobuje také řadu nežádoucích účinků, jako jsou hematologická, slizniční nebo gastrointestinální toxicita. Již od přelomu 70. a 80. let 20. století je chemoterapie gynekologických nádorů založena na platinových derivátech, které jsou v rámci kombinovaných režimů od 90. let 20. století doplňovány taxany. Přes dlouholeté klinické zkušenosti nebyly dosud identifikovány validované prediktivní markery, které by umožnily před zahájením léčby spolehlivě identifikovat pacientky s předpokládanou odpovědí na chemoterapii. Řada pacientek s primární nebo získanou rezistencí tak podstupuje neúčinnou léčbu zatíženou řadou nežádoucích účinků.

Dlouhá desetiletí relativně neměnné standardy systémové léčby zásadně proměnil nástup cílené léčby, jejíž mechanismus účinku spočívá v zásahu na úrovni specifických molekulárních struktur nebo signálních drah, což umožňuje selektivnější zásah do nádorového růstu. Také molekulárně cílená léčba je však provázena rizikem výskytu nežádoucích účinků, jejichž spektrum se často liší od toxicity klasické chemoterapie. Vedle nesporného zlepšení léčebných výsledků tak cílená léčba přináší i určitá rizika, zejména ve smyslu specifické toxicity a vysoké finanční náročnosti spojené s vývojem a výrobou těchto inovativních přípravků. Klinický výzkum proto spolu s vývojem nových léčiv klade velký důraz na identifikaci a validaci markerů predikujících léčebnou odpověď, které umožňují co nejpřesnější výběr pacientek profitujících z této nákladné léčby. Přehled jednotlivých modalit systémové léčby gynekologických nádorů a souvisejících prediktivních markerů dostupných v klinické praxi shrnuje Tabulka 4.

Tabulka 4: Přehled prediktivních markerů pro systémovou léčbu gynekologických zhoubných nádorů dostupných v klinické praxi.

Upraveno podle recentních mezinárodních doporučení [12–14].

Diagnóza	Léčebná modalita	Prediktivní marker	Klinické využití
Ovarium	Platinová chemoterapie	Není	Rozhodování vychází z klinického předpokladu senzitivity k platině
	Bevacizumab	Není	Indikace na základě klinických faktorů
	PARP inhibitory	BRCA1/2, HRD	Předpoklad vyšší účinnosti
	Checkpoint inhibitory	PD-L1 CPS ≥ 1	Selekce pacientek v konkrétní terapeutické indikaci
	Mirvetuximab	FR α ≥ 75 %	Selekce pacientek v konkrétní terapeutické indikaci

Endometrium	Platinová chemoterapie	Není	Léčba se řídí klinickými faktory
	Checkpoint inhibitory	MMRd; MSI-H	Předpoklad vyšší účinnosti
	Pembrolizumab + lenvatinib	Není	Léčba se řídí klinickými faktory
Cervix	Platinová chemoterapie ± bevacizumab	Není	Indikace je klinická
	Checkpoint inhibitory + CHT ± bevacizumab	PD-L1 CPS ≥1	Selekce pacientek v první linii paliativní léčby
	Checkpoint inhibitory + RT/CHT	Není	Indikace v rámci primární neoperační léčby
Vulva	Chemoterapie / imunoterapie	Není	Rozhodování dle klinických faktorů
Vagina	Chemoterapie / imunoterapie	Není	Rozhodování dle klinických faktorů
Vybrané HER2-pozitivní nádory	Anti-HER2 léčba	HER2 pozitivita (IHC/ISH)	Selekce pacientek v konkrétní klinické situaci

PARP – poly(ADP-ribóza) polymeráza; BRCA – mutace genů BRCA1/2; HRD – deficit homologní rekombinace; MMRd – deficit mismatch repair; MSI-H – vysoká mikrosatelitová nestabilita; PD-L1 CPS – kombinované pozitivní skóre; FRα – folátový receptor alfa; HER2 – receptor 2 pro epidermální růstový faktor; RT – radioterapie, CHT – chemoterapie; IHC – imunohistochemie; ISH – in situ hybridizace.

Vzhledem k rostoucímu významu biomarkerů v onkologii je nezbytné jednoznačně definovat pojmy prognostických a prediktivních markerů, které jsou v odborné literatuře někdy používány nepřesně nebo zaměnitelně. Jejich správné vymezení je klíčové pro správnou interpretaci výsledků klinických studií i racionální využití v klinické praxi. Pojem biomarker v kontextu predikce prognózy a odpovědi na léčbu obecně označuje biologickou proměnnou přítomnou v nádoru nebo produkovanou nádorem, jejíž kvantitativní nebo kvalitativní stanovení je asociováno s klinickým průběhem onemocnění. Biomarkery mohou být stanovovány různými metodami, nejčastěji chemickými, imunologickými nebo molekulárně-biologickými. Podle analyzovaného biologického materiálu, ve kterém jsou detekovány, rozlišujeme markery solubilní a tkáňové nebo buněčné. Zatímco solubilní markery jsou vyšetřovány nejčastěji v krvi (např. antigeny CA125 nebo SCCA), tkáňové nebo buněčné markery jsou vázány přímo na nádorovou tkáň, resp. nádorové buňky (např. exprese proteinu p53 nebo hormonálních receptorů ER/PR) [15].

Prognostický marker informuje o pravděpodobnosti přežití nebo riziku recidivy nezávisle na aplikované léčbě. I když může mít léčba srovnatelný efekt bez ohledu na přítomnost nebo absenci markeru, jeho průkaz odráží biologické chování nádoru. Stejně tak v situacích bez protinádorové léčby mají pacientky s přítomností markeru odlišnou prognózu než pacientky bez jeho průkazu. Příkladem molekulárních prognostických markerů u gynekologických zhoubných nádorů jsou mutace genu *TP53* nebo exonukleázové domény genu *POLE* u karcinomu endometria (Tabulka 3).

Prediktivní markery jsou na rozdíl od prognostických markerů spojeny s odpovědí na konkrétní léčebný zásah, přičemž efekt léčby se významně liší mezi pacientkami s přítomným markerem a bez něj [16]. Příkladem prediktivního markeru v onkogynekologii je průkaz defektu v systému oprav chybného párování bazí, vyjádřený ztrátou imunohistochemické exprese některého z proteinů mismatch repair systému (mismatch repair deficiency; MMRd) nebo přítomností vysoké mikrosatelitové nestability (microsatellite instability, MSI-h), viz Tabulka 4.

V kontextu využití nádorových markerů v klinické praxi je však nutné připomenout, že jejich dělení na prognostické a prediktivní se může v řadě klinických situací stírat. Ačkoliv existují markery s převážně prognostickým nebo prediktivním významem, celá řada markerů má význam kombinovaný a může být využita jak pro odhad prognózy onemocnění, tak pro predikci účinku léčby. Příkladem jsou mutace v genech BRCA1/2 nebo deficit homologní rekombinace u karcinomu vaječníků, které jsou spojeny s příznivější prognózou a zároveň predikují vyšší účinnost cílené léčby inhibitory poly(ADP-ribóza) polymerázy (PARP). Naopak, průkaz overexprese receptoru HER2 je u gynekologických nádorů využíván především jako prediktivní marker pro výběr pacientek vhodných k anti-HER2 cílené léčbě.

Narůstající význam prognostických a prediktivních markerů odráží širší změnu paradigmatu v onkologii, kdy se pozornost přesouvá od uniformního přístupu k léčbě směrem k její větší individualizaci. Dynamicky se vyvíjející léčebné postupy v gynekologické onkologii v posledních letech tento trend plně reflektují. Vzhledem ke komplexnosti problematiky a množství faktorů ovlivňujících volbu optimální sekvence diagnostických a terapeutických modalit by měla být strategie léčby u konkrétní pacientky, ať již v době diagnózy nebo při recidivě onemocnění, vždy diskutována v rámci mezioborového týmu za účasti relevantních odborností. Individuální doporučení se snaží zohlednit veškerá dostupná data týkající se jak charakteristik nádorového onemocnění, tak i celkového stavu a preferencí pacientky.

Přes veškeré pokroky zůstává klinické rozhodování zatíženo určitou mírou nejistoty, a to i přesto, že vychází z kombinace dostupných důkazů a klinických zkušeností. V klinické praxi tak často čelíme situacím, kdy jsou pacientky zatíženy nadměrně agresivní léčbou, kterou by při přesnější predikci prognózy nemusely podstupovat, nebo naopak léčbou nedostatečně účinnou. Současně přetrvávají skupiny pacientek, jejichž onemocnění i přes primární léčbu podávanou v souladu s platnými doporučeními recidivuje a které musí následně podstupovat často velmi náročnou i nákladnou léčbu, jež je přinejmenším dočasně vyřazuje z běžného života.

V souvislosti s pokračující klinickou potřebou dalšího prohlubování znalostí o biologické povaze gynekologických nádorů ve vztahu k jejich diagnostice a léčbě byl v roce 2015 ve Fakultní nemocnici Brno iniciován vznik Mezioborové pracovní skupiny pro onkogynekologii (MPS OG) pod vedením autorky této práce. Jejím cílem bylo propojit odborníky různých specializací podílejících se na péči o pacientky s gynekologickými malignitami a vytvořit platformu pro rozvoj klinického a translačního výzkumu v této oblasti.

V průběhu následujících let se MPS OG stala základem řady výzkumných aktivit zaměřených na studium prognostických a prediktivních markerů, molekulární charakterizaci gynekologických nádorů a možnosti individualizace protinádorové léčby. Články zahrnuté a komentované v této habilitační práci představují výsledky odborné,

vědecké a pedagogické činnosti autorky, na nichž se zásadním způsobem podílela a které vznikly v rámci této výzkumné platformy.

Cílem habilitační práce je zhodnotit klinický význam vybraných prognostických a prediktivních markerů a posoudit jejich přínos pro rozhodování při poskytování diagnosticko-léčebné péče v klinické praxi. Práce je rozdělena do dvou hlavních částí. První je věnována karcinomu endometria, nejčastějšímu gynekologickému zhoubnému nádoru, druhá karcinomu ovaria, který představuje gynekologickou malignitu s nejvyšší mortalitou.

2 Karcinom endometria: prognostické a prediktivní markery

Karcinom endometria se řadí mezi nádorová onemocnění s celkově příznivou prognózou. Průměrně pětileté přežití žen s touto diagnózou přesahuje 80 % (Obr. 7), což je podmíněno zejména diagnostikou v časných stadiích u 75 % všech případů (Obr. 6), a to především v důsledku časného nástupu symptomatologie v podobě abnormálního gynekologického krvácení. Nicméně přibližně čtvrtina pacientek je diagnostikována s lokálně pokročilým nebo diseminovaným onemocněním, u nichž pětileté přežití nepřesahuje 50 % (Obr. 7). Navíc 5–30 % případů recidivuje i přes iniciální časně stadium, což odráží limitovanou účinnost primární léčby u části nemocných [17, 18].

Zásadní léčebnou modalitou karcinomu endometria je chirurgická léčba, která má současně stagingový význam. V případě diagnózy v časném stadiu, kdy je nádor omezen na dělohu a pacientky mají nízké riziko recidivy, je samotný operační výkon považován za dostatečnou léčbu, protože riziko recidivy nepřesahuje 5 %. Od středního rizika je doporučována adjuvantní radioterapie ke snížení rizika lokálních recidiv, chemoterapie ke snížení rizika vzniku vzdálených metastáz, případně kombinace obou metod. Samostatná radioterapie s kurativním záměrem představuje alternativu pro pacientky, u nichž je chirurgická léčba kontraindikována.

V případě lokálně pokročilého nebo metastatického onemocnění v době diagnózy je zpravidla volen kombinovaný léčebný přístup. Chirurgickou léčbu zvažujeme vždy, pokud je reálné dosáhnout nulového pooperačního rezidua za cenu akceptovatelné perioperační morbidita. V rámci systémové léčby jsou k dispozici chemoterapie, hormonální léčba i molekulárně cílená terapie. Radioterapie může být využita buď pooperačně v rámci komplexní léčby, nebo samostatně s paliativním záměrem ke kontrole lokální symptomatologie [13, 19, 20].

2.1 Predikce rizika recidivy v době diagnózy

Stanovení rizika recidivy u pacientek s nově diagnostikovaným karcinomem endometria představuje základní nástroj pro individualizaci primární léčby, jejímž cílem je minimalizovat riziko recidivy při současném omezení nadbytečné léčebné zátěže. Pravidla pro rozdělení pacientek do rizikových skupin definují evropská doporučení pro diagnostiku a léčbu karcinomu endometria, vznikající na základě konsensu odborných společností zastupujících klíčové obory podílející se na péči o tyto pacientky. Tato doporučení, průběžně aktualizovaná v návaznosti na nové poznatky, představují základ pro tvorbu národních doporučení České onkologické společnosti [21].

Základem stanovení rizika recidivy je kombinace klinicko-patologických faktorů, zejména klinického stadia, histologického typu, gradingu a přítomnosti lymfovaskulární invaze. Klinické stadium definuje rozsah nádoru v době diagnózy podle jeho anatomického šíření, tzv. stagingu. Pro gynekologické nádory představuje mezinárodně akceptovaný systém stagingu klasifikace FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics). Kritéria pro zařazení do jednotlivých stadií podle verze FIGO pro staging

karcinomu endometria používané před integrací molekulární klasifikace pocházejí z roku 2009 a jsou uvedena v Tabulka 5 [22].

Tabulka 5: FIGO 2009 klasifikace pro stanovení klinického stadia u karcinomu endometria používaná před integrací molekulární klasifikace

Stadium	Definice
I	Nádor omezen na tělo děložní
IA	Nádor omezen na endometrium nebo postihuje < ½ tloušťky myometria
IB	Nádor postihuje ≥ ½ tloušťky myometria
II	Nádor postihuje cervikální stroma
III	Lokální a/nebo regionální šíření
IIIA	Nádor postihuje serózu dělohy nebo adnexa
IIIB	Postižení pochvy nebo parametrií
IIIC	Postižení regionálních pánevních nebo paraaortálních lymfatických uzlin
IV	Invaze nádoru do okolních orgánů nebo vzdálené metastázy
IVA	Nádor postihuje sliznici močového měchýře nebo střeva
IVB	Vzdálené metastázy

Ke klíčovým patologickým faktorům ovlivňujícím riziko recidivy patří histologický typ nádoru a stupeň diferenciaci (grading). Nejčastějším histologickým typem karcinomu endometria je endometroidní adenokarcinom, jehož low-grade varianta (dříve dobře a středně diferencovaný, tj. grade 1 a 2) je zpravidla spojena s příznivým biologickým chováním a velmi dobrou prognózou. Naproti tomu high-grade endometroidní adenokarcinomy (grade 3) a non-endometroidní histologické typy, zejména serózní, světlobuněčné, nediferencované a dediferencované karcinomy, jsou spojeny s agresivnějším biologickým chováním a nepříznivější prognózou. Zjednodušený přehled hlavních histologických typů karcinomu endometria uvádí Tabulka 6 [9].

Tabulka 6: Histologické typy karcinomu endometria (upraveno dle WHO Classification of Female Genital Tumours)

Histologický typ	Četnost
Endometroidní karcinom	~ 80–85 %
Serózní karcinom	~ 5–10 %
Světlobuněčný karcinom	1–5 %
Nediferencovaný/dediferencovaný karcinom	2 %
Ostatní (vzácné):	
Smíšený karcinom, mesonephric-like adenokarcinom, skvamózní karcinom, mucinózní karcinom (intestinální typ), karcinosarkom	

Vedle klinického stadia, histologického typu a stupně diferenciaci (gradingu) je dalším zásadním patologickým faktorem ovlivňujícím prognózu karcinomu endometria lymfovaskulární invaze (LVSI), definovaná jako přítomnost nádorových buněk v lymfatických a/nebo krevních cévách peritumorálního stromatu. Je spojena s vyšším rizikem metastatického postižení lymfatických uzlin, recidivy onemocnění i horší prognózou.

2.2 Rizikové skupiny před integrací molekulární klasifikace

V klinické praxi se riziko recidivy u pacientek s nově diagnostikovaným karcinomem endometria posuzuje ve dvou krocích: nejprve předoperačně na základě histologie z diagnostické biopsie a výsledků zobrazovacích metod pro stanovení rozsahu primární chirurgické léčby, následně pooperačně podle definitivního histopatologického nálezu pro indikaci adjuvantní léčby.

V době zahájení vědecko-výzkumné činnosti MPS OG byly pacientky rozdělovány do skupin podle míry rizika recidivy výhradně na základě kombinace klinicko-patologických prognostických faktorů, tj. klinického stadia, histologického typu, gradingu a přítomnosti lymfovaskulární invaze (viz kapitola 2.1). Základem chirurgické léčby bylo, podobně jako v současnosti, provedení hysterektomie s bilaterální adnexektomií, která byla v indikovaných případech doplněna stagingovým výkonem k posouzení stavu pánevních a paraaortálních lymfatických uzlin; u serózního karcinomu byla rovněž indikována omentektomie. Staging mizních uzlin byl prováděn systematickou pánevní a paraaortální lymfadenektomií. Tento výkon byl spojen s významným zvýšením rizika perioperační i pooperační morbidita, zejména v důsledku prodloužení operační doby, vyššího rizika poranění cévních a nervových struktur nebo močovodu a zvýšeného výskytu pooperačních komplikací, včetně infekcí, lymfokél, chronického lymfedému dolních končetin a pánevní bolesti.

Evropská doporučení pro indikaci rozsahu chirurgické léčby rozdělovala pacientky na základě výsledku biopsie a předoperačního stagingu do tří skupin. U pacientek s nízkým rizikem recidivy, tj. endometroidním adenokarcinomem grade 1–2 a povrchovou invazí do myometria (<50 %), bylo doporučeno provedení samotné hysterektomie s bilaterální adnexektomií. U pacientek ve středním riziku, tedy v případě endometroidního adenokarcinomu grade 1–2 s hlubokou invazí do myometria (≥50 %) nebo grade 3 a povrchovou invazí, bylo doporučeno zvážit rozšíření výkonu o systematickou pánevní a paraaortální lymfadenektomii. U pacientek s vysokým rizikem, tj. s endometroidním adenokarcinomem grade 3 a hlubokou invazí do myometria nebo non-endometroidním histologickým typem, bylo provedení systematické pánevní a paraaortální lymfadenektomie považováno za standardní součást chirurgického stagingu. Rozdělení pacientek do jednotlivých rizikových skupin na základě předoperačního stagingu shrnuje Tabulka 7 [19].

Tabulka 7: Rozdělení pacientek s karcinomem endometria do rizikových skupin na základě předoperačního stagingu podle evropských doporučení (2015)

Riziko	Charakteristika
Nízké	• Stadium IA, endometroidní karcinom grade 1–2
Střední	• Stadium IA, endometroidní karcinom grade 3 • Stadium IB, endometroidní karcinom grade 1–2
Vysoké	• Stadium IB, endometroidní karcinom grade 3 • Non-endometroidní typ

Po operaci následovalo přehodnocení rizika recidivy na základě výsledku definitivního histopatologického vyšetření, kdy již byla známa i přítomnost nebo absence lymfovaskulární invaze (LVSI). Na základě kombinace klinického stadia, histologického

typu, gradingu a LVSI byly pacientky rozděleny do pěti rizikových skupin (Tabulka 8), které představovaly základní vodítko pro indikaci pooperační léčby. Pouze u pacientek s nízkým rizikem byl samotný operační výkon považován za dostatečnou léčbu; u pacientek se středním a vyšším rizikem byla doporučována následná adjuvantní léčba ve formě radioterapie, chemoterapie nebo jejich kombinace [19].

Tabulka 8: Rozdělení pacientek s karcinomem endometria do rizikových skupin na základě definitivního histopatologického vyšetření pro indikaci adjuvantní léčby

Upraveno podle evropských ESMO/ESGO/ESTRO doporučení, 2015

Riziko	Charakteristika
Nízké	Stadium IA, endometroidní karcinom grade 1–2, LVSI negativní
Střední	Stadium IB, endometroidní karcinom grade 1–2, LVSI negativní
Vyšší střední	- Stadium IA, endometroidní karcinom grade 3, bez ohledu na LVSI - Stadium I, endometroidní karcinom grade 1–2 s přítomností LVSI (bez ohledu na hloubku invaze)
Vysoké	- Stadium IB, endometroidní karcinom grade 3, bez ohledu na LVSI - Stadium II - Stadium III, endometroidní karcinom bez makroskopického rezidua - Non-endometroidní karcinom
Pokročilé nebo metastatické onemocnění	- Stadium III s makroskopickým reziduem po operaci - Stadium IV

2.3 Tkáňové prognostické markery a riziko recidivy

Stanovení rizika recidivy na základě klinicko-patologických faktorů nebylo dostatečně přesné. Přibližně 20 % pacientek zařazených do nízkého rizika po operaci zrecidivovalo, zatímco u části pacientek klasifikovaných jako vysoce rizikové vedla primární léčba k dlouhodobé kontrole onemocnění. S ohledem na rizika spojená s provedením systematické pánevní a paraaortální lymfadenektomie, zejména u často obézních pacientek s četnými komorbiditami, bylo z klinického hlediska zásadní co nej přesnější zařazení do rizikových skupin již v době diagnózy před indikací rozsahu operace, aby se předešlo jak nadměrně zatěžující operační léčbě, tak i podhodnocení rizika s následným nedostatečným rozsahem léčby [23, 24].

Jednou z cest ke zpřesnění predikce rizika recidivy je identifikace prognostických markerů vyšetřitelných v nádorové tkáni získané diagnostickou biopsií. Pozornost byla zaměřena zejména na markery stanovitelné imunohistochemicky, tedy metodikou běžně dostupnou v rutinní histopatologické praxi s dobou odezvy v řádu dní. Mezi tkáňové markery se známým prognostickým významem u karcinomu endometria patří stav proteinu p53, exprese estrogenových a progesteronových receptorů (ER, PR), resp. molekuly buněčné adheze L1 (L1CAM).

Gen *TP53* patří mezi klíčové regulátory buněčného cyklu a strážce integrity genomu. Jeho produkt, protein p53, se podílí na zástavě buněčného dělení a indukci apoptózy v odpovědi na poškození DNA. Mutace vedoucí k poruše funkce p53 patří mezi nejčastější genetické alterace v lidských nádorech [25, 26]. U karcinomu endometria je mutace *TP53*

typická zejména pro non-endometroidní karcinomy, především pro serózní karcinom. Asociace mezi imunohistochemickým průkazem abnormální exprese p53 a nepříznivou prognózou karcinomu endometria ve smyslu kratší doby do progresu i celkového přežití byla popsána již v 90. letech minulého století [27, 28].

Vysoká exprese estrogenových a progesteronových receptorů (ER, PR) je naopak typická pro hormonálně dependentní karcinomy endometria, především dobře diferencované endometroidní adenokarcinomy, a je spojena s dobrou prognózou. Naproti tomu ztráta exprese ER a PR je asociována s nepříznivou prognózou, a to jak u endometroidních, tak i non-endometroidních karcinomů [29, 30].

Molekula buněčné adheze L1 (L1-Cell Adhesion Molecule; L1CAM) je membránový glykoprotein z rodiny imunoglobulinů, který je významnou součástí procesů umožňujících migraci a adhezi nádorových buněk. Imunohistochemický průkaz overexprese L1CAM v buňkách karcinomu endometria je spojen s kratší dobou do progresu onemocnění i celkovým přežitím a bývá častější u non-endometroidních karcinomů [31, 32].

Navzdory prokázanému prognostickému významu markerů p53, ER, PR i L1CAM u karcinomu endometria validovanému na multicentrických retrospektivních studiích realizovaných jak na vzorcích tumorů patientek zařazených do randomizovaných klinických studií, tak i z reálné klinické praxe, neměly tyto poznatky v době zahájení vědecko-výzkumné činnosti MPS OG žádný dopad na tehdy platná klinická doporučení pro stratifikaci patientek podle míry rizika v době diagnózy.

2.3.1 Vlastní přínos k problematice

V roce 2015 jsme v rámci MPS OG iniciovali projekt, jehož cílem bylo ověřit, zda začlenění markerů ER, PR, L1CAM a p53 umožní zpřesnit odhad rizika recidivy již před indikací operační léčby u patientek s nově diagnostikovaným karcinomem endometria oproti tehdejší klinické praxi, kdy bylo riziko stanovováno výhradně na základě výsledků klinického stagingu a histologického typu, resp. gradingu nádoru z diagnostické biopsie. Imunohistochemické vyšetření markerů bylo prováděno prospektivně standardizovanou metodikou v rámci rutinního histopatologického vyšetření. Před statistickou analýzou bylo provedeno druhé čtení výsledků histologie i imunohistochemie expertním gynekopatologem.

Výsledky studie prokázaly, že zařazení imunohistochemických markerů do stávajícího klinicko-patologického modelu vede k významnému zlepšení přesnosti preoperační stratifikace patientek. Zejména došlo ke zvýšení senzitivity detekce patientek ve vysokém riziku z 48 % na 75,8 % a ke zlepšení negativní prediktivní hodnoty z 66 % na 78,9 %, při zachování srovnatelné specifity. Jako klíčové parametry nového modelu se ukázaly exprese L1CAM, progesteronového receptoru a hloubka invaze do myometria. Výsledky současně potvrdily prognostický význam jednotlivých markerů, kdy nízká exprese ER a PR, zvýšená exprese L1CAM a přítomnost aberantní exprese p53 byly asociovány s pokročilejším stadiem onemocnění a nepříznivější prognózou.

Z klinického hlediska představuje zásadní přínos studie skutečnost, že začlenění markerů reflektujících biologickou povahu nádoru k dosud užívaným klinicko-patologickým parametrům umožňuje větší individualizaci při rozhodování o rozsahu primární chirurgické léčby. Přesnější identifikace patientek s vysokým rizikem recidivy

již v době diagnózy může vést k adekvátní indikaci stagingových výkonů, včetně lymfadenektomie, a naopak umožnit vyhnout se nadměrně zatěžující léčbě u pacientek s nízkým rizikem. Navržený model tak představuje krok směrem k individualizaci léčebného přístupu založeného na biologických charakteristikách nádoru.

Příloha 1: A Novel Approach to Preoperative Risk Stratification in Endometrial Cancer: The Added Value of Immunohistochemical Markers

WEINBERGER, Vit, **BEDNARIKOVA, Marketa**, HAUSNEROVA, Jitka, OVESNA, Petra, VINKLEROVA, Petra, MINAR, Lubos, FELSINGER, Michal, JANDAKOVA, Eva, CIHALOVA, Marta a ZIKAN, Michal.. *Frontiers in Oncology*. 2019, 9, 265. ISSN 2234-943X. doi:10.3389/fonc.2019.00265

IF = 4,848; median IF ONCOLOGY – 3,297; according to IF ONCOLOGY Q2

Typ příspěvku: původní práce

Vlastní přínos autorky: koncept studie, identifikace vhodných pacientek, klinická interpretace statistických analýz a spoluautorství rukopisu



A Novel Approach to Preoperative Risk Stratification in Endometrial Cancer: The Added Value of Immunohistochemical Markers

Vit Weinberger¹, Marketa Bednarikova², Jitka Hausnerova³, Petra Ovesna⁴, Petra Vinklerova¹, Lubos Minar¹, Michal Felsinger¹, Eva Jandakova³, Marta Cihalova³ and Michal Zikan^{5*}

¹ Department of Gynecology and Obstetrics, University Hospital in Brno and Masaryk University, Brno, Czechia, ² Department of Internal Medicine – Hematology and Oncology, University Hospital in Brno and Masaryk University, Brno, Czechia, ³ Department of Pathology, University Hospital in Brno and Masaryk University, Brno, Czechia, ⁴ Faculty of Medicine, Institute of Biostatistics and Analyses, Masaryk University, Brno, Czechia, ⁵ Institute of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czechia

OPEN ACCESS

Edited by:

Massimo Nabissi,
University of Camerino, Italy

Reviewed by:

Kruti P. Maniar,
Northwestern University, United States
Tonya J. Webb,
University of Maryland, Baltimore,
United States

*Correspondence:

Michal Zikan
michal.zikan@lf1.cuni.cz

Specialty section:

This article was submitted to
Women's Cancer,
a section of the journal
Frontiers in Oncology

Received: 07 December 2018

Accepted: 22 March 2019

Published: 12 April 2019

Citation:

Weinberger V, Bednarikova M,
Hausnerova J, Ovesna P, Vinklerova P,
Minar L, Felsinger M, Jandakova E,
Cihalova M and Zikan M (2019) A
Novel Approach to Preoperative Risk
Stratification in Endometrial Cancer:
The Added Value of
Immunohistochemical Markers.
Front. Oncol. 9:265.
doi: 10.3389/fonc.2019.00265

Background: The current model used to preoperatively stratify endometrial cancer (EC) patients into low- and high-risk groups is based on histotype, grade, and imaging method and is not optimal. Our study aims to prove whether a new model incorporating immunohistochemical markers, L1CAM, ER, PR, p53, obtained from preoperative biopsy could help refine stratification and thus the choice of adequate surgical extent and appropriate adjuvant treatment.

Materials and Methods: The following data were prospectively collected from patients operated for EC from January 2016 through August 2018: age, pre- and post-operative histology, grade, lymphovascular space invasion, L1CAM, ER, PR, p53, imaging parameters obtained from ultrasound, CT chest/abdomen, final FIGO stage, and current decision model (based on histology, grade, imaging method).

Results: In total, 132 patients were enrolled. The current model revealed 48% sensitivity and 89% specificity for high-risk group determination. In myometrial invasion >50%, lower levels of ER ($p = 0.024$), PR (0.048), and higher levels of L1CAM ($p = 0.001$) were observed; in cervical involvement a higher expression of L1CAM ($p = 0.001$), lower PR ($p = 0.014$); in tumors with positive LVSI, higher L1CAM ($p = 0.014$); in cases with positive LN, lower expression of ER/PR ($p < 0.001$), higher L1CAM ($p = 0.002$) and frequent mutation of p53 ($p = 0.008$).

Cut-offs for determination of high-risk tumors were established: ER <78% ($p = 0.001$), PR <88% ($p = 0.008$), and L1CAM $\geq 4\%$ ($p < 0.001$). The positive predictive values (PPV) for ER, PR, and L1CAM were 87% (60.8–96.5%), 63% (52.1–72.8%), 83% (70.5–90.8%); the negative predictive values (NPV) for each marker were as follows: 59% (54.5–63.4%), 65% (55.6–74.0%), and 77% (67.3–84.2%). Mutation of p53 revealed PPV 94% (67.4–99.1%) and NPV 61% (56.1–66.3%). When immunohistochemical markers were included into the current diagnostic model, sensitivity improved (48.4 vs. 75.8%, $p < 0.001$). PPV was similar for both methods, while NPV (i.e., the probability of extremely low risk in negative test cases) was improved (66 vs. 78.9%, $p < 0.001$).

Conclusion: We proved superiority of new proposed model using immunohistochemical markers over standard clinical practice and that new proposed model increases accuracy of prognosis prediction. We propose wider implementation and validation of the proposed model.

Keywords: endometrial cancer, ER, imaging method, L1CAM, PR, preoperative biopsy, p53, risk stratification

INTRODUCTION

Endometrial carcinoma (EC) is one of the most common female cancers. It predominantly has a favorable prognosis, due to the early onset of signs and symptoms such as postmenopausal bleeding or spotting, which lead to early-stage diagnosis in most patients and five-year overall survival rates of up to 85% (1). However, 20% of those EC patients who are estimated to be at low risk of recurrence will nevertheless recur while up to 50% of those designated “high-risk” will not (2, 3). It is clear the prognostic markers currently used (FIGO stage, tumor subtype, and histological grade) are far from optimal in terms of preoperative stratification of patients into low- or high-risk groups regarding surgical planning and adjuvant treatment.

One of the currently used prognostic markers is FIGO stage. This is obligatory and determined by transvaginal ultrasound of the pelvis (US). Computed tomography (CT) of the chest and abdomen is an imaging method of choice and is routinely used to exclude retroperitoneal lymphadenopathy and metastases in parenchymal organs. The other prognostic markers, histotype, and grade of tumor differentiation, are assessed from a biopsy obtained either by dilatation and curettage of the uterus or by hysteroscopy. Based on the established FIGO stage, histotype, and tumor grade, patients are divided into two groups regarding the recurrence risk. Low-risk patients are treated with surgery alone, consisting of hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy, while high-risk patients undergo more aggressive surgical treatment, including pelvic (PLN) and/or paraaortic lymphadenectomy (PALN) with or without adjuvant radiotherapy or chemotherapy. An aggressive therapeutic approach is associated with significantly higher side effects, such as increased blood loss, risk of thrombosis, infection, lymphoceles, lymphatic ascites, and lymphedema (4, 5).

The discovery of new histotype-specific and prognostic biomarkers for better stratification into high- or low-risk EC seems to be urgently needed in order to avoid over- or undertreatment of EC patients. The results of studies on potential new biomarkers assessed immunohistochemically (IHC), related to EC patient prognosis, were recently published. L1 cell adhesion molecule (L1CAM) overexpression and the loss of estrogen receptors (ER) and/or progesterone receptors (PR) are associated with poor prognosis and a high risk of relapse and death (6–9). Mutations of the tumor protein p53 are associated with L1CAM expression, but not universally (10). However, to our best knowledge, neither the significance of L1CAM, ER, and PR expression nor knowledge of their relevant cut-offs together with determination of p53 mutation status in preoperative biopsies for pretreatment stratification into low- or high-risk have been

established yet. No IHC biomarkers from preoperative biopsy are currently routinely used in the decision-making process for EC management.

The purpose of this study was to evaluate the clinical usefulness and added value of preoperatively assessed IHC biomarkers L1CAM, ER, PR, and p53 in differentiation between low- and high-risk EC patients through comparison of the current clinical practice model with a proposed model that includes immunohistochemical markers. The secondary objective of our study was to evaluate the correlation of IHC biomarkers with specific clinical (according to preoperative ultrasound and CT chest/abdomen) and pathological parameters.

PATIENTS AND METHODS

Patients

Patients undergoing surgical treatment for histologically proven or suspicious EC in the oncogynecological center of University Hospital Brno, Czech Republic, from January 2016 to August 2018 were consecutively included. The study was approved by the Institutional Ethical Board as was a version of written informed consent regarding tissue and clinical data use for scientific purposes obtained from each eligible patient.

Preoperative Imaging

All patients underwent a clinical examination, preoperative ultrasound staging examination, and CT of the chest/abdomen according to the local guidelines (11, 12). Each patient underwent both a transabdominal and a transvaginal US scan within 14 days before a board discussion led by one of the two oncogynecologists experienced in the field of US diagnostics in gynecologic oncology. Each US examination was immediately described in a written report; these reports were used for study analysis. Descriptions and examination reports were based on the standards applied by our center (13). During US staging examination of the uterine cavity, myometrium and cervix and pelvic lymph nodes were carefully assessed in every patient to describe the local extent of the tumor (14, 15).

Each patient underwent a CT scan of the chest, abdomen, and pelvis within 14 days before board discussion and admission to the operating theater. CT was performed with oral and intravenous contrast in order to exclude bowel wall implants, parenchymatous metastasis, and pathological lymphadenopathy. When lymph nodes measured >1 cm in the shorter axis or morphological changes as a rounded shape or necrosis were observed, tumor involvement was marked as suspicious.

Risk Stratification and Clinical Management

The extent of the surgery was determined by the multidisciplinary board after dividing patients into the low- or high-risk group based on clinical staging and the preoperative histopathological examination and determination of the histotype and grading. The low-risk group was defined as endometrioid or mucinous carcinoma TNM stage cT1a or cT1b, grade 1 and/or endometrioid or mucinous carcinoma TNM stage cT1a, grade 2, all without clinical or imaging evidence of lymphadenopathy (cN0) or distant metastases (cM0). Patients were defined as high-risk unless these low-risk criteria were met. Type A radical hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy was performed in all patients (16). Systematic pelvic and paraaortic lymphadenectomy was performed in the high-risk group only; in high-grade serous uterine cancer cases, total omentectomy and appendectomy were added to the staging procedure. The definitive histopathological examination was provided by one of three pathologists with experience in gynecological malignancies and contained data about stage, histotype, and grade, lymphovascular space involvement (LVSI), and measures of the IHC expression of markers L1CAM, ER, PR, and p53. Based on final histopathological findings, the patients were once again stratified into low- or high-risk groups based on the same preoperative criteria (i.e., irrespective of known IHC status of ER, PR, L1CAM, and p53) and, thereafter, decisions regarding adjuvant treatment and follow-up were made by the multidisciplinary board.

Clinical Data

Age, results of US and CT scan with respect to depth of myometrial invasion, cervical involvement, lymphadenopathy, parenchymal organ involvement, and pathological data from biopsies (histotype, grading, IHC status of L1CAM, ER, PR, p53) were recorded.

Tissue and Immunohistochemistry Analysis

All hematoxylin and eosin-stained slides were read by one of three experienced gynecological histopathologist to confirm histological subtype, grade, and (definitive excision specimen) stage and the presence or absence of LVSI. The evaluator was blinded to patient characteristics. All specimens were assessed according to the WHO Classification of Tumors of Female Reproductive Organs, 2014 (17). No additional later review of the slides was performed for the purpose of this study because it would not copy our real clinical practice. Immunohistochemical staining was performed on formalin-fixed and paraffin-embedded (FFPE) tissue sections. Immunohistochemistry for ER (clone SP1, product no. RBK 018-05, Zytomed, dilution 1:300), PR (clone 16, product no. NCL-L-PGR-312, Novocastra, dilution 1:80), L1CAM/CD171 (clone 14.10, product no. 826701, BioLegend, dilution 1:100), and p53 (clone DO-7, product no. M7001, DAKO, dilution 1:300) were performed using an automatic immunostainer (BenchMark Ultra, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA) according

to the manufacturer's instructions. For ER, PR, and p53, only nuclear staining was scored as positive. Positivity of L1CAM was defined as distinct membrane staining. For ER, PR, and L1CAM, the percentage of positive tumor cells was assessed. p53 was classified into wild type or mutant (excessive = strong diffuse overexpression in more than 90% of tumor cells or completely negative) phenotypes. Representative microphotographs of the expression of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), L1CAM and p53 in serous (high risk) and grade 1 endometrioid (low risk) carcinoma are shown in **Figures 1A–H**.

Statistical Analysis

Categorical data were summarized using absolute and relative frequencies and compared by Fisher's exact test. Continuous variables were summarized as median with 10 and 90th percentile and tested by the Mann-Whitney *U*-test.

A model for the best classification of final risk was built using the CHAID growing method with crossover validation. Misclassification cost for wrongly determining high-risk patients as low-risk was set twice higher because of the preference for the correct high-risk group EC patient determination.

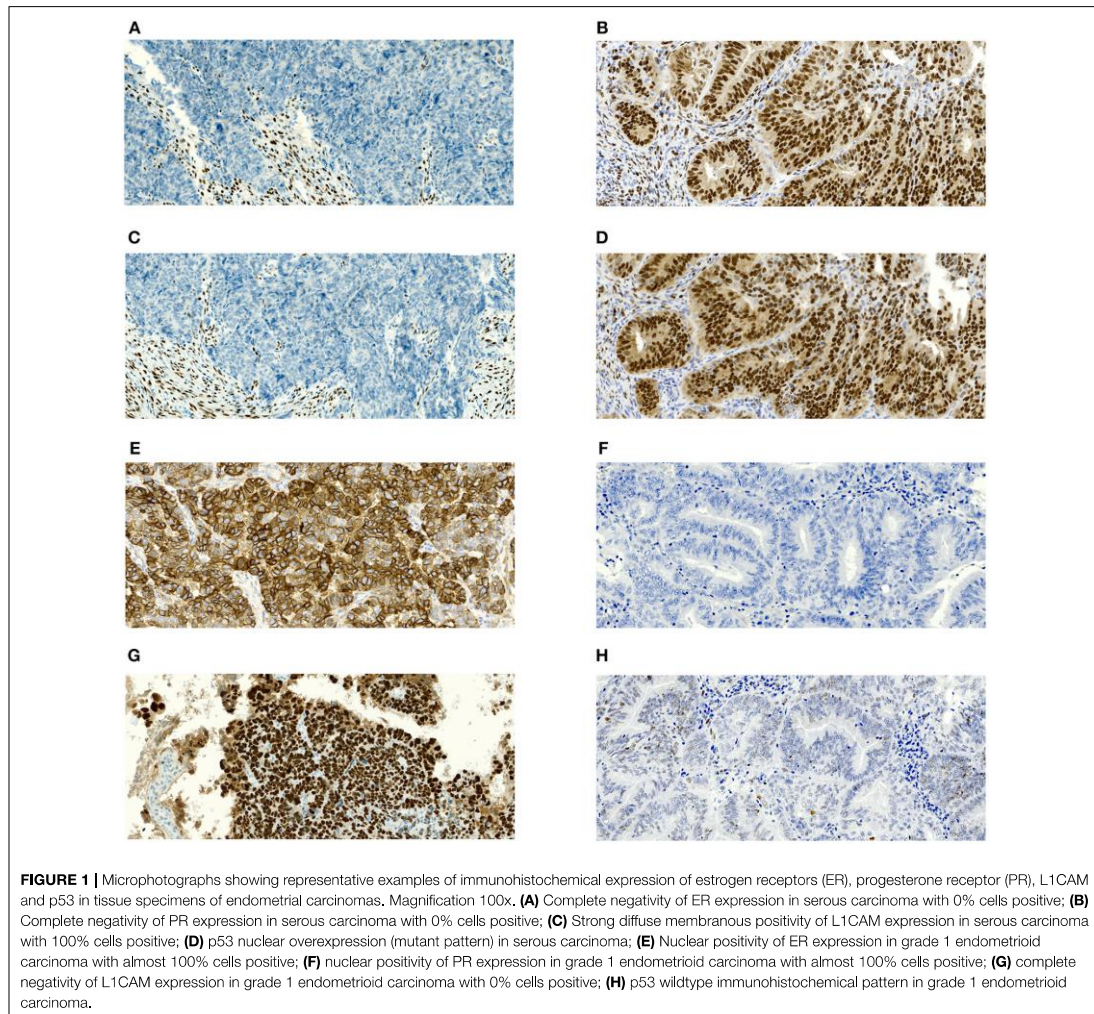
The success of risk-group classification was evaluated using four standard measures: (i) *sensitivity* is the ability of the test to correctly identify those with an occurrence of the assessed marker (true positive rate), whereas (ii) *specificity* is the ability of the test to correctly identify those without an occurrence of the assessed marker (true negative rate), (iii) *positive predictive value* (PPV) is the probability that the marker is present when the test is positive, whereas (iv) *negative predictive value* (NPV) is the probability that the marker is not present when the test is negative. All these statistics were accompanied by 95% confidence intervals (CI).

The comparison of sensitivities and specificities of the two binary diagnostic tests in a paired study design was performed using McNemar's test with continuity correction. Differences in (positive and negative) predictive values of two binary diagnostic tests were tested using a generalized score statistic proposed by Leisenring, Alonzo, and Pepe (18). All tests were performed as two-sided at the significance level 0.05. Analyses were done in IBM SPSS Statistics and R.

RESULTS

Clinical and Histopathological Characteristics

From January 2016 to August 2018, 132 patients underwent surgical treatment for EC in the oncogynecological center of University Hospital Brno, Czech Republic, and have been consecutively enrolled in the study. The median age was 66 years. According to ultrasound and CT staging, before operation 95 patients (72%) were evaluated as FIGO stage IA, while 25 (19%) were stage IB, 5 (4%) stage II, 3 (2%) stage III, and 4 (3%) were at an unknown stage. Preoperative biopsy was available for all 132 patients; 102 patients had endometrioid cancer, of whom 50 (49%) had endometrioid or mucinous carcinoma grade 1 (EG1), 45 (44%) grade 2 (EG2), 6 (6%) grade 3 (EG3), and one had a non-diagnostic grade. Seventeen (13%) patients were diagnosed with non-endometrioid carcinoma (NEC). Furthermore, there were



eight cases (6%) of endometrial intraepithelial neoplasia (EIN) in preoperative biopsy (**Table 1**). Based on both histological and clinical findings, 94 (71%) patients were preoperatively classified as low-risk and 38 (29%) as high-risk by current model and, consequently, the recommendation for the extent of surgery was issued. In the high-risk group, PLN and PALN were performed for 26 (20%) patients, apart from hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy. After the surgical procedure and definitive histopathological examination, 82 (62%) patients were at FIGO stage IA, 17 (13%) at FIGO stage IB, 19 (14%) FIGO stage II, 12 (9%) FIGO stage III and two (2%) with FIGO stage IV. Regarding endometrioid or mucinous carcinoma grade, 30 (28%) were at EG1, 69 (65%) at EG2, 8 (7%) EG3, 20 (15%) NEC, and 2 (2%) EIN. In contrast to the preoperative risk determination, the

final post-operative stratification in risk groups was as follows: 70 (53%) low-risk patients and 62 (47%) high-risk patients (**Table 1**).

Immunohistochemical Characteristics

The expression of markers ER, PR, L1CAM, and p53 status were immunohistochemically evaluated from the specimen obtained both by diagnostic procedure and definitive surgery. The correlation of IHC markers between preoperative examination and definitive histopathological findings was statistically significant for all of the evaluated markers ($p < 0.005$). In the preoperative specimen, the expression was evaluable in 98 patients for ER and PR, 97 for L1CAM, and 98 for p53 mutational status; results are listed in **Table 2**.

TABLE 1 | Patients' clinical and histopathological characteristics.

Age at diagnosis	66 (50–78)		p-value
Histology	Preoperative (biopsy or imaging)	Final specimen	
Endometrioid (incl. mucinous)	102 (77%)	107 (81%)	0.216
Non-endometrioid	17 (13%)	20 (15%)	
Serous	6 (35%)	2 (10%)	
Clear cell	4 (24%)	2 (10%)	
Carcinosarcoma	1 (6%)	2 (10%)	
Undifferentiated carcinoma	2 (11%)	3 (15%)	
Mixed carcinoma	4 (24%)	11 (55%)	
EIN	8 (6%)	2 (2%)	
Non-diagnostic	5 (4%)	3 (2%)	
GRADE (ONLY ENDOMETRIOID)			
G1	50 (49%)	30 (28%)	0.006
G2	45 (44%)	69 (65%)	
G3	6 (6%)	8 (7%)	
Non-diagnostic	1 (1%)		
MYOMETRIAL INVASION			
<50%	96 (73%)	93 (70%)	0.557
≥50%	33 (25%)	39 (30%)	
Unknown	3 (2%)		
CERVICAL INVASION			
Yes	9 (7%)	24 (18%)	0.015
No	120 (91%)	108 (82%)	
Unknown	3 (2%)		
LYMPHADENOPATHY			
Yes	3 (2%)	9 (7%)	0.070
No	129 (98%)	123 (93%)	
TUMOR BOARD DECISION			
Low-risk EC	94 (71%)	70 (53%)	<0.001
High-risk EC	38 (29%)	62 (47%)	

values denote median (10–90th percentile) or n (%); p-values of chi-square or McNemar's test; G, grade; EC, endometrial cancer.

Correlation of IHC Markers With Disease Extent (FIGO Staging)

The correlation was assessed between IHC markers in preoperative tissue samples and the final histopathological findings (e.g., myometrial invasion, cervical, and lymph node involvement). Moreover, the correlation with LVSI was evaluated because LVSI is one of the important markers for adjuvant treatment strategy decisions. There were statistically significant lower levels of ER ($p = 0.024$) and PR (0.048) and higher levels of L1CAM ($p = 0.001$) in tumors with myometrial invasion >50%. In tumors with cervical involvement, a significantly higher expression of L1CAM was observed ($p = 0.001$), while differences among levels of ER ($p = 0.236$) and PR ($p = 0.108$) did not reach statistical significance. PR were significantly lower ($p = 0.014$) and L1CAM higher ($p = 0.014$) in tumors with

positive LVSI. In patients with positive LN, levels of ER and PR were lower ($p = 0.001$ and $p < 0.001$, respectively); on the other hand, levels of L1CAM were higher ($p = 0.002$) and the mutation of p53 more frequent ($p = 0.008$), see Table 3.

The Precision of EC Risk Stratification Based on Markers Currently Used in Clinical Praxis

Concerning depth of myometrial invasion, we classified all the patients in whom invasion reached ≥50% as high-risk ($n = 36$) and the patients with invasion <50% as low-risk ($n = 96$). Our approach to preoperative risk stratification of EC patients revealed a sensitivity of 48% and specificity of 89% in terms of high-risk group determination. Taking all current standard prognostic markers together, it can be concluded that, whereas low-risk EC patients are preoperatively classified with relatively high accuracy (62/70, 82%), the determination of high risk is far from optimal, since more than half of EC patients with actual high-risk disease were established as low-risk. See Table 4.

The Accuracy of EC Risk Stratification by Using IHC Markers

IHC markers were assessed in a preoperative tumor sample, and optimal cut-offs for continuous markers (obtained preoperatively) were designed using ROC analyses. At a cut-off for ER <78% ($p = 0.001$), PR <88% ($p = 0.008$), and L1CAM ≥4% ($p < 0.001$), high-risk tumors were determined with a sensitivity of 28% for ER (15.6–42.6%), 62% for PR (46.4–75.5%), and 72% for L1CAM (57.4–84.4%). Specificity was 96% (86.5–99.5%), 68% (52.1–79.2%), and 86% (73.3–94.2%), respectively. The PPV was 87% for ER (60.8–96.5%), 63% for PR (52.1–72.8%), and 83% for L1CAM (70.5–90.8%); the NPV for each marker were as follows: 59% (54.5–63.4%), 65% (55.6–74.0%), and 77% (67.3–84.2%), respectively. The sensitivity of p53 mutated status ($p < 0.001$) for high-risk detection was low (34%), but the specificity was high (98.0%, CI 88.7–99.9%), which represents PPV 94% (67.4–99.1%) and NPV 61% (56.1–66.3%), respectively. If p53 mutated, there was a high probability the patient fit into the high-risk group (15 out of 16 patients in our series). As far as accuracy of high-risk determination in the largest number of patients was concerned, the marker L1CAM seemed to be the most robust: 34 from 41 patients who had L1CAM values ≥4% were classified as high-risk (Table 5, Figure 2).

The Added Value of IHC Markers for Improvement of EC Risk Stratification

To evaluate whether IHC markers would contribute to more accurate stratification of EC patients into risk groups, a model consisting of parameters obtained by imaging methods (myometrial invasion, cervical involvement, lymph node involvement), histology (endometrioid or mucinous vs. non-endometrioid), grade and IHC markers (ER, PR, L1CAM, p53) was introduced. According to risk stratification, the following parameters have been shown as statistically significant and crucial for the model: L1CAM, PR, and myometrial invasion.

TABLE 2 | Immunohistochemical biomarkers in preoperative biopsies.

IHC markers	Overall values (n = 98)	EG1 (n = 36)	EG2 (n = 37)	EG3 (n = 9)	EIN (n = 3)	NEC (n = 13)
ER (%), n = 98	86 (27) 99 (40–100)	95 (15) 100 (90–100)	96 (8) 99 (85–100)	71 (34) 80 (0–100)	100 (0) 100 (100–100)	44 (42) 30 (0–100)
PR (%), n = 98	73 (34) 90 (5–100)	88 (21) 99 (60–100)	79 (28) 95 (30–100)	48 (39) 70 (0–95)	87 (23) 100 (60–100)	28 (33) 20 (0–85)
L1CAM (%), n = 97	16 (29) 3 (0–70)	2 (4) 1 (0–8)	7 (13) 3 (0–15)	33 (35) 30 (0–100)	0 (1) 0 (0–1)	72 (33) 85 (15–100)
p53, n = 98						
Mut	16 (16.3%)	1 (2.8%)	2 (5.4%)	2 (22.2%)	0 (0%)	11 (84.6%)
Wt	75 (76.5%)	35 (97.2%)	32 (86.5%)	4 (44.4%)	2 (66.7%)	2 (15.4%)
Non-specific	7 (7.1%)	0 (0%)	3 (8.1%)	3 (33.3%)	1 (33.3%)	0 (0%)

Values denote mean (SD) and median (10–90th percentile) or n (%); means and SD are shown only for exploratory purpose since data are not normally distributed; IHC, immunohistochemical markers; ER, estrogen receptors; PR, progesterone receptors; L1CAM, L1 cell adhesion molecule; mut, mutated; wt, wild type; EG1, endometrioid or mucinous cancer, grade 1; EG2, endometrioid or mucinous cancer, grade 2; EG3, endometrioid or mucinous cancer, grade 3; EIN, endometrioid intraepithelial neoplasia; NEC, non-endometrioid cancer.

TABLE 3 | Correlation of IHC markers from preoperative biopsy with staging after surgery.

	ER (%) (N = 98)	PR (%) (N = 98)	L1CAM (%) (N = 97)	p53 mut (N = 16)	P53 wt (N = 75)
Myometrial invasion	p = 0.024	p = 0.048	p = 0.001		p = 0.382
<50% (N = 66)	88 (26) 100 (60–100)	77 (31) 95 (20–100)	14 (29) 1 (0–70)	9 (14.8%)	52 (85.2%)
≥50% (N = 32)	83 (30) 98 (40–100)	65 (38) 82.5 (0–100)	20 (29) 5 (1–70)	7 (23.3%)	23 (76.7%)
Cervical involvement	p = 0.236	p = 0.108	p = 0.001		p = 0.070
Yes (N = 19)	82 (31) 95 (0–100)	60 (39) 70 (0–100)	32 (38) 8 (1–95)	6 (35.3%)	11 (64.7%)
No (N = 79)	88 (26) 99 (40–100)	76 (32) 90 (15–100)	12 (26) 2 (0–50)	10 (13.5%)	64 (86.5%)
LN (lymph node) metastases	p = 0.001	p < 0.001	p = 0.002		p = 0.008
Yes (N = 6)	43 (47) 35 (0–95)	11 (20) 0.5 (0–50)	60 (36) 70 (4–100)	4 (66.7%)	2 (33.3%)
No (N = 92)	89 (23) 99 (70–100)	77 (31) 92.5 (20–100)	13 (27) 2 (0–50)	12 (14.1%)	73 (85.9%)
LVSI	p = 0.111	p = 0.014	p = 0.014		p = 0.260
Yes (N = 14)	74 (41) 95 (0–100)	48 (43) 45 (0–100)	23 (32) 6 (2–70)	4 (22.2%)	10 (55.6%)
No (N = 84)	89 (24) 99 (60–100)	77 (31) 93 (20–100)	15 (29) 2 (0–70)	12 (13.0%)	65 (70.7%)

Values denote mean (SD) and median (10–90th percentile) or n (%), p-value of Mann-Whitney U-test or Fisher's exact test; means and SD are shown only for exploratory purpose since data are not normally distributed; LVSI, lymphovascular space involvement; mut, mutated; wt, wild type.

The procedure of classification is shown in **Figure 3**. The overall EC risk stratification success was 78% for this model. Successful group inclusion was observed for 80% of the low-risk patients (56/70), and for 76% of high-risk patients (47/62 patients).

New Model in Comparison to Current Practice

Immunohistochemical markers included in the current diagnostic practice would significantly improve sensitivity (48.4 vs. 75.8%, $p < 0.001$) associated with a slightly, statistically non-significant decrease in specificity (to 80%, $p = 0.238$).

Positive predictive values were similar for both methods, while negative predictive value (i.e., the probability of extremely low risk in negative test cases) was significantly improved (66 vs. 78.9%, $p < 0.001$) (**Table 6, Figure 4**).

DISCUSSION

The determination of an appropriate surgery and its adequate extent is a crucial part of treatment in newly diagnosed EC patients and significantly differs between the high- and low-risk groups. Existing models determining patient risk are based on the

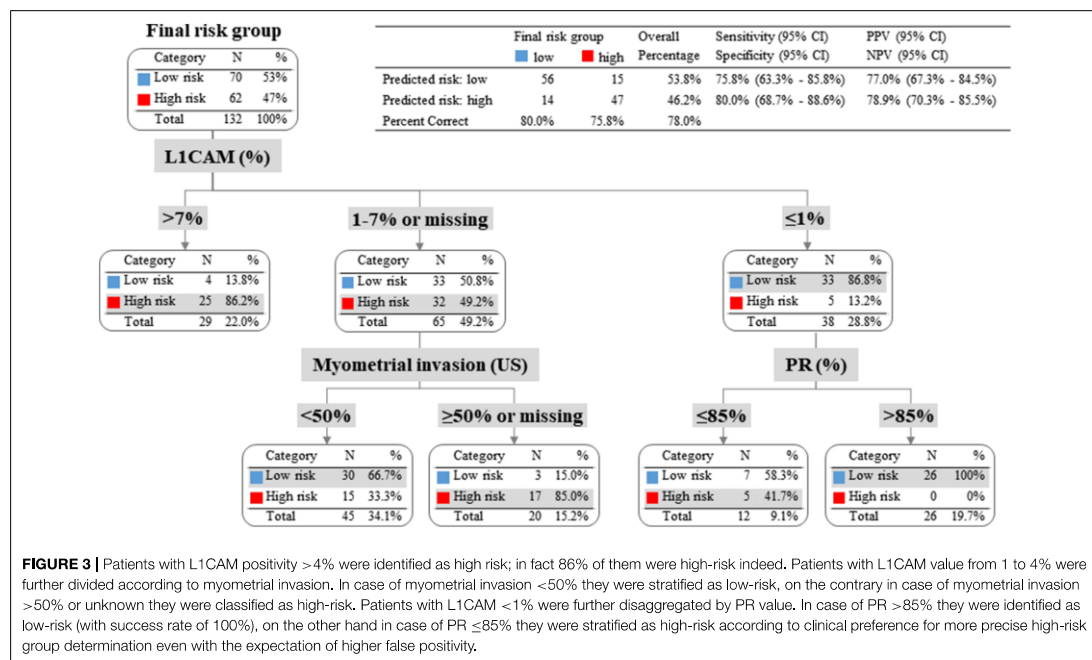
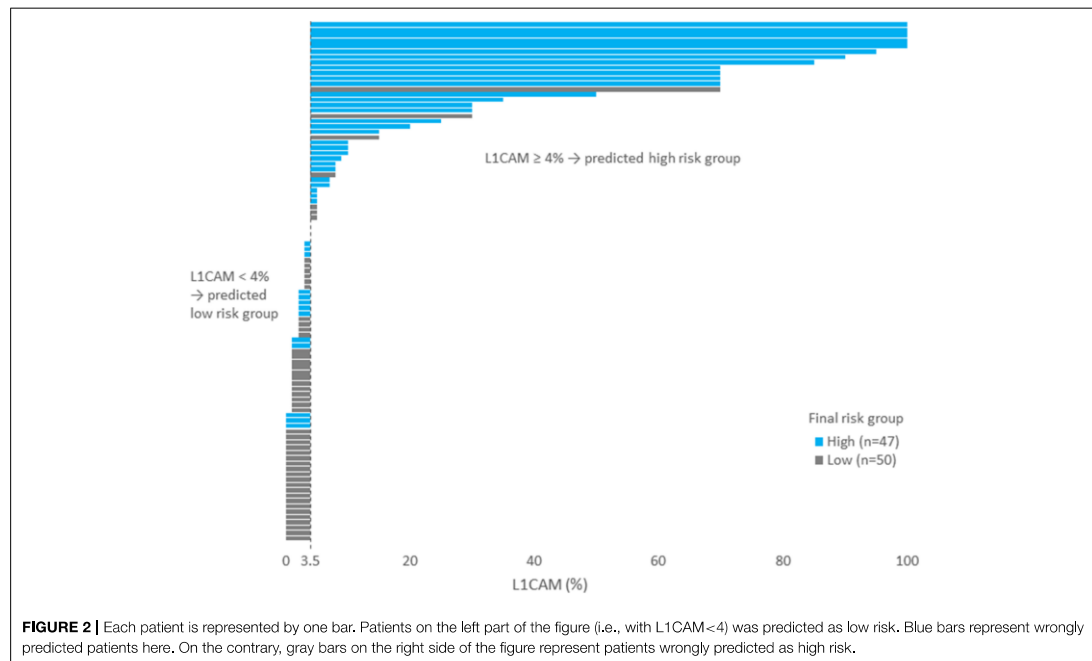


TABLE 4 | Accuracy of low-/high-risk group classification according to current practice.

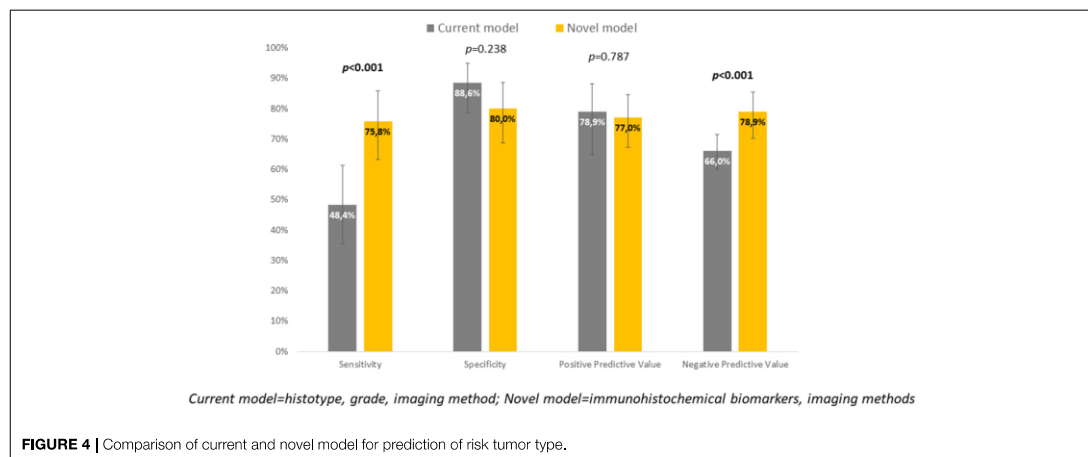
	Final risk		Total <i>N</i>	Sensitivity (95% CI) Specificity (95% CI)	PPV (95% CI) NPV (95% CI)
	Low-risk	High-risk			
Current model: low-risk	62	32	94	48.4% (35.5–61.4%)	78.9% (65.0–88.3%)
Current model: high-risk	8	30	38	88.6% (78.7–94.9%)	66.0% (60.0–71.4%)
Total <i>N</i>	70	62	132		

CI, confidence interval; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value. Bold values are significant.

TABLE 5 | Correlation of IHC with final EC risk stratification.

	Final risk		Total <i>N</i>	<i>p</i> -value	Sensitivity (95% CI) Specificity (95% CI)	PPV (95% CI) NPV (95% CI)
	Low-risk	High-risk				
ER <78 (high-risk)	2	13	15	0.001	27.7% (15.6–42.6%)	86.7% (60.8–96.5%)
ER 78+ (low-risk)	49	34	83		96.1% (86.5–99.5%)	59.0% (54.5–63.4%)
Total <i>N</i>	51	47	98			
PR <88 (high-risk)	17	29	46	0.008	61.7% (46.4–75.5%)	63.0% (52.1–72.8%)
PR 88+ (low-risk)	34	18	52		66.7% (52.1–79.2%)	65.4% (55.6–74.0%)
Total <i>N</i>	51	47	98			
L1CAM <4 (low-risk)	43	13	56	<0.001	72.3% (57.4–84.4%)	82.9% (70.5–90.8%)
L1CAM 4+ (high-risk)	7	34	41		86.0% (73.3–94.2%)	76.8% (67.3–84.2%)
Total <i>N</i>	50	47	97			
p53 mut (high-risk)	1	15	16	<0.001	34.1% (20.5–49.9%)	93.8% (67.4–99.1%)
p53 wt (low-risk)	46	29	75		97.9% (88.7–99.9%)	61.3% (56.1–66.3%)
Total <i>N</i>	47	44	91			

p-value of Fisher's exact test; CI, confidence interval; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; mut, mutated; wt, wild type. Bold values are significant.

**FIGURE 4** | Comparison of current and novel model for prediction of risk tumor type.

synthesis of information obtained from the result of preoperative biopsy (histotype, grading) and imaging methods. Based on the results, patients are included in a risk group before the

surgery and so only hysterectomy and salpingo-oophorectomy are indicated, or the procedure is extended by pelvic and para-aortic lymphadenectomy. Proper preoperative inclusion of a

TABLE 6 | Comparison of standard and new diagnostic approaches.

		Final risk: Low			Final risk: High		
		Current model: low-risk	Current model: high-risk	Total	Current model: low risk	Current model: high risk	Total
Novel model (IMG+IHC)	Low	50 (71.4%)	6 (8.6%)	56 (80%)	15 (24.2%)	0 (0%)	15 (24.2%)
	High	12 (17.1%)	2 (2.9%)	14 (20%)	17 (27.4%)	30 (48.4%)	47 (75.8%)
Total		62 (88.6%)	8 (11.4%)	70 (100%)	32 (51.6%)	30 (48.4%)	62 (100%)

IMG, imaging method; IHC, immunohistochemical markers; current model, histology, grading, imaging method. Bold values are significant.

patient in the risk group is crucial for her treatment and overall survival and is a clinically crucial question.

Other approaches to assess the biological behavior of endometrial cancers are under development. Several research groups have defined immunohistochemical and/or mutation profiles to allow distinguishing endometrial cancer subtypes. The Cancer Genome Atlas (TCGA) project provided the most comprehensive molecular study on endometrial cancer so far. They identified four groups with distinct molecular changes that correlate with progression free survival – *POLE* (Polymerase Epsilon subunit) ultramutated, MSI (microsatellite instability) hypermutated, copy-number low, and copy-number high (19). This approach allows objective categorization of endometrial cancers, however, methodologically remains costly, complex and unsuitable for wider clinical application.

Others introduced a concept of sentinel lymph node detection in endometrial cancer patients. The large prospective study led by Rossi (20) showed very high sensitivity (97.2%) and low false negativity rate (3%) for sentinel lymph node (SLN) detection. SLN detection concept is based on low risk of paraaortic lymph nodes involvement in patients with negative pelvic lymph nodes (21). However, controversy regarding sentinel lymph node detection in high-risk disease and management of low volume nodal disease on ultrastaging still remains.

In many centers, frozen section of uterus is still standard-of-care in terms to confirm or to more specify type and grade of the tumor. Accuracy of frozen section histopathological evaluation is, however, comparable to imaging methods and interobserver agreement regarding both the categories, type and grade, is poor (22–26).

The current development of risk prediction model is mainly focused on combination of imaging and molecular predictors, as our study does. In 2014, Van Holsbeke et al. published a study that externally validated two mathematical models of preoperative risk group prediction in a particular patient (27). The models were based on histology, grading, and the preoperative sonographic evaluation of tumor invasion into the myometrium and cervix. Both models achieved sensitivity of 78–83% and specificity of 68–72% in the detection of high-risk EC patients. In our study, the current clinical model reliably determined low-risk patients (correctly in 83% of cases), while only 8 (11%) patients in the study were false positives included in the high-risk group. The current model preoperatively stratified patients to high-risk with sensitivity of only 48% (35.5–61.4%) and specificity 89% (78.7–94.9%), NPV 66% (60.0–71.4%), and PPV 79% (65.0–88.3%) (Table 4).

A number of ultrasound studies have been published for the assessment of individual staging parameters to determine the depth of tumor invasion into the myometrium, with ultrasound sensitivity from 61 to 93% and specificity from 71 to 92%, when performed by an expert sonography specialist (28–32). The sensitivity reported in the evaluation of tumor invasion in cervical stroma was lower, from 25 to 93%, and specificity from 85 to 99% (30, 33, 34). In a study utilizing expert sonography in a specialized center, Fruhauf et al. reported a PPV of 67.6% and NPV of 83.3% for the detection of deep myometrial invasion and PPV of 60.0% and NPV of 88.1% in the detection of tumor affection of the uterine cervix. According to a recent meta-analysis of 18 studies, CT sensitivity is 47% and specificity 93%; as for ultrasound, sensitivity is 55% and specificity up to 85% for the detection of malignant lymphadenopathy (35). In our group of 132 female patients, the invasion of the tumor to half the thickness of the myometrium was determined correctly in 90%; a false-negative result in the high-risk group of patients was reported in 39 cases. CT did not detect pathological lymphadenopathy in six cases out of nine. A total of nine patients were classified as false positives on the basis of US and CT as validated by the definitive histology.

Studies showing the discrepancy between histology obtained from preoperative curettage or hysteroscopy and definitive histological findings have been published (36–38). On the other hand, there are studies showing good concordance between histology, grade, and immunohistochemical staining in curettage and hysterectomy samples (39, 40). We confirmed that the preoperatively determined histological type, grade, and immunohistochemical biomarkers L1CAM, ER, PR, p53 correlated with the final preparation.

In our study, 70 (70/132) patients were classified as low-risk and 62 (62/132) as high-risk. According to the pre-operative staging, PLN and PALN were performed in 26 patients (20%) in our cohort. However, if the definitive risk were known, staging lymphadenectomy would be performed in all 62 patients in the high-risk group (47%). Due to an inappropriate staging surgery, patients underwent repeated surgery or adjuvant radiotherapy, which may have been avoided if a complete surgical staging with negative histological findings of the presence of the tumor in the lymph nodes had been performed. On the contrary, there are onco-gynecological centers which report extensive PLN + PALN in EC patients, thereby increasing post-operative morbidity without an oncology safety increase (41). We focused on currently promising prognostic IHC markers ER, PR, L1CAM, and p53 mutation to determine whether these markers can help

to refine the preoperative stratification of patients into high- and low-risk categories to assist the gynecological oncology surgeon selecting the adequate surgical extent.

A study published by van der Putten et al. revealed that L1CAM expression in curettage specimens is associated with features of aggressive endometrial cancer disease and poor survival of EC patients (42). van der Putten et al. (42) stated that L1CAM, ER, PR were associated with advanced stage, high-grade, non-endometrioid histology, lymphovascular space invasion (LVSI), and reduced disease-free survival (42). Trovik et al. (43) reported that combined ER/PR loss is a significant predictor of nodal affection and overall poor prognosis of patients. ER and PR are prospectively investigated in an ongoing study where the decision of whether to perform or not to perform lymphadenectomy is based on the pre-operative condition of hormone receptors (44). Prospective studies PIPENDO and PORTEC 4 are currently underway. The first study examines the use of molecular risk markers to identify high-risk patients requiring extensive surgery and/or adjuvant therapy (8). PORTEC 4 uses molecular risk factors for the stratification and indication of adjuvant radiotherapy (45).

In our study, ER, PR, L1CAM and p53 values from preoperative histology were related to definitive histology and grading. In endometrioid carcinoma, there was a greater percentage of ER, PR receptors and no or ultimately low percentages of L1CAM mutations. The opposite ratio was seen in the occurrence of markers in non-endometrioid ECs; p53 was mutated dominantly in endometrial grade 3 and non-endometrioid carcinoma. The correlation of IHC markers with the extent of disease shows a decrease in ER and PR expression in higher stages of the disease. Furthermore, an increase in L1CAM expression can be observed when compared with early stages. Similarly, the p53 mutation was more common. Our results are in line with the published data in larger patient cohorts (43, 46). The correlation of markers with the presence of distant metastases could not be assessed as there were only two patients with distant metastases at the time of diagnosis in our study group.

To our best and honest knowledge, this is the first study to evaluate the added value of L1CAM, ER, PR and p53 markers in low- and high-risk EC preoperative diagnostics. This is the first study attempting to determine the cut-off of the individual markers for this classification.

We focused on the correlation of IHC markers with the determination of high-risk EC and the assessment of optimal cut-offs for continuous markers using ROC analyses. At the cut-off for ER <78% ($p = 0.001$), PR <88% ($p = 0.008$), and L1CAM $\geq 4\%$ ($p < 0.001$), high-risk tumors were determined with a sensitivity of 28, 62, and 72%, respectively, and with respective specificity of 96, 72, and 86%. The PPV for ER, PR, and L1CAM were 87, 63, 83; the NPV for each marker were as follows: 59%, 65%, and 77%. The sensitivity of p53 mutated status ($p < 0.001$) for high-risk detection was low (34%), but the specificity was high (98%), which represents PPV 94% and NPV 61%, respectively.

A cut-off of 10% for positive L1CAM staining has been reported (6, 40, 47). van Gool et al. reported that when using a cut-off of 10% for positive staining, tumors in the study were

classified as L1CAM-positive, with no significant association between L1CAM positivity and the rate of distant metastasis ($p = 0.195$). However, increasing the threshold for L1CAM positivity to 50% resulted in a reduction of the frequency of L1CAM-positive tumors and a significant association with the rate of distant metastasis ($p = 0.018$) (10). Estrogen receptors and PR are considered lost when expression is seen in <10% of the tumor cells. This cut-off used with breast cancer management in the prediction of hormone resistance was also evaluated in EC for prognosis prediction and published (42, 43, 48). In our cohort, we determined optimal cut-offs to distinguish low- and high-risk EC for ER <78% ($p = 0.001$), PR <88% ($p = 0.008$), and L1CAM $\geq 4\%$ ($p < 0.001$). These cut-offs were established in a prospectively assessed cohort of consecutively included patients. In contrast to the cut-offs we defined, the published values are determined in retrospective cohorts of women with recurrence during follow-up, or with an adverse course of their disease with metastatic spread in parenchymatous organs and retroperitoneal lymph nodes. The incidence of L1CAM positivity and loss of ER, PR in these patients in retrospective cohorts may be significantly higher as it is an already pre-selected group of patients. The explanation may be based on the fact that patients who do not exceed the published cut-off values (10% for L1CAM, ER, and PR or 50% for L1CAM) but exceed the cut-offs set for the high-risk group in our study cannot be traced back in the retrospective studies, as they had not been radically treated with combined surgical and $\pm$ adjuvant therapy (radiotherapy, chemotherapy) and there was no recurrence during the long follow-up. Our results were confronted with 10 and 50% cut-offs for L1CAM; this setting led to good differentiation (high specificity) but at a very low sensitivity and good specificity.

To evaluate whether IHC markers would contribute to more accurate stratification of EC risk stratification, a new model was established. Parameters were obtained by imaging methods (myometrial invasion, cervical involvement, lymph node involvement), histology (endometrioid or mucinous vs. non-endometrioid), grade and IHC markers (ER, PR, L1CAM, p53). As deciding for risk stratification, the following parameters have been shown as crucial: L1CAM, PR, and myometrial invasion. The procedure of classification is shown in **Figure 3**. EC risk stratification's overall success was 78% for this model. Successful inclusion into a low-risk group was observed in 80% (56/70 patients), while for high-risk it was 76% (47/62 patients). We provided the comparison of current procedure represented by a model based on histotype, grading, and imaging methods with a new model consisting of imaging examination along with markers (IMG+IHC) (**Table 6**). IHC markers included in the current diagnostic would significantly improve sensitivity (48.4 vs. 75.8%, $p < 0.001$) associated with a slightly, statistically non-significant decrease in specificity to 80% ($p = 0.238$). Positive predictive value was similar for both methods, while negative predictive value (i.e., the probability of being true negative if the test is negative) was significantly improved (66 vs. 78.9%, $p < 0.001$), (**Figure 4**). Using our model, a significantly higher proportion of patients would be properly determined as high-risk.

When comparing the accuracy of the parameters used in the old model with the definite histology, we find discrepancies, especially in the grade and cervical invasion category (Table 1). At the present level of knowledge, no significant improvement in preoperative diagnostic accuracy can be expected by, for example, using imaging methods. Therefore, we are introducing a new model using molecular markers that are not dependent on imaging or other methods of clinical examination.

The strength of our study is that it is a cohort from a real clinical practice with prospective data collection and complete knowledge of preoperative and postoperative data. This is the first study to deal with the real implementation of new IHC markers in the pre-operational decision model. Our study design represents daily routine practice.

We acknowledge the study also has weaknesses. This is a relatively small cohort of EC patients, where all stages are not adequately represented; only two female patients in the FIGO IV stage were present. Considering the excellent correlation between preoperative and postoperative histology and grading, the weakness of the model is in its imaging method, which in the case of ultrasound is dependent on the expert skills of a particular sonographer or imaging specialist.

CONCLUSION

We have demonstrated in our cohort that incorporating IHC markers into preoperative practice in endometrial cancer patients increases prognosis prediction accuracy and allows for the development of a new model for more accurate patient clinical management. Should we prefer a higher specificity model, then the most accurate classification is based on L1CAM

values, myometrial invasion, and the condition of PR receptors. However, for wider implementation and the validation of proposed model, additional study is needed. Ideally, a prospective randomized trial would evaluate the role of IHC markers L1CAM, ER, PR, and p53 in a preoperative setting together with imaging method and histology/grade. To further improve the new model, it would be interesting to focus on general weaknesses in the accuracy of preoperative imaging methods and in the quality of preoperatively obtained samples with a full IHC examination on a routine daily basis. Incorporating IHC markers seems to be the best way to treat EC patients more accurately.

ETHICS STATEMENT

The text of informed consent, information for patients and the study protocol was approved by Institutional Ethical Board of University Hospital Brno.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

VW and MZ: idea of research project, overseeing, coordination of analyses; MB, PV, LM, and MF: collection and preparation of clinical data; JH, EJ, and MC: immunohistochemistry and interpretation of pathological data; PO: statistics; VW, MB, JH, PO, PV, and MZ: writing manuscript. All authors: final reading and approval of manuscript.

FUNDING

This work was supported by the Ministry of Health, Czech Republic—conceptual development of a research organization (FNBr 65269705) and grant project No. 17-32030A.

REFERENCES

- Kurman RJ, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization (eds.). *WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs*. Lyon: International Agency for Research on Cancer (2014).
- Salvesen HB, Haldorsen IS, Trovik J. Markers for individualised therapy in endometrial carcinoma. *Lancet Oncol.* (2012) 13:e353–61. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70213-9
- Dedes KJ, Wetterskog D, Ashworth A, Kaye SB, Reis-Filho JS. Emerging therapeutic targets in endometrial cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* (2011) 8:261–71. doi: 10.1038/nrclinonc.2010.216
- Abu-Rustum NR, Barakat RR. Observations on the role of circumflex iliac node resection and the etiology of lower extremity lymphedema following pelvic lymphadenectomy for gynecologic malignancy. *Gynecol Oncol.* (2007) 106:4–5. doi: 10.1016/j.ygyno.2007.03.026
- Weinberger V, Cibula D, Zikan M. Lymphocoele: prevalence and management in gynecological malignancies. *Expert Rev Anticancer Ther.* (2014) 14:307–17. doi: 10.1586/14737140.2014.866043
- Zeimet AG, Reimer D, Huszar M, Winterhoff B, Puistola U, Azim SA, et al. L1CAM in early-stage type I endometrial cancer: results of a large multicenter evaluation. *J Natl Cancer Inst.* (2013) 105:1142–50. doi: 10.1093/jnci/djt144
- van der Putten LJ, Visser NC, van de Vijver K, Santacana M, Bronsart P, Bulten J, et al. L1CAM expression in endometrial carcinomas: an ENITEC collaboration study. *Br J Cancer.* (2016) 115:716–24. doi: 10.1038/bjc.2016.235
- Visser NCM, Bulten J, van der Wurff AAM, Boss EA, Bronkhorst CM, Feijen HWH, et al. PIPelle Prospective ENDometrial carcinoma (PIPENDO) study, pre-operative recognition of high risk endometrial carcinoma: a multicentre prospective cohort study. *BMC Cancer.* (2015) 15:487. doi: 10.1186/s12885-015-1487-3
- Hua T, Liu S, Xin X, Jin Z, Liu Q, Chi S, et al. Prognostic significance of L1 cell adhesion molecule in cancer patients: A systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* (2016) 7:85196–207. doi: 10.18632/oncotarget.13236
- Van Gool IC, Stelloo E, Nout RA, Nijman HW, Edmondson RJ, Church DN, et al. Prognostic significance of L1CAM expression and its association with mutant p53 expression in high-risk endometrial cancer. *Mod Pathol.* (2016) 29:174–81. doi: 10.1038/modpathol.2015.147
- Lin MY, Dobrotwir A, McNally O, Abu-Rustum NR, Narayan K. Role of imaging in the routine management of endometrial cancer. *Int J Gynaecol Obstet.* (2018) 143 (Suppl. 2):109–17. doi: 10.1002/ijgo.12618
- Frühauf F, Dvorák M, Haaková L, Hašlik L, Herboltová P, Chaloupková B, et al. [Ultrasound staging of endometrial cancer - recommended methodology of examination]. *Ceska Gynkol.* (2014) 79:466–76.
- Fischerova D. Ultrasound scanning of the pelvis and abdomen for staging of gynecological tumors: a review. *Ultrasound Obstet Gynecol.* (2011) 38:246–66. doi: 10.1002/uog.10054

14. Fischerova D, Frühauf F, Zikan M, Pinkavova I, Kocián R, Dunder P, et al. Factors affecting sonographic preoperative local staging of endometrial cancer. *Ultrasound Obstet Gynecol.* (2014) 43:575–85. doi: 10.1002/uog.13248
15. Eriksson LSE, Lindqvist PG, Flöter Rådestad A, Dueholm M, Fischerova D, Franchi D, et al. Transvaginal ultrasound assessment of myometrial and cervical stromal invasion in women with endometrial cancer: interobserver reproducibility among ultrasound experts and gynecologists. *Ultrasound Obstet Gynecol.* (2015) 45:476–82. doi: 10.1002/uog.14645
16. Querleu D, Morrow CP. Classification of radical hysterectomy. *Lancet Oncol.* (2008) 9:297–303. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70074-3
17. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and corpus uteri. *Int J Gynaecol Obstet.* (2014) 125:97–8. doi: 10.1016/j.ijgo.2014.02.003
18. Leisenring W, Alonzo T, Pepe MS. Comparisons of predictive values of binary medical diagnostic tests for paired designs. *Biometrics.* (2000) 56:345–51. doi: 10.1111/j.0006-341X.2000.00345.x
19. Cancer Genome Atlas Research N, Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, Akbani R, Liu Y, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature.* (2013) 497:67–73. doi: 10.1038/nature12113
20. Rossi EC, Kowalski LD, Scalici J, Cantrell L, Schuler K, Hanna RK, et al. A comparison of sentinel lymph node biopsy to lymphadenectomy for endometrial cancer staging (FIRE trial): A multicentre, prospective, cohort study. *Lancet Oncol.* (2017) 18:384–92. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30068-2
21. Abu-Rustum NR, Gomez JD, Alektiar KM, Soslow RA, Hensley ML, Leitao MM Jr, et al. The incidence of isolated paraaortic nodal metastasis in surgically staged endometrial cancer patients with negative pelvic lymph nodes. *Gynecol Oncol.* (2009) 115:236–8. doi: 10.1016/j.ygyno.2009.07.016
22. Gilks CB, Oliva E, Soslow RA. Poor interobserver reproducibility in the diagnosis of high-grade endometrial carcinoma. *Am J Surg Pathol.* (2013) 37:874–81. doi: 10.1097/PAS.0b013e31827f576a
23. Clarke BA, Gilks CB. Endometrial carcinoma: controversies in histopathological assessment of grade and tumour cell type. *J Clin Pathol.* (2010) 63:410–5. doi: 10.1136/jcp.2009.071225
24. Hussein YR, Broaddus R, Weigelt B, Levine DA, Soslow RA. The genomic heterogeneity of FIGO grade 3 endometrioid carcinoma impacts diagnostic accuracy and reproducibility. *Int J Gynecol Pathol.* (2016) 35:16–24. doi: 10.1097/PGP.0000000000000212
25. Han G, Sidhu D, Duggan MA, Arseneau J, Cesari M, Clement PB, et al. Reproducibility of histological cell type in high-grade endometrial carcinoma. *Mod Pathol.* (2013) 26:1594–604. doi: 10.1038/modpathol.2013.102
26. Alkushi A, Kobel M, Kallinger SE, Gilks CB. High-grade endometrial carcinoma: serous and grade 3 endometrioid carcinomas have different immunophenotypes and outcomes. *Int J Gynecol Pathol.* (2010) 29:343–50. doi: 10.1097/PGP.0b013e3181cd6552
27. Van Holsbeke C, Ameye L, Testa AC, Mascilini F, Lindqvist P, Fischerova D, et al. Development and external validation of new ultrasound-based mathematical models for preoperative prediction of high-risk endometrial cancer. *Ultrasound Obstet Gynecol.* (2014) 43:586–95. doi: 10.1002/uog.13216
28. Antonsen SL, Jensen LN, Loft A, Berthelsen AK, Costa J, Tabor A, et al. MRI, PET/CT and ultrasound in the preoperative staging of endometrial cancer - a multicenter prospective comparative study. *Gynecol Oncol.* (2013) 128:300–8. doi: 10.1016/j.ygyno.2012.11.025
29. Savelli L, Ceccarini M, Ludovisi M, Fruscella E, De Iaco PA, Salizzoni E, et al. Preoperative local staging of endometrial cancer: transvaginal sonography vs. magnetic resonance imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol.* (2008) 31:560–6. doi: 10.1002/uog.5295
30. Akbayir O, Corbacioglu A, Numanoglu C, Guleroglu FY, Ulker V, Akkol A, et al. Preoperative assessment of myometrial and cervical invasion in endometrial carcinoma by transvaginal ultrasound. *Gynecol Oncol.* (2011) 122:600–3. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.05.041
31. Sawicki W, Spiewankiewicz B, Stelmachów J, Cendrowski K. The value of ultrasonography in preoperative assessment of selected prognostic factors in endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol.* (2003) 24:293–8. doi: 10.1002/uog.14905
32. Alcazar JL, Pineda L, Martinez-Astorquiza Corral T, Orozco R, Utrilla-Layna J, Juez L, et al. Transvaginal/transrectal ultrasound for assessing myometrial invasion in endometrial cancer: a comparison of six different approaches. *J Gynecol Oncol.* (2015) 26:201–7. doi: 10.3802/jgo.2015.26.3.201
33. Mascilini F, Testa AC, Van Holsbeke C, Ameye L, Timmerman D, Epstein E. Evaluating myometrial and cervical invasion in women with endometrial cancer: comparing subjective assessment with objective measurement techniques. *Ultrasound Obstet Gynecol.* (2013) 42:353–8. doi: 10.1002/uog.12499
34. Frühauf F, Zikan M, Semerádova I, Dunder P, Nemejcova K, Dusek L, et al. The diagnostic accuracy of ultrasound in assessment of myometrial invasion in endometrial cancer: subjective assessment versus objective techniques. *Biomed Res Int.* (2017) 2017:1318203. doi: 10.1155/2017/1318203
35. Gong Y, Wang Q, Dong L, Jia Y, Hua C, Mi F, et al. Different imaging techniques for the detection of pelvic lymph nodes metastasis from gynecological malignancies: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* (2016) 8:14107–25. doi: 10.18632/oncotarget.12959
36. Lampe B, Kürzl R, Hantschmann P. Reliability of tumor typing of endometrial carcinoma in pre-hysterectomy curettage. *Int J Gynecol Pathol.* (1995) 14:2–6.
37. Frumovitz M, Singh DK, Meyer L, Smith DH, Wertheim I, Resnik E, et al. Predictors of final histology in patients with endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* (2004) 95:463–8. doi: 10.1016/j.ygyno.2004.07.016
38. Leitao MM, Kehoe S, Barakat RR, Alektiar K, Gattoc LP, Rabbitt C, et al. Accuracy of preoperative endometrial sampling diagnosis of FIGO grade 1 endometrial adenocarcinoma. *Gynecol Oncol.* (2008) 111:244–8. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.07.033
39. Stelloo E, Nout RA, Naves LCLM, Ter Haar NT, Creutzberg CL, Smit VTBM, et al. High concordance of molecular tumor alterations between pre-operative curettage and hysterectomy specimens in patients with endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* (2014) 133:197–204. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.02.012
40. Bosse T, Nout RA, Stelloo E, Dreef E, Nijman HW, Jürgenliemk-Schulz IM, 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) 50:2602–10. doi: 10.1016/j.ejca.2014.07.014
41. Amant F, Mirza MR, Koskas M, Creutzberg CL. Cancer of the corpus uteri. *Int J Gynecol Obstet.* (2018) 143:37–50. doi: 10.1002/ijgo.12612
42. van der Putten LJM, Visser NCM, van de Vijver K, Santacana M, Bronsart P, Bulten J, et al. Added value of estrogen receptor, progesterone receptor, and L1 cell adhesion molecule expression to histology-based endometrial carcinoma recurrence prediction models: an ENITEC collaboration study. *Int J Gynecol Cancer.* (2018) 28:514–23. doi: 10.1097/IGC.00000000000001187
43. Trovik J, Wik E, Werner HJM, Krakstad C, Helland H, Vandenput I, et al. Hormone receptor loss in endometrial carcinoma curettage predicts lymph node metastasis and poor outcome in prospective multicentre trial. *Eur J Cancer.* (2013) 49:3431–41. doi: 10.1016/j.ejca.2013.06.016
44. Biomarker Guided Treatment in Gynaecological Cancer - Full Text View - ClinicalTrials.gov. Available online at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02543710> (accessed March 28, 2017).
45. PORTEC-4a. Molecular Profile-based Versus Standard Adjuvant Radiotherapy in Endometrial Cancer - Full Text View - ClinicalTrials.gov. Available online at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03469674> (accessed March 19, 2018).
46. Tangen IL, Kopperud RK, Visser NC, Staff AC, Tingulstad S, Marcickiewicz J, et al. Expression of L1CAM in curettage or high L1CAM level in preoperative blood samples predicts lymph node metastases and poor outcome in

- endometrial cancer patients. *Br J Cancer*. (2017) 117:840–7. doi: 10.1038/bjc.2017.235
47. Geels YP, Pijnenborg JMA, Gordon BBM, Fogel M, Altevogt P, Masadah R, et al. L1CAM expression is related to non-endometrioid histology, and prognostic for poor outcome in endometrioid endometrial carcinoma. *Pathol Oncol Res*. (2016) 22:863–8. doi: 10.1007/s12253-016-0047-8
 48. Jongen V, Briët J, de Jong R, ten Hoor K, Boezen M, van der Zee A, et al. Expression of estrogen receptor-alpha and -beta and progesterone receptor-A and -B in a large cohort of patients with endometrioid endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. (2009) 112:537–42. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.10.032

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2019 Weinberger, Bednarikova, Hausnerova, Ovesna, Vinklerova, Minar, Felsinger, Jandakova, Cihalova and Zikan. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

2.4 Sérové markery a jejich klinický význam u karcinomu endometria

Vedle tkáňových prognostických markerů byla historicky velká pozornost věnována také možnosti využití sérových biomarkerů, jejichž potenciální výhodou je minimální invazivita vyšetření a možnost opakovaného monitorování v průběhu léčby. Na rozdíl od tkáňových markerů, pro jejichž hodnocení je nezbytný odběr vzorku nádoru, představují sérové markery jednodušeji dostupný nástroj pro predikci biologického chování nádoru jak před zahájením léčby, tak i v jejím průběhu.

U karcinomu endometria byly studovány především sérové markery spojené s nádorovou proliferací, invazivitou a procesy epiteliálně-mezenchymální tranzice. Přestože některé z nich vykazovaly asociaci s pokročilejším stadiem onemocnění, přítomností metastáz v lymfatických uzlinách nebo vyšším rizikem recidivy, žádný sérový marker nebyl dosud zaveden do rutinní klinické praxe pro stratifikaci rizika v době diagnózy.

Nejčastěji využívaným sérovým markerem v klinické praxi zůstává **CA125**, jehož zvýšené hodnoty mohou korelovat s extrauterinním šířením onemocnění a nepříznivou prognózou [33–35]. Jeho senzitivita i specificita jsou však pro samostatné rozhodování o rozsahu léčby nedostatečné. Z tohoto důvodu byla pozornost zaměřena na identifikaci nových sérových markerů, které by mohly zpřesnit predikci biologického chování karcinomu endometria a přispět k optimalizaci stávajících klinicko-patologických modelů predikce rizika.

K intenzivně zkoumaným sérovým markerům patří zejména protein **HE4** (Human Epididymis Protein 4), který je v praxi využíván společně s CA125 pro diferenciální diagnostiku adnexálních nálezů. Data o jeho prognostickém významu u karcinomu endometria nejsou jednoznačná, nicméně byly publikovány studie prokazující korelaci mezi zvýšením sérových hladin HE4 a hloubkou invaze do myometria, gradingem, resp. postižením regionálních lymfatických uzlin i vyšším rizikem recidivy onemocnění [36–38]. Při interpretaci sérových hladin HE4 je však nezbytné zohlednit i další faktory, které mohou jeho koncentraci významně ovlivňovat, zejména věk pacientky, renální funkce, kouření a menopauzální status [39, 40].

K relativně novým markerům s potenciálním prognostickým významem patří **L1CAM** (kapitola 2.3), jehož zvýšená exprese v nádorové tkáni i vyšší sérové koncentrace byly asociovány s agresivnějším biologickým chováním karcinomu endometria, zejména s vyšším rizikem metastatického postižení lymfatických uzlin a recidivy onemocnění [41].

Vedle markeru L1CAM byl u karcinomu endometria studován také protein **DJ1 (PARK7)**, který se podílí na regulaci buněčné proliferace, oxidativního stresu a nádorové progresi, mimo jiné prostřednictvím modulace nádorového supresoru *PTEN*. Zvýšené sérové hladiny byly u karcinomu endometria asociovány s nepříznivými patologickými charakteristikami nádoru, což naznačuje jeho možný prognostický význam [42–44].

2.4.1 Vlastní přínos k problematice

V návaznosti na poznatky o potenciálním klinickém významu sérových markerů u karcinomu endometria jsme realizovali vlastní unicentrickou prospektivní observační studii zaměřenou na hodnocení dynamiky sérových hladin markerů DJ-1 a L1CAM v korelaci se standardně používanými markery CA125 a HE4 u pacientek s karcinomem

endometria. Na rozdíl od většiny dosud publikovaných studií, které hodnotily pouze jednorázové stanovení markerů v době diagnózy, byla naše práce zaměřena na sériové monitorování jejich hladin v průběhu času. Cílem projektu bylo ověřit, zda vstupní sérové hladiny markerů korelují s rizikem recidivy a zda časové změny sérových hladin posuzovaných markerů korelují s odpovědí na léčbu a stavem onemocnění.

Do studie byly prospektivně zařazeny pacientky s histologicky verifikovaným karcinomem endometria, léčené v Onkogynekologickém centru FN Brno. Sérové hladiny markerů DJ1, L1CAM, CA125 a HE4 byly stanovovány opakovaně – v době diagnózy, po ukončení primární léčby v rámci follow-up a při podezření na recidivu onemocnění. Analyzována byla korelace dynamiky hladin markerů se stadiem onemocnění a také vztah mezi hladinou markerů v době diagnózy s klinicko-patologickými charakteristikami nádoru a faktory souvisejícími se zdravotním stavem pacientek.

Výsledky studie prokázaly, že sérové hladiny DJ1, L1CAM, CA125 i HE4 byly signifikantně vyšší v době diagnózy než po ukončení primární léčby, což potvrzuje korelaci mezi dynamikou markerů a přítomností aktivního onemocnění. U pacientek s recidivou byly hladiny DJ1, CA125 a HE4 v době relapsu významně vyšší než u pacientek bez známek onemocnění, což podporuje potenciální využití těchto markerů při dlouhodobém monitorování pacientek po léčbě. U markeru L1CAM byl pozorován obdobný trend, avšak bez dosažení statistické významnosti, pravděpodobně vzhledem k nízkému počtu recidiv v souboru.

Výsledky analýz korelace vstupních sérových hladin markerů s klinicko-patologickými charakteristikami nádoru prokázaly, že vyšší hladiny CA125 a HE4 byly asociovány s nepříznivějšími charakteristikami onemocnění, zejména s pokročilejším klinickým stadiem, hlubší invazí do myometria a vyšším rizikem metastatického postižení lymfatických uzlin. U markerů DJ1 a L1CAM byl pozorován obdobný trend, který však nedosahoval konzistentně statistické významnosti.

Studie dále ukázala, že sérové hladiny DJ1 nebyly významně ovlivněny věkem, BMI ani renálními funkcemi, zatímco hladiny L1CAM byly asociovány s vyšším věkem, obezitou a postmenopauzálním stavem.

Z klinického hlediska představovala studie jeden z prvních prospektivních projektů hodnotících sériové změny hladin DJ1 a L1CAM u pacientek s karcinomem endometria. Výsledky podpořily hypotézu, že dynamika sérových hladin markerů, zejména DJ1, by mohla představovat užitečný nástroj pro monitoraci efektu léčby a časnou detekci recidivy onemocnění ještě před rozvojem klinické symptomatologie. Současně studie přispěla k lepšímu pochopení faktorů ovlivňujících interpretaci jednotlivých markerů v klinické praxi. Potvrdili jsme také, že jednorázové stanovení sérových markerů v době diagnózy má pro predikci rizika recidivy pouze omezený přínos.

Příloha 2: The Clinical Significance of DJ1 and L1CAM Serum Level Monitoring in Patients with Endometrial Cancer

BEDNARIKOVA, Marketa, VINKLEROVA, Petra, GOTTWALDOVA, Jana, OVESNA, Petra, HAUSNEROVA, Jitka, MINAR, Lubos, FELSINGER, Michal, VALIK, Dalibor, CERMAKOVA, Zdenka a WEINBERGER, Vit. *Journal of Clinical Medicine*. 2021, 10(12), 2640. ISSN 2077-0383. doi:10.3390/jcm10122640.

IF = 4,964; median IF MEDICINE, GENERAL & INTERNAL – 2,982; according to IF MEDICINE, GENERAL & INTERNAL Q2; according to AIS MEDICINE, GENERAL & INTERNAL Q2

Typ příspěvku: původní práce

Vlastní přínos autorky: koncept studie, identifikace vhodných pacientek, sběr klinických dat, koordinace odběrů biologického materiálu, klinická interpretace dat, příprava rukopisu.

Article

The Clinical Significance of DJ1 and L1CAM Serum Level Monitoring in Patients with Endometrial Cancer

Marketa Bednarikova ¹, Petra Vinklerova ², Jana Gottwaldova ^{3,4}, Petra Ovesna ⁵, Jitka Hausnerova ⁶, Lubos Minar ², Michal Felsinger ² , Dalibor Valik ³, Zdenka Cermakova ^{3,4} and Vit Weinberger ^{2,*}

¹ Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, Masaryk University and University Hospital, 625 00 Brno, Czech Republic; bednarikova.marketa@fnbrno.cz

² Department of Obstetrics and Gynecology, Masaryk University and University Hospital, 625 00 Brno, Czech Republic; vinklerova.petra@fnbrno.cz (P.V.); minar.lubos@fnbrno.cz (L.M.); felsinger.michal@fnbrno.cz (M.F.)

³ Department of Laboratory Medicine, Department of Laboratory Methods, Masaryk University and University Hospital, 625 00 Brno, Czech Republic; jana.gottwaldova@mou.cz (J.G.); valik.dalibor@fnbrno.cz (D.V.); zdenka.cermakova@mou.cz (Z.C.)

⁴ Department of Laboratory Medicine, Masaryk Memorial Cancer Institute, 602 00 Brno, Czech Republic

⁵ Faculty of Medicine, Institute of Biostatistics and Analyses, Masaryk University, 625 00 Brno, Czech Republic; ovesna@iba.muni.cz

⁶ Department of Pathology, Masaryk University and University Hospital, 625 00 Brno, Czech Republic; hausnerova.jitka@fnbrno.cz

* Correspondence: weinberger.vit@fnbrno.cz



Citation: Bednarikova, M.; Vinklerova, P.; Gottwaldova, J.; Ovesna, P.; Hausnerova, J.; Minar, L.; Felsinger, M.; Valik, D.; Cermakova, Z.; Weinberger, V. The Clinical Significance of DJ1 and L1CAM Serum Level Monitoring in Patients with Endometrial Cancer. *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 2640. <https://doi.org/10.3390/jcm10122640>

Academic Editors: Andrea Romano and Erica Werner

Received: 2 May 2021

Accepted: 11 June 2021

Published: 15 June 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Circulating tumor markers are not routinely used in patients with endometrial cancer (EC). This pilot study evaluated the role of monitoring new biomarkers DJ1 and L1CAM, in correlation with CA125 and HE4, for the effects of anticancer treatment and preoperative management in EC patients. Serial serum levels of DJ1, L1CAM, CA125 and HE4 were collected in 65 enrolled patients. Serum DJ1, L1CAM, CA125 and HE4 levels were significantly higher at the time of diagnosis compared to those measured during follow-up (FU). In patients with recurrent disease, serum DJ1, CA125 and HE4 levels were significantly higher at the time of recurrence compared to levels in disease-free patients. Serum L1CAM levels were also higher in patients with recurrence but without reaching statistical significance. While DJ1 levels were not affected by any of the observed patient-related characteristics, L1CAM levels were significantly higher in patients with age ≥ 60 years who were overweight. At the time of EC diagnosis, DJ1 and L1CAM serum levels did not correlate with stage, histological type or risk of recurrence. This is a preliminary description of the potential of serial DJ1 and L1CAM serum level measurement for monitoring the effects of treatment in EC patients.

Keywords: tumor markers; endometrial cancer; DJ1; L1CAM

1. Introduction

The primary clinical use of circulating tumor markers determined in peripheral blood consists of monitoring the course of disease. An increase in serum levels often precedes the clinical manifestation of disease recurrence, and dynamic changes in their levels over time are used to monitor the effects of anticancer treatments. In contrast, circulating markers are not very suitable for cancer screening or primary diagnosis and do not play a significant role in determining the extent of the disease or prognosis, respectively [1,2].

In endometrial cancer (EC) patients, elevated CA125 and HE4 levels have been frequently found [3]. The results of studies investigating the prognostic impact of CA125 in EC have not been unequivocal. While Sood et al. and Reijnen et al. described an association between preoperatively elevated CA125 levels and poor outcomes in EC patients [4,5], other studies did not confirm the correlation between CA125 serum levels and extent of disease at the time of diagnosis [6,7].

In terms of EC detection, marker HE4 has demonstrated higher sensitivity and specificity than CA125, especially in early stages [8]. The prognostic relevance of HE4 has been established in poorly differentiated EC [9]. Neither of the circulating markers have become a standard part of clinical practice [10–13].

Recently, studies of new promising markers DJ1 and L1CAM have been published. The first marker, DJ1, also known as Parkinson's disease-associated protein 7 (PARK7), is a multifunctional protein promoting cell proliferation and playing an important role in cancer pathogenesis and progression by modulating the tumor suppressor PTEN. The results of studies by Italian authors demonstrated not only significantly higher DJ1 serum levels in EC patients compared to healthy controls, but also the association of higher DJ1 levels with high-risk histological type (defined as endometrioid carcinoma grade 3 or non-endometrioid types) in contrast with lower DJ1 levels in low-risk histological types (endometrioid carcinoma grade 1 or 2) [14–16]. The second marker, L1 cell adhesion molecule (L1CAM), is a membrane glycoprotein of the immunoglobulin family, crucially involved in cancer cell migration and adhesion. L1CAM overexpression in EC tissues represents a negative prognostic marker, signaling both more aggressive behavior of the tumor and shorter survival of patients [17,18]. The significance of L1CAM serum level measurement has not been unambiguously established yet [19,20]. All studies concerning circulating DJ1 and L1CAM serum levels assessed merely one-time sampling events without studying the potential significance of time-dependent changes in serial DJ1 or L1CAM serum levels. Therefore, data regarding the importance of DJ1 and L1CAM measurement either during the course of therapy for the monitoring of their effects or during a follow-up after successful primary therapy for the detection of EC recurrence are still lacking.

The aim of our study was to evaluate whether time-dependent changes of serial serum measurements of DJ1, L1CAM, CA125 and HE4 in EC patients correlated with the course of the disease and whether elevated levels at the follow-up signaled recurrence. We wanted to clarify whether the markers' levels were affected by factors associated with patients' health conditions. We also investigated if marker levels at the time of diagnosis correlated with clinico-pathological features of the tumor.

2. Materials and Methods

2.1. Patients

Patients undergoing surgical treatment from May 2016 to April 2019 for histologically proven EC in the Oncogynecological Center of University Hospital (UH) Brno, Czech Republic, were consecutively involved in this single-institutional, prospective, observational study. The patients with other malignancies or neuro-degenerative diseases were excluded. All subjects gave their written informed consent to participate in the study.

2.2. Clinical Management

Diagnosis of EC was made after histopathological examination of a tumor biopsy obtained from hysteroscopy or dilatation and curettage. Each patient with newly diagnosed EC underwent a clinical examination, CT of the chest/abdomen and an expert ultrasound (US) examination, according to local guidelines [21]. The blood samples for CA125, HE4, DJ1 and L1CAM serum level assessment as well as for basic biochemical and hematological laboratory tests were performed at the time of diagnosis. Subsequently, patients were divided into groups with a low or high risk of recurrence according to histology, grade and clinical staging. The low-risk group was defined as endometrioid carcinoma grade 1 TNM stage cT1a or cT1b and/or endometrioid carcinoma grade 2 TNM stage cT1a, all of them without clinical or imaging evidence of lymphadenopathy (cN0) or distant metastases (cM0) [22]. Patients who did not meet criteria for a low-risk group were classified as a high-risk group. The staging surgical procedure consisting of a total hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy was performed in all patients. Whereas the sentinel node biopsy was not a standard at the time of the study in our department, systematic pelvic and paraaortic lymphadenectomies were performed in the high-risk group. In the case of

serous endometrial carcinoma, carcinosarcoma and undifferentiated carcinoma, a staging infracolic omentectomy was added to the surgical procedure [23].

The definitive histopathological classification of a tumor, containing data about histotype, grade, lymphovascular space involvement (LVSI) and surgical stage was made by one of two pathologists experienced in gynecological malignancies according to the FIGO, 2014, and the World Health Organization, 2014 [24,25]. Based on final histopathological findings, patients were once again stratified into low- or high-risk groups and thereafter, decisions regarding adjuvant treatment, considering all the relevant factors, were made by the multidisciplinary board according to local guidelines.

After the completion of primary therapy, patients were transferred to a follow-up (FU) program consisting of an outpatient visit three or four times per year for the first 2 years, from years 3 to 5 on a six-month basis, and then once per year. The gynecological examination and pelvic US were an obligatory part of each visit. Blood sampling for marker assessment was performed once or twice during the follow-up and always when EC recurrence was suspected. The diagnosis of EC recurrence was confirmed either histologically or radiologically.

2.3. Clinical Data

The following data were prospectively recorded in the clinical database: age at the time of diagnosis, menopausal status, weight, height, body mass index (BMI), body surface area (BSA), renal functions (serum creatinine and glomerular filtration rate, calculated according to a chronic kidney disease epidemiology collaboration (CKD-EPI) equation), treatment data and date of the last follow-up visit or death (EC related/non-related).

2.4. Serum CA125, HE4, DJ1 and L1CAM Level Measurement

The sampling of the peripheral blood was performed under the standard procedure from the cubital vein, using 7.5 mL tubes of S-Monovette® Serum Gel (Sarstedt) preoperatively, once or twice during the follow-up period and always when recurrence was suspected. The samples were transported to the Department of Clinical Biochemistry UH Brno, where the serum was separated by centrifugation, and the samples were analyzed either immediately (CA125, HE4) or stored frozen at -80°C until analysis (DJ1 and L1CAM).

The quantitative assessments of L1CAM and DJ1 levels were performed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using ELISA reader iMARK (Bio-Rad). For L1CAM, kit CN MBS 2023094 (MYBioSource, USA) was used. DJ1 serum levels were measured using kit CN CY-9050V2 (CircuLex MBL, UK). The serum concentrations of HE4 and CA125 were determined using quantitative, chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) on the analyzer Architect i2000 (Abbott, Abbott Laboratories, USA). For CA125 measurement, the diagnostic set ARCHITECT Ca125 II (CN 2K45-24, Abbott) was used. HE4 serum level assessments were performed using the diagnostic set ARCHITECT HE4 (CN 2P51-25, Abbott).

2.5. Statistical Analysis

Categorical variables were summarized as absolute and relative frequencies and continuous variables as median, interquartile range (IQR), or range. Linear mixed-effects models were applied to evaluate the profiles of marker levels over time, and the impact of disease and patient characteristics on the levels. Models included the patient's identification number as a random effect because one patient had more than one measurement. Original values were log-transformed due to their log-normal distribution for the purpose of the model. All tests were performed as two-sided at the significance level of $\alpha = 0.05$. Analyses were done in R software.

3. Results

3.1. Patient Characteristics

A total of 65 patients with a median age of 65 years (30–65 years) and median BMI of 31.2 (17.3–45.7) were enrolled in the study. The majority of patients were diagnosed with an

early stage disease (FIGO I–II, $n = 58$; 89%), while lymph nodes or distant metastases were diagnosed in 7 (11%) patients. In terms of histology, patients with low-grade endometrioid carcinoma predominated ($n = 51$; 79%). All the patients underwent a staging surgical procedure ($n = 65$; 100%), adjuvant radiotherapy was performed in 23 patients (35%) and chemotherapy in 7 (11%) patients. The median time between the preoperative blood sample and the first FU visit's collection was 6.3 months (2.6–20.7 months), whereas between the first and second FU samples, 4.55 months (1.7–14.7 months). Detailed patients' characteristics are shown in Table 1.

Table 1. Characteristics of endometrial cancer patients.

Age (Years) Median (Min; Max)		65 (30; 85)
Menopausal status (n , %)	Pre-/perimenopausal	11 (17%)
	Postmenopausal	54 (83%)
Biometric data Median (min; max)	Weight (kg)	82 (50; 121)
	Height (cm)	165 (146; 176)
	BMI (kg/m ²)	31.3 (17.3; 45.7)
	BSA (m ²)	1.89 (1.5; 2.33)
Renal function, $n = 64$ Median (min; max)	Creat/S (umol/L)	69 (52; 134)
	CKD-EPI (mL/s)	1.33 (0.52; 1.81)
FIGO stage [25] (n ; %)	I	50 (77%)
	II	8 (12%)
	III	5 (8%)
	IV	2 (3%)
Myometrial invasion (n ; %)	<50%	48 (74%)
	≥50%	17 (26%)
Histology (n ; %)	E G1-2	51 (79%)
	E G3, non-E	14 (21%)
Treatment (n ; %)	HY and AE	65 (100%)
	PLN +/− PALN	20 (31%)
	RT	23 (35%)
	CHT	7 (11%)
Recurrence (n ; %)	Local	2 (3%)
	Distant	3 (5%)
	No	60 (92%)
Time (months) Median (min; max)		6.3 (2.6; 20.7)
Surgery—FU1		4.6 (1.7; 14.7)
FU1—FU2, $n = 56$		29.5 (13.7; 46.5)
Dg—last FU		
Status at the end of FU (n ; %)	Alive	58 (89%)
	Died of EC	4 (6%)
	Died (another cause)	3 (5%)

Abbreviations: n = number of patients, BMI = Body Mass Index, BSA = Body Surface Area, creat/S = creatinine serum level, CKD-EPI = glomerular filtration rate calculated according to chronic kidney disease epidemiology collaboration (CKD-EPI) equation, E = endometrioid, G = grading, HY = hysterectomy, AE = adnexectomy, PLN = pelvic lymphadenectomy, PALN = paraaortic lymphadenectomy, RT = radiotherapy, CHT = chemotherapy, FU = follow-up, FU1 = first follow-up blood sample, FU2 = second follow-up blood sample.

After a median follow-up time of 29.5 months, a total of five patients (8%) developed recurrent disease, with the time to progression between 7 and 16 months. One patient with initial FIGO stage II developed local recurrence, three had distant metastases (one of them initially staged FIGO IA, and two of them FIGO IVB) and one patient with initial FIGO

stage IA developed both local recurrence and metastatic disease (Table 2). All four patients who developed distant metastases died from their disease (Table 1).

Table 2. Characteristics of patients with recurrent endometrial cancer.

Pts	Age	Histology	G	HY+AE	PLN/ PALN	RT	CHT	FIGO	Relapse	TTP (Months)
I	75	E	2	yes	no	yes	yes	IVB	Distant	8
II	71	E	3	yes	yes	yes	no	II	Local	16
III	72	E	2	yes	no	no	no	IA	Local, Distant	11
IV	55	E	2	yes	no	yes	yes	IVB	Distant	13
V	66	Non-E	3	yes	yes	no	yes	IA	Distant	7

Abbreviations: Pts = patients, E = endometrioid, non-E = non-endometrioid, HY = hysterectomy, AE = adnexectomy, PLN = pelvic lymphadenectomy, PALN = paraaortic lymphadenectomy, RT = radiotherapy, CHT = chemotherapy, TTP = time to progression.

3.2. DJ1, L1CAM, CA125 and HE4 Serial Serum Levels in Correlation with Disease Status

In all enrolled patients, median DJ-1, L1CAM, CA125 and HE4 serum levels fell after initial treatment and remained low for both subsequent follow-ups. Median serum levels of each marker were significantly higher at the time of diagnosis than afterwards in FU ($p < 0.001$ for DJ-1, L1CAM, CA125 and HE4, respectively). The serum levels of DJ-1, L1CAM, CA125 and HE4 at the time of diagnosis and during the follow-ups are shown in Table 3. Serial measurements are graphically illustrated in Figure 1.

Table 3. The measured DJ1, L1CAM, HE4 and CA125 levels in patients with EC.

		Time of Collection			<i>p</i> Value
		Preoperative	FU1	FU2	
DJ1 (ng/mL)	Valid <i>n</i>	64	65	50	<0.001
	Median (IQR)	78 (38.4–139)	23.5 (15.9–31.9)	25 (18.4–40.1)	
L1CAM (pg/mL)	Valid <i>n</i>	64	65	50	<0.001
	Median (IQR)	1919 (1519–2387)	1690 (1229–2087)	1602.5 (1195–2105)	
HE4 (pmol/L)	Valid <i>n</i>	49	65	56	<0.001
	Median (IQR)	68.2 (55.8–98)	54.5 (44.8–70.5)	54.7 (44.2–76.7)	
CA125 (kU/L)	Valid <i>n</i>	60	65	56	<0.001
	Median (IQR)	16.3 (11.4–24.2)	9.4 (7.1–15.2)	11.3 (7.5–15.4)	

Abbreviations: *n* = number of patients, IQR = interquartile range, FU1 = first follow-up blood sample, FU2 = second follow-up blood sample.

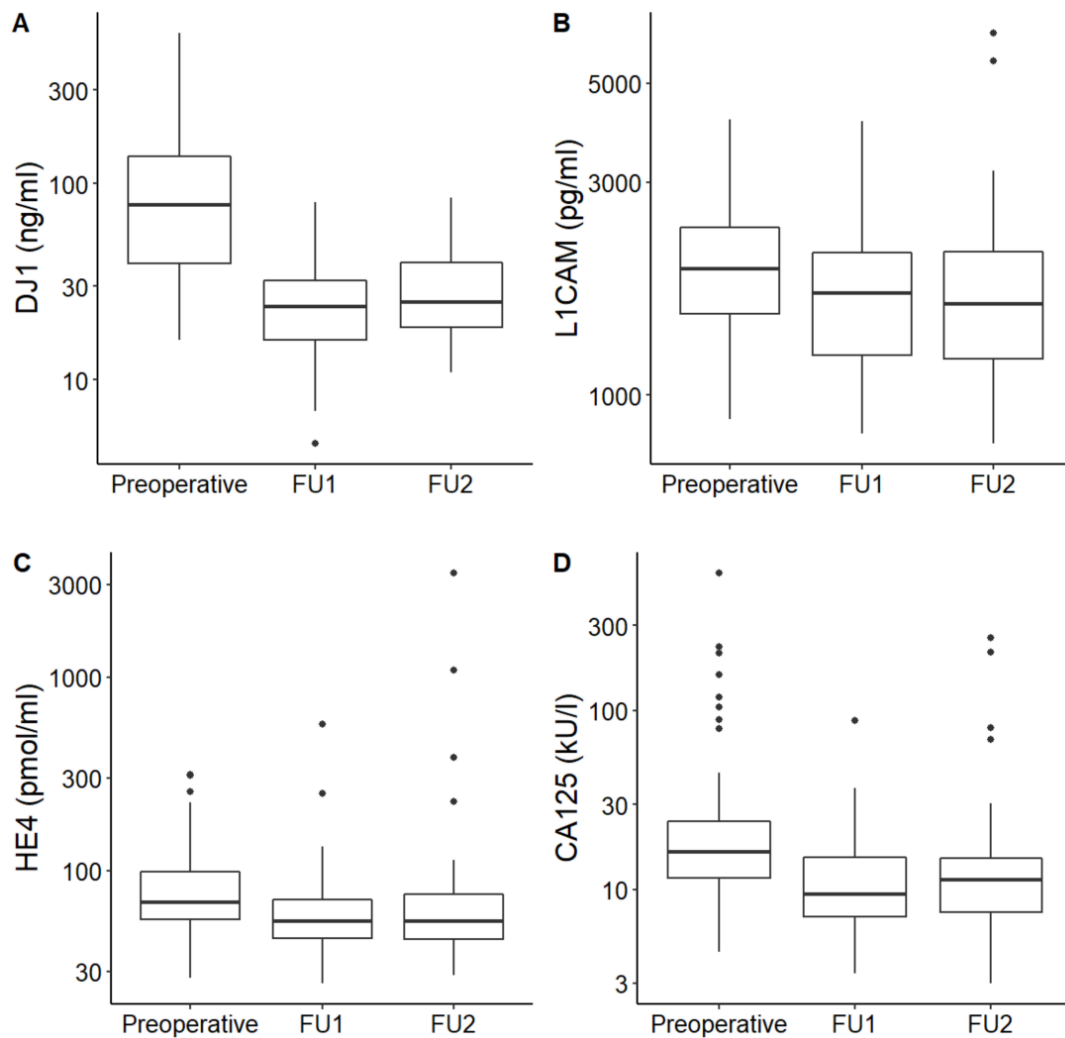
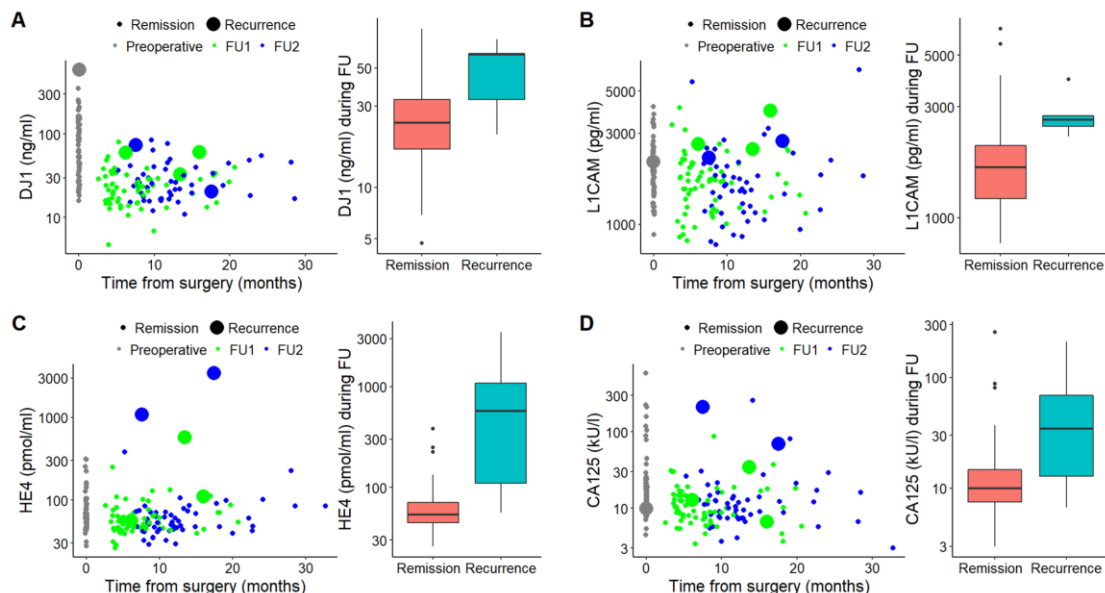


Figure 1. DJ-1 (A), L1CAM (B), HE4 (C) and CA125 (D) levels at three different time points: before surgery (preoperative), first follow-up collection (FU1) and second follow-up collection (FU2).

In patients with recurrent disease, serum DJ1, CA125 and HE4 levels were significantly higher at the time of recurrence compared to levels in disease-free patients ($p = 0.035$ for DJ1, $p < 0.001$ for CA125 and HE4, respectively) (Table 4, Figure 2A,C,D). Serum L1CAM levels were also higher in patients with recurrence; however, the patients' profiles with or without recurrence did not differ significantly ($p = 0.353$) (Table 4, Figure 2B).

Table 4. DJ1, L1CAM, HE4 and CA125 follow-up serum levels in patients with or without recurrence of endometrial cancer.

		Serum Levels at Follow-Up		<i>p</i> Value
		Remission	Recurrence	
DJ1 (ng/mL)	Valid <i>n</i>	110	5	0.035
	Median (IQR)	23.9 (16.8–32.8)	60.1 (32.7–61)	
L1CAM (pg/mL)	Valid <i>n</i>	110	5	0.353
	Median (IQR)	1650.5 (1203–2050)	2630 (2474–2740)	
HE4 (pmol/L)	Valid <i>n</i>	116	5	<0.001
	Median (IQR)	53.5 (44.5–71.2)	572 (110–1083)	
CA125 (kU/L)	Valid <i>n</i>	116	5	<0.001
	Median (IQR)	10 (7.5–14.8)	34.4 (12.8–69.2)	

Abbreviations: *n* = number of measurements, IQR = interquartile range.**Figure 2.** Charts displaying comparison of DJ-1 (A), L1CAM (B), HE4 (C) and CA125 (D) levels at the times of remission and recurrence. Scatter charts (left) display marker levels at the time of diagnosis (gray) and from the collections during follow-ups (first collection, green; second collection, blue). Large spots mean samples at the time of recurrence. Box plots (right) demonstrate marker levels at the times of remission and recurrence, respectively.

3.3. DJ1, L1CAM, CA125 and HE4 Serum Levels in Correlation with Patient-Related Characteristics

The correlation of DJ-1, L1CAM, CA125 and HE4 serum levels with age, weight, renal function and menopausal status are shown in Table 5. Median DJ1 serum levels were not affected by any of the observed patient-related characteristics. In contrast, median L1CAM levels were significantly higher in patients with age ≥ 60 years ($p = 0.004$), overweight (BMI ≥ 27 kg/m², $p = 0.002$) and post-menopause ($p = 0.010$), respectively. None of the monitored patient-related parameters were related to either median CA125 or HE4 serum levels.

Table 5. DJ1, L1CAM, HE4 and CA125 preoperative serum levels according to age, weight, renal function and menopausal status.

		Valid <i>n</i>	Median (IQR)	<i>p</i> Value
DJ1 (ng/mL)	Age	<60 years	20	53.4 (31.4–103)
		≥60 years	44	88 (43–151.8)
	Weight	BMI < 27 kg/m ²	18	52.9 (25.5–121.9)
		BMI ≥ 27 kg/m ²	48	86.2 (44.4–141.7)
	Renal function	CKD-EPI ≥ 1 mL/s	56	83.4 (40.6–139)
		CKD-EPI < 1 mL/s	7	74.1 (24.7–352)
	Menopausal status	Pre/perimenopausal	11	45.4 (24.4–142.4)
		Postmenopausal	53	84.9 (41.4–135.5)
L1CAM (pg/mL)	Age	<60 years	20	1546.5 (1273.5–1872.5)
		≥60 years	44	2070 (1703.5–2447)
	Weight	BMI < 27 kg/m ²	16	1519.3 (1331.3–1804)
		BMI ≥ 27 kg/m ²	48	2028 (1676.8–2507)
	Renal function	CKD-EPI ≥ 1 mL/s	56	1889.5 (1503.5–2350.3)
		CKD-EPI < 1 mL/s	7	2247 (1878–3343.5)
	Menopausal status	Pre/perimenopausal	11	1528 (1173–1928)
		Postmenopausal	53	2000 (1565–2424.5)
HE4 (pmol/L)	Age	<60 years	15	65.7 (57.7–105)
		≥60 years	34	68.4 (53.1–98)
	Weight	BMI < 27 kg/m ²	13	65.7 (59.1–104.3)
		BMI ≥ 27 kg/m ²	36	68.7 (53.6–94)
	Renal function	CKD-EPI ≥ 1 mL/s	47	67.1 (53.1–98)
		CKD-EPI < 1 mL/s	1	161 (161–161)
	Menopausal status	Pre/perimenopausal	8	63.4 (58.9–90.6)
		Postmenopausal	41	68.6 (53.1–98)
CA125 (kU/L)	Age	<60 years	17	17.6 (9.5–24.9)
		≥60 years	43	15.8 (11.9–23.7)
	Weight	BMI < 27 kg/m ²	16	17.8 (13–24.8)
		BMI ≥ 27 kg/m ²	44	15.4 (11.2–23.8)
	Renal function	CKD-EPI ≥ 1 mL/s	54	17.3 (12.4–24.6)
		CKD-EPI < 1 mL/s	5	12.5 (9.9–15.8)
	Menopausal status	Pre/perimenopausal	9	17.6 (15.1–24.9)
		Postmenopausal	51	15.8 (10.8–23.8)

Abbreviations: *n* = number of patients, IQR = interquartile range, BMI = Body Mass Index, CKD-EPI = glomerular filtration rate calculated according to the chronic kidney disease epidemiology collaboration (CKD-EPI) equation.

3.4. DJ1, L1CAM, CA125 and HE4 Serum Levels in Correlation with Tumor Clinicopathological Characteristics

In our study, DJ1 and L1CAM serum levels did not correlate with stage, histological type or risk of recurrence. Serum HE4 levels were statistically significantly higher in tumors with myometrial invasion ≥50% ($p = 0.002$), with lymph node involvement ($p = 0.033$), distant metastases ($p = 0.021$) and high risk of recurrence based on definitive histopathological findings ($p = 0.02$). There were also statistically significant different CA125 serum levels depending on the degree of myometrial invasion (lower levels in patients with invasion <50%, $p = 0.009$) and lymph node involvement (higher in case of lymph node metastases, $p = 0.010$). The detailed correlation of marker levels with clinicopathological features are shown in Table 6.

Table 6. DJ1, L1CAM, HE4 and CA125 serum levels in correlation with both clinical and pathological features of endometrial cancer.

			Valid <i>n</i>	Median (IQR)	<i>p</i> Value
DJ1 (ng/mL)	Histological type	E G1-2	50	83.4 (41.4–151.5)	0.191
		E G3, non-E	14	69 (22.1–94.5)	
	Myometrial invasion	<50%	47	63.9 (35.4–135.5)	0.331
		≥50%	17	91.1 (51.9–151.5)	
	LN involvement	No	60	78 (38.4–145.2)	0.688
		Yes	4	73.2 (36.4–111.3)	
	Distant metastasis	No	62	83.4 (37.1–142.4)	0.714
		Yes	2	56.7 (53.1–60.3)	
	Definitive risk	Low ¹	34	57.8 (39.7–147.9)	0.941
		High ²	30	86.2 (37.1–128)	
L1CAM (pg/mL)	Histological type	E G1-2	50	1889.5 (1523.5–2418)	0.620
		E G3, non-E	14	2132.5 (1460–2345.5)	
	Myometrial invasion	<50%	47	1969 (1528–2355)	0.721
		≥50%	17	1680 (1515–2418)	
	LN involvement	No	60	1919 (1519.3–2389.8)	0.945
		Yes	4	2055.5 (1586.5–2381.8)	
	Distant metastasis	No	62	1919 (1523.5–2355)	0.772
		Yes	2	2200.5 (1515–2886)	
	Definitive risk	Low ¹	34	1948.5 (1580–2355)	0.687
		High ²	30	1837.75 (1469–2418)	
HE4 (pmol/mL)	Histological type	E G1-2	38	65 (51.4–98)	0.276
		E G3, non-E	11	76.2 (60.2–153.7)	
	Myometrial invasion	<50%	39	63.7 (51.4–79.2)	0.002
		≥50%	10	148.4 (68.6–255)	
	LN involvement	No	45	65.7 (53.1–89.6)	0.033
		Yes	4	148.4 (105.8–189.4)	
	Distant metastasis	No	47	67.1 (53.1–90)	0.021
		Yes	2	284.5 (255–314)	
	Definitive risk	Low ¹	28	61.9 (48.3–79.9)	0.020
		High ²	21	76.2 (61.1–153.7)	
CA125 (kU/L)	Histological type	E G1-2	47	15.8 (12.4–23.8)	0.837
		E G3, non-E	13	17.9 (10.8–24.7)	
	Myometrial invasion	<50%	45	14.9 (10.5–20)	0.009
		≥50%	15	23.8 (16.9–119)	
	LN involvement	No	56	15.8 (10.7–23.6)	0.010
		Yes	4	192.4 (88.2–407.4)	
	Distant metastasis	No	58	16 (10.8–23.8)	0.104
		Yes	2	116.7 (23.4–210)	
	Definitive risk	Low ¹	32	15.3 (10.2–19.8)	0.135
		High ²	28	19 (12.2–41.4)	

Abbreviations: *n* = number of patients, IQR = interquartile range. ¹ Low definitive risk = endometrial carcinoma G1-2 AND myometrial invasion <50% AND LVSI negative (i.e., adjuvant treatment not recommended) ² High definitive risk = criteria for low risk not met (i.e., adjuvant treatment recommended).

4. Discussion

Circulating tumor marker serum level determinations provide interpretable results that can significantly help to monitor treatment efficacy or early detection of recurrence in a broad array of solid tumors [26]. In EC patients, clear evidence of clinical benefit from circulating marker assessment has still been lacking and therefore, none of the circulating markers have become an integral part of EC patient management in clinical practice [23,27,28]. Studies that have been published so far have failed to demonstrate a higher proportion of recurrences diagnosed in asymptomatic patients, even when extensive FU was used consisting of not only gynecological examination, but also of serial CA125 measurements and examinations by imaging methods. The proportion of symptomatic recurrence remains 41–83% [29]. In general, there is still no consensus about FU regimens of EC patients after successful primary treatment [23,27,28]. Undoubtedly, the identification of a circulating marker detecting EC recurrence before the onset of symptoms, when lower tumor burden enables using a wider spectrum of therapeutic options, would have a significant impact on EC patient management.

In this pilot study, we aimed to evaluate the significance of the new circulating markers DJ1 and L1CAM in correlation with markers CA125 and HE4 in EC patients. We demonstrated that DJ1 and L1CAM serum levels were significantly higher at the time of EC diagnosis than levels collected after the initial treatment in disease-free patients ($p < 0.001$ for both markers, Figure 1A,B). Therefore, the dynamics of serial DJ1 and L1CAM serum levels correlate with disease status. The essential condition thus has been met for the use of DJ1 and L1CAM in monitoring of anticancer treatment efficacy. In concordance with previously published studies, we showed that CA125 and HE4 serum levels generally decreased after initial treatment as well ($p < 0.001$ for differences between levels collected preoperatively and during follow-up; Figure 1C,D) [12,13,30,31].

Despite the generally favorable prognosis of EC, 13–17% patients will develop recurrence, in most cases within three years after initial treatment [32]. While three-year survival following vaginal recurrence is ~73%, in case of pelvic or distant recurrence, it drops to less than 15% [33]. Moreover, patients with symptomatic recurrence survive for a significantly shorter time compared to patients whose recurrence is diagnosed in asymptomatic status [34]. In our study, a total of 5 patients (8%) developed recurrence after the median follow-up of 29.5 months. Three patients developed distant metastases despite initial stage FIGO I or II (Table 3). DJ1, CA125 and HE4 levels increased significantly at the time of recurrence ($p = 0.035$ for DJ1 and $p < 0.001$ for CA125 and HE4, respectively) (see Table 4 and Figure 2A,C,D). L1CAM serum levels at the time of recurrence increased as well, but statistical significance was not achieved ($p = 0.353$, Figure 2B and Table 4). The probable explanation for this fact could be a small number of patients with recurrent disease in our cohort. Furthermore, Tangen et al. demonstrated a correlation of L1CAM serum levels, with L1CAM tumor overexpression assessed immunohistochemically [20]. Similarly, Fogel et al. showed elevated L1CAM serum levels in patients with L1CAM-positive EC in contrast to significantly lower levels in both healthy controls and patients with L1CAM-negative tumors [17]. In our study, there were only 10 patients with L1CAM-immunohistochemically positive tumors, and just one of them developed recurrent disease (unpublished data). Our results on CA125 and HE4 serum levels correlate with previously published studies providing evidence for the significance of serial monitoring of CA125 and HE4 serum levels for the detection of EC recurrence [12,13,35].

Undoubtedly, the identification of patient-related factors associated with health status that could affect marker serum levels is crucial for the use of circulating markers in clinical practice. In our study, DJ1 serum levels were affected only by the status of the disease (i.e., whether the samples were taken at the time of EC diagnosis, after treatment or at the time of recurrence). On the contrary, L1CAM serum levels also depended on age, weight and menopausal status (Table 5). Any association of CA125 or HE4 serum levels with any of the monitored parameters (Table 5) was not observed. The possible explanation of an inconsistency between our results and the previously described dependence of HE4 serum levels on renal function [36,37] might be a composition of the study cohort. Only

one patient in a cohort assessable for HE4 had renal insufficiency, whereas the number of patients evaluable for L1CAM, DJ1 and CA125 having renal insufficiency was higher (see Table 5).

With respect to the comparison of DJ1 and L1CAM serum levels in relation to histological type, lymph node involvement, presence of distant metastases or risk of recurrence at the time of diagnosis, we did not demonstrate any statistically significant correlation (Table 6). Regarding DJ1, our data were consistent with the results of a study by Benati et al. Although this study observed higher DJ1 levels in EC patients ($n = 45$) compared to healthy controls ($n = 29$, $p < 0.0001$), the differences in serum levels between patients with an early stage (FIGO I, II; $n = 38$) or advanced disease (FIGO III, IV; $n = 7$) failed to reach statistical significance ($p = 0.86$) [16]. We did not confirm results of the study published by Di Cello et al. that demonstrated significantly higher DJ1 levels ($p \leq 0.05$) in patients with a high-risk histological type (endometrioid carcinoma grade 3 or non-endometrioid carcinoma) than in patients with a low-risk histotype (endometrioid carcinoma grade 1 or 2) [15]. This discrepancy could be explained by the fact that the proportion of patients in our study with high-risk histotype was too small to reach statistical significance ($n = 14$; 22%) (see Table 6).

With respect to the correlation of L1CAM serum levels with tumor clinicopathological features, two studies have been published with conflicting results. Our results are consistent with the previous study published by Wojciechowski et al. ($n = 35$). Although the authors observed different L1CAM serum levels in EC patients compared to individuals with benign gynecological conditions, they were unable to demonstrate correlation among L1CAM serum levels and stage, histological type or tumor grading [19]. On the contrary, we did not confirm the correlation of L1CAM serum levels with the lymph node involvement demonstrated by Tangen et al. ($n = 372$; $p = 0.048$) [20]. L1CAM serum levels apparently depend on many patient-related variables, as we show in Table 5. In addition, the relation between L1CAM serum levels and L1CAM percentage tumor positivity (if any) has not been clearly defined yet [17]. Correlations of CA125 and HE4 serum levels with known prognostic factors in EC patients shown in our study (Table 6) are consistent with previously published data [10,12,13,38].

Preoperative knowledge of marker serum levels is only one part of the clinical complexity determining the risk of recurrence in EC patients [39]. Recently, the integrated genomic analyses performed by The Cancer Genome Atlas Research network (TCGA) proposed dividing EC into four groups with different clinical behaviors and prognoses [40–42]. This novel, molecular-based classification dramatically changed risk stratification and clinical management of EC patients [43–45]. Moreover, there are other promising methods that might be able to predict the behavior and pathological characteristics of EC such as metabolomics [46,47]. In this context, analyses of larger cohorts of patients taking into consideration other factors affecting EC prognosis such as the presence of POLE and p53 mutation, mismatch repair (MMR) status, the levels of L1CAM and estrogen/progesterone receptors' positivity in the tumor, etc., need to be done for more specific assessment of the significance of circulating marker serum levels.

The strengths of this study include the fact that this is a cohort of fully staged EC patients from a real clinical practice with prospective data collection. To our best knowledge, this study is the first to analyze the dynamic changes of serial DJ1 and L1CAM serum levels in EC patients. In the case of DJ1, these are the first data supporting its potential role as a serum marker for the detection of recurrence in EC patients during the follow-up period after successful primary treatment. To date, none of the published studies on DJ1 and L1CAM serum levels have addressed this issue. A limitation of our study was that this was a relatively small cohort of EC patients with a shorter follow-up period and therefore a low recurrence rate, as it was a pilot study aimed at finding a reasonable preliminary evidence for future research on DJ1 and L1CAM as serum circulation tumor biomarkers in EC patients.

5. Conclusions

We demonstrated that DJ1 and L1CAM serum levels correlated with disease status in EC patients; they may therefore be potentially useful in clinical practice for monitoring the effects of treatment. Unlike the L1CAM marker, DJ1 serum levels were not affected by other factors associated with the health status of patients such as age or BMI. Further studies with longer follow-ups will be needed to definitively assess the benefit from monitoring of DJ1, L1CAM, CA125 and HE4 serum levels for the diagnosis of asymptomatic EC recurrence. At the time of EC diagnosis and in contrast to CA125 and HE4, DJ1 and L1CAM serum levels did not correlate with disease stage, histological type or risk of disease recurrence, leaving us unable to assess their prognostic significance in patients with endometrial cancer based on the limited pilot study cohort.

Author Contributions: Conceptualization, M.B., V.W. and D.V.; methodology, Z.C., J.G. and J.H.; data curation P.V. and J.G.; statistical analyses, P.O.; writing—original draft preparation, M.B.; writing—review and editing, D.V., V.W.; visualization, M.B.; supervision, V.W.; funding acquisition, L.M., M.F. and V.W. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic, grant number NU21-09-00031, and the Development of Research Organization (FNBr, 65269705).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of University Hospital Brno, Approval Number 01-070218/EK.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Acknowledgments: The authors would like to thank Irena Mozna (Department of Gynecology and Obstetrics, University Hospital Brno) and Silvie Renardova (Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno) for their assistance with organization and collection of EC patients' blood samples. Special thanks to Michal Bohm, (Stracathro Hospital, NHS Scotland) for the language proofreading of the manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Bidart, J.-M.; Thuillier, F.; Augereau, C.; Chalas, J.; Daver, A.; Jacob, N.; Labrousse, F.; Voitot, H. Kinetics of Serum Tumor Marker Concentrations and Usefulness in Clinical Monitoring. *Clin. Chem.* **1999**, *45*, 1695–1707. [\[CrossRef\]](#)
2. Ayhan, A.; Reed, N.; Gultekin, M.; Dursun, P. (Eds.) *Textbook of Gynaecological Oncology*; Günes Publishing: Ankara, Turkey, 2017; ISBN 978-975-277-682-1.
3. Bast, J.R.; Xu, F.-J.; Yu, Y.-H.; Barnhill, S.; Zhang, Z.; Mills, G. CA 125: The past and the Future. *Int. J. Biol. Mark.* **1998**, *13*, 179–187. [\[CrossRef\]](#)
4. Sood, A.K.; Buller, R.E.; Burger, R.A.; Dawson, J.D.; Sorosky, J.I.; Berman, M. Value of Preoperative CA 125 Level in the Management of Uterine Cancer and Prediction of Clinical Outcome. *Obstet. Gynecol.* **1997**, *90*, 441–447. [\[CrossRef\]](#)
5. Reijnen, C.; Visser, N.C.; Kasius, J.C.; Boll, D.; Geomini, P.M.; Ngo, H.; Van Hamont, D.; Pijlman, B.M.; Vos, M.C.; Bulten, J.; et al. Improved preoperative risk stratification with CA-125 in low-grade endometrial cancer: A multicenter prospective cohort study. *J. Gynecol. Oncol.* **2019**, *30*, e70. [\[CrossRef\]](#)
6. Fischerova, D. Ultrasound scanning of the pelvis and abdomen for staging of gynecological tumors: A review. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2011**, *38*, 246–266. [\[CrossRef\]](#)
7. Kalogera, E.; Scholler, N.; Powless, C.; Weaver, A.; Drapkin, R.; Li, J.; Jiang, S.-W.; Podratz, K.; Urban, N.; Dowdy, S.C. Correlation of serum HE4 with tumor size and myometrial invasion in endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.* **2012**, *124*, 270–275. [\[CrossRef\]](#)
8. Moore, R.G.; Brown, A.K.; Miller, M.C.; Badgwell, D.; Lu, Z.; Allard, W.J.; Granai, C.; Bast, R.; Lu, K. Utility of a novel serum tumor biomarker HE4 in patients with endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Gynecol. Oncol.* **2008**, *110*, 196–201. [\[CrossRef\]](#)
9. Lo, S.; Cheng, D.; Ng, T.; Wong, L.; Ngan, H. Prognostic Significance of Tumour Markers in Endometrial Cancer. *Tumor Biol.* **1997**, *18*, 241–249. [\[CrossRef\]](#)
10. Bignotti, E.; Ragnoli, M.; Zanotti, L.; Calza, S.; Falchetti, M.L.; Lonardi, S.; Bergamelli, S.; Bandiera, E.; Tassi, R.A.; Romani, C.; et al. Diagnostic and prognostic impact of serum HE4 detection in endometrial carcinoma patients. *Br. J. Cancer* **2011**, *104*, 1418–1425. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

11. Zanolotti, L.; Bignotti, E.; Calza, S.; Bandiera, E.; Ruggeri, G.; Galli, C.; Tognon, G.; Ragnoli, M.; Romani, C.; Tassi, R.A.; et al. Human epididymis protein 4 as a serum marker for diagnosis of endometrial carcinoma and prediction of clinical outcome. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2012**, *50*, 2189–2198. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Brennan, D.J.; Hackethal, A.; Mann, K.P.; Mutz-Dehbalaie, I.; Fiegl, H.; Marth, C.; Obermair, A. Serum HE4 detects recurrent endometrial cancer in patients undergoing routine clinical surveillance. *BMC Cancer* **2015**, *15*, 33. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Abbink, K.; Zusterzeel, P.L.; Geurts-Moespot, A.J.; van Herwaarden, A.E.; Pijnenborg, J.M.; Sweep, F.; Massuger, L.F. HE4 is superior to CA125 in the detection of recurrent disease in high-risk endometrial cancer patients. *Tumor Biol.* **2018**, *40*, 101042831875710. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Morelli, M.; Scumaci, D.; Di Cello, A.; Venturella, R.; Donato, G.; Faniello, M.C.; Quaresima, B.; Cuda, G.; Zullo, F.; Costanzo, F.S. DJ-1 in Endometrial Cancer: A Possible Biomarker to Improve Differential Diagnosis Between Subtypes. *Int. J. Gynecol. Cancer* **2014**, *24*, 649–658. [\[CrossRef\]](#)
15. Di Cello, A.; Di Sanzo, M.; Perrone, F.M.; Santamaria, G.; Rania, E.; Angotti, E.; Venturella, R.; Mancuso, S.; Zullo, F.; Cuda, G.; et al. DJ-1 is a reliable serum biomarker for discriminating high-risk endometrial cancer. *Tumor Biol.* **2017**, *39*, 101042831770574. [\[CrossRef\]](#)
16. Benati, M.; Montagnana, M.; Danese, E.; Paviati, E.; Giudici, S.; Ruzzenente, O.; Franchi, M.; Lippi, G. The clinical significance of DJ-1 and HE4 in patients with endometrial cancer. *J. Clin. Lab. Anal.* **2018**, *32*, e22223. [\[CrossRef\]](#)
17. Fogel, M.; Gutwein, P.; Mechttersheimer, S.; Riedle, S.; Stoek, A.; Smirnov, A.; Edler, L.; Ben-Arie, A.; Huszar, M.; Altevogt, P. L1 expression as a predictor of progression and survival in patients with uterine and ovarian carcinomas. *Lancet* **2003**, *362*, 869–875. [\[CrossRef\]](#)
18. Van Gool, I.C.; Stelloo, E.; Nout, R.A.; Nijman, H.W.; Edmondson, R.; Church, D.N.; Mackay, H.J.; Leary, A.; Powell, M.E.; Mileskin, L.; et al. Prognostic significance of L1CAM expression and its association with mutant p53 expression in high-risk endometrial cancer. *Mod. Pathol.* **2016**, *29*, 174–181. [\[CrossRef\]](#)
19. Wojciechowski, M.; Glowacka, E.; Wilczyński, M.; Pekala-Wojciechowska, A.; Malinowski, A. The sL1CAM in sera of patients with endometrial and ovarian cancers. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2016**, *295*, 225–232. [\[CrossRef\]](#)
20. Tangen, I.L.; Kopperud, R.K.; Visser, N.C.; Staff, A.C.; Tingulstad, S.; Marcickiewicz, J.; Amant, F.; Bjørge, L.; Pijnenborg, J.M.; Salvesen, H.B.; et al. Expression of L1CAM in curettage or high L1CAM level in preoperative blood samples predicts lymph node metastases and poor outcome in endometrial cancer patients. *Br. J. Cancer* **2017**, *117*, 840–847. [\[CrossRef\]](#)
21. Frühauf, F.; Dvořák, M.; Haaková, L.; Hašík, L.; Herboltová, P.; Chaloupková, B.; Kožnarová, J.; Kubešová, B.; Lukáčová, I.; Marek, R.; et al. Ultrasound staging of endometrial cancer—Recommended methodology of examination. *Ceska Gynekol.* **2014**, *79*, 466–476.
22. Sobin, L.H.; Gospodarowicz, M.K.; Wittekind, C. *TNM Classification of Malignant Tumours*; Wiley: Somerset, UK, 2011; ISBN 978-1-4443-5896-4.
23. Colombo, N.; Creutzberg, C.; Amant, F.; Bosse, T.; González-Martín, A.; Ledermann, J.; Marth, C.; Nout, R.; Querleu, D.; Mirza, M.R.; et al. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial cancer: Diagnosis, treatment and follow-up. *Radiother. Oncol.* **2015**, *117*, 559–581. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Kurman, R.J.; International Agency for Research on Cancer; World Health Organization. (Eds.) *WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs*, 4th ed.; World Health Organization classification of tumours; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France, 2014; ISBN 978-92-832-2435-8.
25. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and corpus uteri. *Int. J. Gynecol. Obstet.* **2014**, *125*, 97–98. [\[CrossRef\]](#)
26. Diamandis, E.P. *Tumor Markers: Physiology, Pathobiology, Technology and Clinical Application*; AACC Press: Washington, WA, USA, 2002.
27. Burke, W.M.; Orr, J.; Leitao, M.; Salom, E.; Gehrig, P.; Olawaiye, A.B.; Brewer, M.; Boruta, D.; Villella, J.; Herzog, T.; et al. Endometrial cancer: A review and current management strategies: Part I. *Gynecol. Oncol.* **2014**, *134*, 385–392. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. Burke, W.M.; Orr, J.; Leitao, M.; Salom, E.; Gehrig, P.; Olawaiye, A.B.; Brewer, M.; Boruta, D.; Herzog, T.J.; Abu Shahin, F. Endometrial cancer: A review and current management strategies: Part II. *Gynecol. Oncol.* **2014**, *134*, 393–402. [\[CrossRef\]](#)
29. Salani, R.; Backes, F.J.; Fung, M.F.K.; Holschneider, C.H.; Parker, L.P.; Bristow, R.E.; Goff, B.A. Posttreatment surveillance and diagnosis of recurrence in women with gynecologic malignancies: Society of Gynecologic Oncologists recommendations. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2011**, *204*, 466–478. [\[CrossRef\]](#)
30. Patsner, B.; Orr, J.W.; Mann, W.J. Use of serum CA 125 measurement in posttreatment surveillance of early-stage endometrial carcinoma. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1990**, *162*, 427–429. [\[CrossRef\]](#)
31. Rose, P.G.; Sommers, R.M.; Reale, F.R.; Hunter, R.E.; Fournier, L.; Nelson, B.E. Serial serum CA 125 measurements for evaluation of recurrence in patients with endometrial carcinoma. *Obstet. Gynecol.* **1994**, *84*, 12–16.
32. Fung-Kee-Fung, M.; Dodge, J.; Elit, L.; Lukka, H.; Chambers, A.; Oliver, T. Follow-up after primary therapy for endometrial cancer: A systematic review. *Gynecol. Oncol.* **2006**, *101*, 520–529. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Creutzberg, C.L.; van Putten, W.L.; Koper, P.C.; Lybeert, M.L.; Jobsen, J.J.; Wárlám-Rodenhuis, C.C.; De Winter, K.A.; Lutgens, L.C.; Bergh, A.C.V.D.; van der Steen-Banasik, E.; et al. Survival after relapse in patients with endometrial cancer: Results from a randomized trial. *Gynecol. Oncol.* **2003**, *89*, 201–209. [\[CrossRef\]](#)

34. Smith, C.J.; Heeren, M.; Nicklin, J.L.; Perrin, L.; Land, R.; Crandon, A.J.; Obermair, A. Efficacy of routine follow-up in patients with recurrent uterine cancer. *Gynecol. Oncol.* **2007**, *107*, 124–129. [\[CrossRef\]](#)
35. Angioli, R.; Capriglione, S.; Scaletta, G.; Aloisi, A.; Miranda, A.; Nardone, C.D.C.; Terranova, C.; Plotti, F. The role of HE4 in endometrial cancer recurrence: How to choose the optimal follow-up program. *Tumor Biol.* **2015**, *37*, 4973–4978. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Coppolino, G.; Bolignano, D.; Rivoli, L.; Mazza, G.; Presta, P.; Fuiano, G. Tumour Markers and Kidney Function: A Systematic Review. *BioMed Res. Int.* **2014**, *2014*, 1–9. [\[CrossRef\]](#)
37. Chovanec, J.; Selingerova, I.; Greplova, K.; Antonsen, S.L.; Nalezinska, M.; Høgdall, C.; Høgdall, E.; Søgaard-Andersen, E.; Jochumsen, K.; Fabian, P.; et al. Adjustment of serum HE4 to reduced glomerular filtration and its use in biomarker-based prediction of deep myometrial invasion in endometrial cancer. *Oncotarget* **2017**, *8*, 108213–108222. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Saarelainen, S.K.; Peltonen, N.; Lehtimäki, T.; Perheentupa, A.; Vuento, M.H.; Mäenpää, J.U. Predictive value of serum human epididymis protein 4 and cancer antigen 125 concentrations in endometrial carcinoma. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2013**, *209*, 142.e1–142.e6. [\[CrossRef\]](#)
39. Reijnen, C.; Gogou, E.; Visser, N.C.M.; Engerud, H.; Ramjith, J.; Van Der Putten, L.J.M.; Van De Vijver, K.; Santacana, M.; Bronsert, P.; Bulten, J.; et al. Preoperative risk stratification in endometrial cancer (ENDORISK) by a Bayesian network model: A development and validation study. *PLoS Med.* **2020**, *17*, e1003111. [\[CrossRef\]](#)
40. Kandoth, C.; Schultz, N.; Cherniack, A.D.; Akbani, R.; Liu, Y.; Shen, H.; Robertson, A.G.; Pashtan, I.; Shen, R.; Benz, C.C.; et al. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* **2013**, *497*, 67–73. [\[CrossRef\]](#)
41. Murali, R.; Delair, D.F.; Bean, S.M.; Abu-Rustum, N.R.; Soslow, R.A. Evolving Roles of Histologic Evaluation and Molecular/Genomic Profiling in the Management of Endometrial Cancer. *J. Natl. Compr. Cancer Netw.* **2018**, *16*, 201–209. [\[CrossRef\]](#)
42. Urlick, M.E.; Bell, D.W. Clinical actionability of molecular targets in endometrial cancer. *Nat. Rev. Cancer* **2019**, *19*, 510–521. [\[CrossRef\]](#)
43. Concin, N.; Matias-Guiu, X.; Vergote, I.; Cibula, D.; Mirza, M.R.; Marnitz, S.; Ledermann, J.; Bosse, T.; Chargari, C.; Fagotti, A.; et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int. J. Gynecol. Cancer* **2021**, *31*, 12–39. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Raffone, A.; Travaglino, A.; Gabrielli, O.; Micheli, M.; Zuccalà, V.; Bitonti, G.; Camastra, C.; Gargiulo, V.; Insabato, L.; Zullo, F. Clinical features of ProMisE groups identify different phenotypes of patients with endometrial cancer. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2021**, *303*, 1393–1400. [\[CrossRef\]](#)
45. Santoro, A.; Angelico, G.; Travaglino, A.; Inzani, F.; Arciuolo, D.; Valente, M.; D'Alessandris, N.; Scaglione, G.; Fiorentino, V.; Raffone, A.; et al. New Pathological and Clinical Insights in Endometrial Cancer in View of the Updated ESGO/ESTRO/ESP Guidelines. *Cancers* **2021**, *13*, 2623. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Troisi, J.; Raffone, A.; Travaglino, A.; Belli, G.; Belli, C.; Anand, S.; Giugliano, L.; Cavallo, P.; Scala, G.; Symes, S.; et al. Development and Validation of a Serum Metabolomic Signature for Endometrial Cancer Screening in Postmenopausal Women. *JAMA Netw. Open* **2020**, *3*, e2018327. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Raffone, A.; Troisi, J.; Boccia, D.; Travaglino, A.; Capuano, G.; Insabato, L.; Mollo, A.; Guida, M.; Zullo, F. Metabolomics in endometrial cancer diagnosis: A systematic review. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **2020**, *99*, 1135–1146. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

2.5 Molekulární klasifikace karcinomu endometria a predikce rizika recidivy v době diagnózy

Přes intenzivní snahu o zpřesnění predikce biologického chování karcinomu endometria prostřednictvím klinicko-patologických parametrů a jednotlivých prognostických markerů zůstávala stratifikace rizika recidivy před rokem 2020 zatížena významnou nepřesností. Zásadní průlom v této oblasti přinesly výsledky projektu The Cancer Genome Atlas Research Network (TCGA), publikované v roce 2013, které prokázaly, že karcinom endometria představuje molekulárně heterogenní skupinu nádorů rozdělitelnou do čtyř biologicky odlišných podtypů s významně rozdílnou prognózou. Zatímco skupina nádorů s ultramutovaným fenotypem spojeným s mutací genu *POLE* se vyznačuje mimořádně příznivou prognózou navzdory často high-grade morfologii, nádory s vysokým počtem kopiových změn a alterací genu *TP53* vykazují agresivní biologické chování a nejhorší prognózu. Prognóza skupiny pacientek s hypermutovanými nádory asociovanými s deficitem mismatch repair systému (MMRd), resp. s nízkým počtem kopiových změn je intermediární. Ukázalo se současně, že molekulární charakteristika nádoru má vyšší prognostický význam než samotný histologický typ nebo grading [45].

Přestože klasifikace TCGA znamenala zásadní posun v pochopení biologické podstaty karcinomu endometria, její využití v běžné klinické praxi bylo limitováno vysokou technickou i ekonomickou náročností komplexního genomového sekvenování (sekvenování nové generace, NGS). Pro běžnou klinickou praxi byl proto navržen algoritmus umožňující klasifikaci nádorů do čtyř prognostických skupin pomocí kombinace molekulárně-genetického vyšetření mutací genu *POLE* a analýzy zástupných markerů mikrosatelitové instability a vysokého počtu kopiových změn: imunohistochemického vyšetření mismatch repair systému (MMR) a proteinu p53. Deficit mismatch repair systému (MMRd) se stanovuje na základě průkazu ztráty exprese alespoň jednoho z proteinů MMR (MLH1, PMS2, MSH2 nebo MSH6). Podobně průkaz abnormální exprese proteinu p53, který představuje zástupný marker mutace genu *TP53*, slouží k identifikaci skupiny nádorů s vysokým počtem kopiových změn typicky asociovaných s alterací genu *TP53*. Nádory bez mutace *POLE*, bez deficitu MMR systému a bez abnormální exprese p53 jsou zařazovány do skupiny NSMP (bez specifického molekulárního profilu) [46–49].

Do evropských doporučení pro stratifikaci podle míry rizika recidivy byla molekulární klasifikace začleněna poprvé v roce 2020, což představovalo zásadní krok směrem k biologicky podmíněné individualizaci chirurgické i adjuvantní léčby pacientek s karcinomem endometria. Poprvé bylo doporučeno stanovování molekulárních prognostických markerů v běžné klinické praxi se zásadním vlivem na léčebný přístup. Samotný průkaz ztráty exprese p53 nebo mutace *TP53* zařadil pacientky bez ohledu na histologický typ a grading do skupiny s vysokým rizikem s indikací adjuvantní léčby chemoterapií i radioterapií. Naopak, průkaz hotspotových mutací genu *POLE* u pacientek v prvním i druhém klinickém stadiu znamenal zařazení do nízkého rizika bez nutnosti adjuvantní léčby (Tabulka 9, sloupec 3). Přes doporučení rutinního provádění molekulárního testování byla současně definována i kritéria stratifikace rizika pro případy, kdy molekulární klasifikace nebyla dostupná, tedy na základě klinicko-patologických parametrů (Tabulka 9, sloupec 2) [20].

Tabulka 9: Stratifikace rizika recidivy karcinomu endometria podle doporučení ESGO/ESTRO/ESP 2020 při známé a neznámé molekulární klasifikaci [20].

Riziko recidivy	Molekulární klasifikace neznámá	Molekulární klasifikace známá
Nízké	Stadium IA endometroidní + low-grade + LVSI negativní/fokálně	- Stadium I-II POLEmut, bez rezidua - Stadium IA dMMR/NSMP endometroidní + low-grade + LVSI negativní/fokálně
Střední	- Stadium IB endometroidní + low-grade + LVSI negativní/fokálně - Stadium IA endometroidní + high-grade + LVSI negativní/fokálně - Stadium IA non-endometroidní (serózní, clear cell, nediferencovaný, karcinosarkom, smíšený) bez invaze do myometria	- Stadium IB dMMR/NSMP endometroidní + low-grade + LVSI negativní/fokálně - Stadium IA dMMR/NSMP endometroidní + high-grade + LVSI negativní/fokálně - Stadium IA p53abn a/nebo non-endometroidní (serózní, clear cell, nediferencovaný, karcinosarkom, smíšený), bez invaze do myometria
Vyšší střední	- Stadium I endometroidní + LVSI podstatná, bez ohledu na grade a invazi do myometria - Stadium IB endometroidní + high-grade, bez ohledu na LVSI - Stadium II	- Stadium I dMMR/NSMP endometroidní + LVSI podstatná, bez ohledu na grade a invazi do myometria - Stadium IB dMMR/NSMP endometroidní + high-grade, bez ohledu na LVSI - Stadium II dMMR/NSMP endometroidní
Vysoké	- Stadium III-IVA, bez reziduální nemoci - Stadium I-IVA non-endometroidní (serózní, clear cell, nediferencovaný, karcinosarkom, smíšený) s invazí do myometria, bez rezidua	- Stadium III-IVA dMMR/NSMP endometroidní, bez rezidua - Stadium I-IVA p53abn s invazí do myometria, bez rezidua - Stadium I-IVA dMMR/NSMP serózní, karcinosarkom nebo nediferencovaný karcinom, s invazí do myometria, R0 resekce
Pokročilý nebo metastatický	- Stadium III-IVA s reziduálním onemocněním po operačním výkonu - Stadium IVB	- Stadium III-IVA s reziduálním onemocněním po operaci, jakýkoliv molekulární typ - Stadium IVB jakýkoliv molekulární typ

LVSI – lymfovaskulární invaze; NSMP – no specific molecular profile; POLEmut – mutace genu POLE; p53abn – abnormální exprese p53; MMRd – deficit mismatch repair systému.

2.5.1 Vlastní přínos k problematice

V návaznosti na publikaci evropských doporučení ESGO/ESTRO/ESP z roku 2020 jsme na našem pracovišti zahájili implementaci molekulárního testování karcinomu endometria do běžné klinické praxe. Po roce užívání jsme provedli vyhodnocení proveditelnosti rutinního stanovování molekulární klasifikace u pacientek s nově diagnostikovaným karcinomem endometria, zhodnotili její dopad na stratifikaci rizika recidivy a posoudili její vliv na organizaci diagnosticko-terapeutického procesu.

Na základě mezioborové spolupráce onkologů, gynekologů, patologů a molekulárních biologů byl vytvořen algoritmus molekulárního testování zahrnující imunohistochemické stanovení exprese proteinů mismatch repair systému (MMR) a p53 u všech nově diagnostikovaných pacientek. U pacientek nesplňujících kritéria nízkého

rizika a u tumorů s průkazem MMR deficitu nebo abnormální exprese p53 byla současně doplněna molekulárně genetická analýza mutačního stavu genu POLE. Výsledky molekulárního testování byly následně zohledněny při rozhodování multidisciplinární komise pro indikaci adjuvantní léčby.

Analýza prvních 85 pacientek ukázala, že zavedení molekulární klasifikace do rutinní klinické praxe je technicky i organizačně dobře realizovatelné a nevede k prodloužení doby potřebné pro rozhodnutí o další léčbě. Medián intervalu od operace do projednání případu multidisciplinární komisí činil 21 dní. MMR-deficientní tumory byly identifikovány u 26 % pacientek a p53-abnormální tumory u 9 % pacientek. Přestože v pilotním souboru nebyl identifikován žádný POLE-ultramutovaný tumor, molekulární klasifikace vedla ke změně zařazení do rizikových skupin oproti předchozím doporučením u části pacientek, a tím i k modifikaci terapeutického přístupu.

Významným přínosem bylo také potvrzení praktického významu plošného testování MMR systému pro identifikaci pacientek s hereditární predispozicí k nádorovým onemocněním. Na základě zachytu MMR-deficientních tumorů byla indikována genetická konzultace, přičemž u části vyšetřených pacientek byla následně potvrzena hereditární predispozice odpovídající Lynchovu syndromu.

Naše pilotní zkušenost ukázala, že racionálně indikované molekulární testování umožňuje implementaci moderní biologicky založené stratifikace rizika do reálné klinické praxe bez negativního dopadu na načasování léčby a představuje důležitý krok směrem k individualizaci péče o pacientky s karcinomem endometria.

Příloha 3: Molekulární testování karcinomu endometria – analýza prvních zkušeností z klinické praxe

BEDNAŘÍKOVÁ, Markéta *(corresponding author)*, J. HAUSNEROVÁ, L. MINÁŘ, R. TASLEROVÁ, P. VINKLEROVÁ, L. EHRLICOVÁ, J. TRIZULJAK, I. BLAHÁKOVÁ, D. PRINC, K. MATULOVÁ, P. OVESNÁ, O. SLABÝ and V. WEINBERGER. *Klinická Onkologie* [online]. 2023, 36(3), 215–223. ISSN 0862-495X. Available at: doi:10.48095/ccko2023215

Category: Oncology – SJR Q4

Typ příspěvku: původní práce.

Vlastní přínos autorky: koncept studie, koordinace klinické části, sběr klinických dat, interpretace výsledků a příprava rukopisu.

Publikace získala ocenění za nejlepší původní práci publikovanou v časopise Klinická onkologie v roce 2023.

Molekulární testování karcinomu endometria – analýza prvních zkušeností z klinické praxe

Molecular testing of endometrial carcinoma in real-world clinical practice

Bednaříková M.^{1,2}, Hausnerová J.³, Minář L.², Taslerová R.³, Vinklerová P.², Ehrlichová L.¹, Trizuljak J.^{1,4}, Blaháková I.⁴, Princ D.⁵, Matulová K.³, Ovesná P.⁶, Slabý O.^{3,4,7}, Weinberger V.²

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Gynekologická a porodnická klinika LF MU a FN Brno

³ Ústav patologie, LF MU a FN Brno

⁴ CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU Brno

⁵ Masarykův onkologický ústav, Brno

⁶ Institut biostatistiky a analýz, MU Brno

⁷ Ústav biologie, MU Brno

Souhrn

Východiska: Molekulární klasifikace přináší zásadní změny do diagnosticko-léčebného algoritmu u pacientek s karcinomem endometria (endometrial cancer – EC). Cílem sdělení je analýza prvních zkušeností se zavedením molekulárního testování do reálné klinické praxe.

Materiál a metody: Od května 2021 je ve FN Brno u všech pacientek s nově diagnostikovaným EC v rámci standardního histopatologického vyšetření stanovován také imunohistochemický status proteinů p53 a mismatch repair (MMR). U tumorů nesplňujících klinická kritéria pro nízké riziko a vždy při průkazu deficiencie MMR nebo mutace p53 je prováděno také molekulární genetické testování genu *POLE*. U každé pacientky je vyhodnoceno riziko recidivy podle nejnovějších guidelines z roku 2020 a na jeho základě doporučen další postup. Všem pacientkám s MMR-deficientními tumory a/nebo pozitivní rodinnou anamnézou je doporučena také genetická konzultace. **Výsledky:** Do analýzy bylo od května 2021 do května 2022 zařazeno celkem 85 pacientek s mediánem věku 66 let. MMR-deficientní tumory mělo 22 pacientek (26 %) a p53-mutované tumory 8 pacientek (9 %). U žádné ze 40 pacientek v nízkém riziku s provedenou analýzou mutačního stavu genu *POLE* nebyl prokázán ultramutovaný typ tumoru. Celkem 46 (51 %) pacientek mělo v době diagnózy nízké riziko, 2 pacientky (2 %) střední, 14 pacientek (16 %) vyšší střední a 20 pacientek (24 %) vysoké riziko recidivy. Celkem 6 pacientek (7 %) bylo diagnostikováno s pokročilým nebo metastatickým onemocněním. Medián doby od operace po projednání na multidisciplinární komisi byl 21 dní (8–36). Celkem 76 pacientek (90 %) absolvovalo léčbu v plném rozsahu v souladu s rizikem recidivy. Z 18 pacientek s dostupnými výsledky genetického vyšetření byla u 4 (22 %) prokázána hereditární forma onemocnění. **Závěr:** Racionálně indikované molekulární testování kombinující imunohistochemické analýzy proteinů MMR i p53 u všech pacientek s EC a sekvenční analýzu genu *POLE* u pacientek v nízkém riziku recidivy je v běžné praxi proveditelné a neprodlužuje dobu nutnou pro rozhodnutí o adjuvantní léčbě.

Klíčová slova

karcinom endometria – molekulární testování – p53 – mismatch repair systém – POLE

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Markéta Bednaříková

Interní hematologická

a onkologická klinika

LF MU a FN Brno

Jihlavská 20

625 00 Brno

e-mail:

bednarikova.marketa@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 29. 1. 2023

Přijato/Accepted: 7. 2. 2023

doi: 10.48095/ccko2023215

Summary

Background: Molecular classification has brought significant changes in the management of endometrial cancer (EC). In this article, we aim to analyze our first experience with an implementation of molecular testing into daily clinical practice. **Materials and methods:** In all newly diagnosed EC, the status of mismatch repair (MMR) and *p53* proteins has been evaluated immunohistochemically as a part of the routine histopathological examination since May 2021. In tumors that do not meet clinical criteria for a low risk and those with MMR deficiency or *p53* mutation, the molecular genetic testing of the *POLE* gene is performed as well. Recommendations for adjuvant treatment or follow-up are subsequently made based on the risk of recurrence. Genetic counselling is proposed to all patients with MMR-deficient tumors or family history of cancer. **Results:** A total of 85 patients with newly diagnosed EC between May 2021 and May 2022 were enrolled in the analysis. The median age was 66 years. The results of molecular testing were as follows: 22 (26%) MMR-deficient, 8 (9%) *p53*-mutated and none *POLE*-ultramutated of those 40 tumors with performed *POLE* sequencing. A total of 46 (51%) patient had a low risk, 2 (2%) intermediate, 14 (16%) high-intermediate and 20 (24%) patients had a high risk of recurrence. Advanced or metastatic diseases were diagnosed in 6 (7%) patients. The median time between surgery and multidisciplinary tumor board decision was 21 days (8–36). A total of 76 (90%) patients underwent the whole treatment plan according to the recurrence risk. At the time of analysis, the results of genetic testing were available in 18 patients and revealed 4 (22%) carriers of a pathogenic variant in any of the genes associated with Lynch syndrome. **Conclusion:** Molecular testing combining immunohistochemical analyses of MMR and *p53* proteins in all newly diagnosed EC patients with sequencing analysis of *POLE* in those with non-low-risk disease is feasible and does not prolong the time needed for treatment decision.

Key words

endometrial cancer – molecular testing – *p53* – mismatch-repair system – *POLE*

Úvod

Adenokarcinomy endometria (EC) představují výrazně heterogenní skupinu nádorů s často velmi odlišným biologickým chováním (tab. 1). Zásadní léčebnou modalitou je chirurgický výkon mající význam nejen kurativní, ale také stagingový. Zatímco u pacientek s nízkým rizikem recidivy je samotná operace považována za dostačující výkon, u pacientek nesplňujících kritéria pro nízké riziko je následně indikována adjuvantní léčba ať již ve formě radioterapie, chemoterapie, nebo kombinace obou metod, a to v návaznosti na míru

rizika recidivy onemocnění [1]. Mezi základní prognostické parametry definující riziko rekurence patřily až do zavedení nové molekulární klasifikace stadium onemocnění v době diagnózy (tab. 2), histologický typ a přítomnost, nebo absence nádorové lymfangioidní vazby (lymphovascular space invasion – LVSI) (tab. 3) [2].

Molekulární klasifikace EC byla navržena v roce 2013 na základě výsledků

komplexních genomických, transkriptomických a proteomických analýz a rozděluje karcinom endometria do čtyř skupin: 1) ultramutované tumory s patogenní variantou genu *POLE*; 2) hypermutované mikrosatelitově instabilní tumory; 3) copy-number high tumory většinou s přítomnou patogenní variantou genu *TP53*; 4) ostatní tumory, tzv. copy-number low. Kromě molekulárně biologických charakteristik se jed-

Tab. 1. Histologické typy adenokarcinomu endometria, zjednodušené dělení podle [15].

Histologický typ	Četnost (%)
Endometroidní adenokarcinom	80
Serózní karcinom	< 10
Clear cell karcinom	< 10
Nediferencovaný/dediferencovaný karcinom	2
Ostatní (vzácné): smíšený karcinom, mezonefrický adenokarcinom, skvamózní karcinom, mucinózní karcinom (intestinální typ), mesonephric-like adenokarcinom, karcinosarkom	

Tab. 2. TNM a FIGO klasifikace karcinomů endometria [16].

TNM	FIGO	Charakteristika
T1	I	nádor omezen na tělo dělohy
T1a	IA	nádor omezen na endometrium nebo postihuje méně než polovinu myometria
T1b	IB	nádor postihuje polovinu či více myometria
T2	II	nádor postihuje cervikální stroma, nešíří se však mimo dělohu
T3a, N1	III	lokální a/nebo regionální šíření specifikované níže:
T3a	IIIA	nádor postihuje serózu těla děložního nebo adnexa
T3b	IIIB	postižení pochvy nebo parametří
N1	IIIC	metastázy do pánevních nebo paraaortálních mizních uzlin
	IIIC1	metastázy do pánevních mizních uzlin
	IIIC2	metastázy do paraaortálních mizních uzlin
T4	IVA	nádor postihuje sliznici močového měchýře / sliznici střeva
M1	IVB	vzdálené metastázy

FIGO – International Federation of Gynecology and Obstetrics, TNM – primární tumor, regionální lymfatické uzliny

Tab. 3. Charakteristiky prognostických skupin pacientek s karcinomem endometria podle doporučení z roku 2016 a 2020 [2,8].

Riziko	DOP_2016	DOP_2020	
		Molekulární klasifikace neznámá	Molekulární klasifikace známá
nízké	stadium IA endometroidní grade 1–2 LVSI negativní	stadium IA endometroidní low grade LVSI negat./fokálně	stadium I–II POLEmut bez reziduálního onemocnění
			stadium IA MMRd/NSMP endometroidní low grade LVSI negat./fokálně
střední	stadium IB endometroidní grade 1–2 LVSI negativní	stadium IB endometroidní low grade LVSI negat./fokálně	stadium IB MMRd/NSMP endometroidní low grade LVSI negat./fokálně
		stadium IA endometroidní high grade LVSI negat./fokálně	stadium IA MMRd/NSMP endometroidní high grade LVSI negat./fokálně
		stadium IA non-endometroidní bez invaze do myometria	stadium IA p53abn a/nebo non-endometroidní bez invaze do myometria
vyšší střední	stadium IA endometroidní grade 3 LVSI +/-	stadium I endometroidní LVSI-pozitivní	Stadium I MMRd/NSMP endometroidní LVSI pozitivní
	stadium IA/B endometroidní grade 1–2 LVSI pozitivní	stadium IB endometroidní high grade	stadium IB MMRd/NSMP endometroidní high grade
		stadium II	stadium II MMRd/NSMP endometroidní
vysoké	stadium IB endometroidní grade 3 LVSI +/-	stadium III–IVA operace s R0	stadium III–IVA MMRd/NSMP operace s R0
	non-endometroidní	stadium I–IVA non-endometroidní s invazí do myometria operace s R0	stadium I – IVA p53abn s invazí do myometria operace s R0
	stadium II		stadium I – IVA MMRd/NSMP serózní, nediferencovaný karcinom nebo karcinosarkom s invazí do myometria; operace s R0
	stadium III endometroidní operace s R0		
pokročilý	stadium III s reziduem	stadium III–IVA reziduální onemocnění	stadium III–IVA reziduální onemocnění jakýkoliv typ
	stadium IVA		
metastatický	stadium IVB	stadium IVB	stadium IVB jakýkoliv typ

DOP_2016 – doporučení pro diagnostiku a léčbu karcinomu endometria z roku 2016, DOP_2020 – doporučení pro diagnostiku a léčbu karcinomu endometria z roku 2020, LVSI – nádorová lymfangoinvaze, MMRd – mismatch repair-deficientní, NSMP – nespecifický molekulární profil, POLEmut – ultramutované tumory s mutací genu *POLE*, p53abn – p53-mutovaný, R0 – operace s nulovým reziduem

notlivé skupiny významně odlišují také svou biologickou povahou. Zatímco ultramutované nádory s patogenní variantou genu *POLE* mají vynikající prognózu, nádory patřící do skupiny copy-number high mají naopak prognózu nejhorší a skupiny hypermutovaných mikrosatelitně instabilních i copy-number low tumorů vykazují intermediární prognózu [3]. Vzhledem k finanční nákladnosti komplexního genomového profilování, relativně dlouhé době odezvy a stále ještě limitované dostupnosti v běžné klinické praxi byla následně navržena a na nezávislých souborech pacientek validována alternativní metodika molekulárního testování založená na molekulárně genetické sekvenční analýze genu *POLE* a imunohistochemickém stanovení exprese proteinů MMR (mismatch repair systému, tj. MLH1, MSH2, MSH6 a PMS2) a p53 [4–7].

Na základě robustních dat dokladujících prognostický význam molekulární klasifikace bylo v roce 2020 její stanovení inkorporováno do aktualizace evropských doporučení pro management pacientek s EC (DOP_2020). Tato doporučení definují kritéria pro zařazení pacientek do jednotlivých skupin podle míry rizika recidivy onemocnění jak v situaci, kdy molekulární klasifikace známa není, tak v situaci, kdy jsou výsledky molekulárního testování k dispozici (tab. 3) [8]. Oproti předchozím doporučením z roku 2016 (DOP_2016) přinesla DOP_2020 některé zásadní změny. Vedle modifikace klinických prognostických parametrů (např. přesunutí stadia II z vysokého do vyššího středního rizika) je to především fakt, že průkaz patogenní sekvenční varianty v genu *POLE* svědčící pro ultramutovaný typ tumoru nebo mutovaný stav genu *TP53* zásadním způsobem ovlivňují terapeutický přístup u pacientek s nově diagnostikovaným EC. Nejenom pacientky v klinickém stadiu IA, ale i pacientky ve stadiu IB a II s *POLE*-ultramutovanými tumory jsou bez ohledu na další parametry zařazeny do skupiny s nízkým rizikem bez nutnosti adjuvantní terapie. Naopak tumory s aberantní expresí p53 (resp. mutací *TP53*) a prokázanou invazí do myometria jsou i při diagnóze ve stadiu IA bez ohledu na histologický typ zařazeny do

skupiny s vysokým rizikem, kdy je standardně doporučena adjuvantní léčba (tab. 3) [8]. V roce 2021 bylo publikováno také společné národní doporučení čtyř odborných společností České lékařské společnosti J. E. Purkyně (ČLS JEP) detailně popisující metodiku molekulárního testování EC v podmínkách ČR [9].

Cílem předkládané práce je analýza prvních zkušeností s prospektivním stanovováním molekulárního testování u pacientek s nově diagnostikovaným EC a vyhodnocení přínosu zavedení molekulární klasifikace do reálné klinické praxe.

Materiál a metody

Od jara roku 2021 je molekulární testování EC ve FN Brno prováděno prospektivně v rámci standardního histopatologického vyšetření vždy, pokud je k dispozici dostatečně reprezentativní vzorek tumoru pro imunohistochemické a molekulárně genetické analýzy. Vyšetření jsou prováděna na vzorcích tumoru odebraných při operaci, fixovaných formaldehydem a zalitých v parafínu (formalin-fixed paraffin-embedded – FFPE). Pokud nebyl operační výkon proveden, jsou vyšetřeny v indikovaných případech doplněna ze vzorků získaných při diagnostickém výkonu.

Proteiny p53 a MMR jsou stanovovány imunohistochemicky (IHC) u všech pacientek s nově diagnostikovaným EC.

Metodika IHC analýzy p53

K imunohistochemické analýze byla použita komerčně dostupná protilátka p53 (klon D0-7, 1 : 200; Agilent, USA) a automatický systém Ventana BenchMark Ultra. Dle míry exprese proteinu je nález hodnocen jako wild type (fokálně slabá disperzní jaderná pozitivita) či mutovaný typ exprese (silná jaderná exprese ve více než 80 % nádorových buněk, nulová jaderná exprese či cytoplazmatická exprese).

Metodika IHC analýzy MMR

K imunohistochemické analýze byly použity komerčně dostupné protilátky MSH2 (klon BSB-147, 1 : 50; BioSB, USA), MLH1 (klon ES05, RTU; Agilent, USA), PMS2 (klon EP51, RTU; Agilent, USA), MSH6 (klon PU29, 1 : 70; Novocastra,

Leica Biosystems Newcastle Ltd, Anglie) a automatický systém Ventana BenchMark Ultra. Hodnocení a interpretace výsledků se řídí dle doporučení College of American Pathologists.

Metodika analýzy mutačního stavu genu *POLE*

Mutační stav genu *POLE* je vyšetřován u všech tumorů s výjimkou těch, které splňují kritéria pro zařazení do skupiny s nízkým rizikem recidivy, tj. low-grade endometroidní karcinomy s hloubkou invaze do méně než poloviny šířky myometria, bez podstatné LVSI (tab. 3). V případě průkazu MMRd a/nebo p53MUT je mutační stav genu *POLE* došetřen bez ohledu na klinické parametry, a to pro dořešení případných double či multiple classifiers.

Po identifikaci vhodného FFPE bloku k analýze a zhodnocení procentuálního zastoupení nádorových buněk erudovaným patologem je izolována genomová DNA s podílem nádorové DNA ≥ 50 %. Amplifikace a sekvenční analýza exonů 9–14 genu *POLE* (dle referenční sekvence NM_006231.4) se řídí aktuálními standardy vydávanými Společností českých patologů ČLS JEP a aktuální verzí National Comprehensive Cancer Network (NCCN) guidelines. Jednotlivé sekvence použitých primerů (Generi Biotech, Česká republika) jsou uvedeny v tab. 4. Nález je hodnocen jako negativní v případě, že nebyla detekována žádná z dosud popsanych patogenních sekvenčních variant genu *POLE* v exonech 9–14, nebo jako pozitivní v případě, že byla detekována některá z dosud popsanych patogenních sekvenčních variant genu *POLE* v exonech 9–14.

Stanovení molekulárního subtypu EC

Specifikace molekulárního subtypu EC je reportována u tumorů, které mají stanoveny všechny potřebné parametry, tj. status MMR, p53 a mutační stav genu *POLE*. V souladu s národním doporučením je používána terminologie [9]:

- 1) *POLE*-ultramutovaný typ tumoru – průkaz známých patogenních variant v exonu 9–14 genu *POLE*
- 2) MMR-deficientní typ – průkaz deficiencie MMR a současně *POLE*wt při jakémkoli statusu p53

- 3) p53-mutovaný typ – p53-aberantní fenotyp a současně MMR proficiencie i *POLE*^{wt}
- 4) s nespecifickým molekulárním profilem

Stratifikace pacientek podle míry rizika recidivy

Na základě stagingu, histologického typu, gradingu, stanovení LVSI a výsledků molekulárního testování je pacientka v rámci projednání dalšího postupu na Indikační onkogynologické komisi (IOGK) zařazena do příslušné rizikové skupiny podle DOP_2020 (tab. 3) [8]. Pokud bylo provedeno kompletní molekulární testování včetně analýzy genu *POLE*, je definitivní riziko stanoveno na základě DOP_2020 – Molekulární klasifikace známa. V situacích, kdy by případný průkaz patogenní varianty genu *POLE* neměnil léčebný postup, jako jsou tumory splňující kritéria pro nízké riziko, nebo naopak diseminované tumory v době diagnózy, je riziko stanoveno na základě klinických parametrů (tab. 3).

Kritéria pro indikaci genetické konzultace

Všem pacientkám s MMR-deficientními tumory a/nebo s pozitivní rodinnou anamnézou je v rámci projednání na IOGK doporučena také genetická konzultace k vyloučení hereditární formy onemocnění.

Soubor pacientek

Do analýzy byly zařazeny všechny pacientky Onkogynologického centra FN Brno s nově diagnostikovaným EC v období květen 2021 – květen 2022. Pro posouzení významu začlenění molekulárního testování do klinické praxe byly pacientky retrospektivně zařazeny do některé z prognostických skupin také podle předchozích doporučení DOP_2016 (tab. 3) a výsledky stratifikací podle jednotlivých doporučení byly porovnány [2].

Statistická analýza

K popisu charakteristik pacientek a tumorů byly použity absolutní a relativní četnost pro kategoriální proměnné a pro spojitý medián a mezikvartilové rozpětí. Vzhledem k tomu, že se jednalo

Tab. 4. Sekvence použitých primerů.

PRIMER	Sekvence
POLE-9F	GAGCTTGGCTTTATGCTTATTTTG
POLE-9R	GGCAGATGCTGCTGTAGTATG
POLE-10F	TCTCTAGGCAGAGTGTGTGG
POLE-10R	ACATGTCCGTTCTTCCAC
POLE-11F	CTTTGGGAGAGGAATTGGGAATAG
POLE-11R	CAGGAGCCACCTCCTAAGTC
POLE-12F	GGGCATTAGAGCCTGACC
POLE-12R	GTGACAGCACAGTCTGCAAG
POLE-13F1	TGCCTGTTAGGAACCTGCATC
POLE-13R1	ATGCTCTCCGGGTCTAGC
POLE-13F2	ACAGTTACCTTCTGTGGGC
POLE-13R2	TGTCCGGAGACACAGC
POLE-14F	GTGCTTCACACTTGACCCTG
POLE-14R	TGCCGACAGGACAGATAATG

o deskriptivní studii, nebylo provedeno žádné statistické testování.

Výsledky

Do analýzy bylo zařazeno celkem 85 pacientek s mediánem věku 66 let, z toho 58 (68 %) v klinickém stadiu I, 7 (8 %) ve stadiu II, 16 (19 %) ve stadiu III a 4 (5 %) ve stadiu IV. Celkem 67 (79 %) pacientek mělo low-grade endometroidní karcinom, 13 (15 %) high-grade endometroidní karcinom a 5 (6 %) non-endometroidní karcinomy (tab. 5). I přes implementaci molekulárního testování byl medián doby od operace po projednání na IOGK 21 dní (8–36).

Výsledky molekulárního testování byly následující: celkem 22 pacientek (26 %) mělo MMR-deficientní tumory a 8 pacientek (9 %) p53-mutované tumory. U žádné ze 40 pacientek v nenízkém riziku s provedenou analýzou mutačního stavu genu *POLE* nebyl prokázán ultramutovaný typ tumoru. U jedné pacientky nebyl vyšetřen status p53 a u dvou pacientek v nenízkém riziku nebyla provedena analýza genu *POLE* (tab. 6). V obou případech se jednalo o tumory diagnostikované v klinickém stadiu IVB, kdy doplnění molekulárních analýz by nevedlo ke změně terapeutického postupu. Z pohledu zařazení pa-

cientek do skupin dle míry rizika recidivy podle DOP_2020 bylo 46 pacientek (51 %) v nízkém riziku, 2 pacientky (2 %) ve středním, 14 pacientek (16 %) ve vyšším středním a 20 pacientek (24 %) ve vysokém riziku. Celkem 6 pacientek (7 %) bylo diagnostikováno s pokročilým nebo metastatickým onemocněním.

U 76 pacientek (90 %) byl léčebný postup stanoven i dokončen plně v souladu s DOP_2020 podle míry rizika recidivy onemocnění [8]. U jedné pacientky (1 %) musela být doporučena adjuvantní léčba ukončena předčasně z důvodu nepřiměřené toxicity chemoterapie. Pouze u 8 pacientek (9 %) byla výsledná léčebná doporučení modifikována z důvodu celkového stavu nebo vůle pacientky, kdy navzdory riziku recidivy nebyla doporučena adjuvantní chemoterapie nebo radioterapie aplikována.

Při porovnání rozdílů ve stratifikaci pacientek podle míry rizika recidivy na základě DOP_2020 a předchozích DOP_2016 jsou patrné rozdíly v počtech zařazených pacientek prakticky ve všech rizikových skupinách s výjimkou pacientek diagnostikovaných s pokročilým nebo metastatickým onemocněním, kde se kritéria pro zařazení v mezidobí nijak nezměnila (graf 1) [2,8]. K modifi-

Tab. 5. Klinické charakteristiky souboru.

Klinické charakteristiky	n = 85
věk, medián (IQR)	66 (58–72)
BMI, medián (IQR)	33 (29 – 35)
menopauzální stav, n (%)	
pre/perimenopauza	14 (16 %)
postmenopauza	71 (84 %)
parita, medián (IQR)	2,00 (1,00–2,00)
Klinické stadium, n (%)	
I	
IA	51 (60 %)
IB	7 (8,2 %)
II	7 (8,2 %)
III	
IIIA	4 (4,7 %)
IIIB	1 (1,2 %)
IIIC	11 (13 %)
IV	
IVA	0
IVB	4 (4,7 %)
Histologie, n (%)	
endometroidní LG	67 (79 %)
endometroidní HG	13 (15 %)
non-endometroidní	
serózní	2 (2,4 %)
clear-cell	1 (1,2 %)
karcinosarkom	2 (2,4 %)
Doba do IOGK, medián (IQR), dny	21,0 (19,0 –23,2)

BMI – body mass index, HG – high-grade, IOGK – indikační onkogynologická komise, IQR – medzikvartilové rozpětí, LG – low-grade, n – počet případů

kaci rizika oproti dříve užívanému doporučení došlo v našem pilotním souboru celkem u 11 (13 %) pacientek, z toho u 4 (36 %) na základě molekulárních charakteristik (konkrétně průkaz p53-mutovaného tumoru při absenci průkazu MMRd a nemutovaném stavu genu *POLE*) a u 7 (64 %) pacientek na základě změny v posuzování významnosti některého z klinických parametrů (tab. 7).

Genetická konzultace byla nabídnuta celkem 24 pacientkám z celého souboru – 22 pacientkám na základě průkazu MMR-deficientního tumoru a 2 pa-

cientkám s MMR-proficientními tumory pro rodinnou zátěž. V době analýzy byly známy výsledky genetického vyšetření u 18 pacientek, z nichž u 4 (22 %) bylo prokázáno nosičství patogenní varianty v některém z genů asociovaných s Lynchovým syndromem, u 8 (45 %) byl výsledek negativní a u 6 (33 %) pacientek byla detekována varianta nejasného klinického významu.

Diskuze

Aktualizace DOP_2020 obsahující implementaci molekulární klasifikace při-

Tab. 6. Výsledky molekulárního testování.

Výsledky testování	n = 85
POLE, n (%)	
MUT	0
WT	40 (100 %)
% nádorové tkáně, medián (IQR)	80 (50–90)
neprovedeno	45
MMR, n (%)	
MMRd	22 (26 %)
MMRp	63 (74 %)
p53, n (%)	
MUT	8 (9 %)
WT	76 (90 %)
neprovedeno	1

naší zásadní změny do managementu pacientek s nově diagnostikovaným karcinomem endometria [8]. Předkládaná analýza shrnuje pilotní zkušenosti s aplikací těchto doporučení do běžné klinické praxe ve FN Brno. V návaznosti na publikovaná národní doporučení pro molekulární testování u karcinomu endometria jsme se v rámci Mezioborové pracovní skupiny pro onkogynologii dohodli na algoritmu vyšetření a v průběhu jara 2021 bylo zahájeno molekulární testování jako nedílná součást rutinního histopatologického vyšetření. Námi zvolená metodika molekulárního testování reflektuje klinickou potřebu a vychází z úvahy, že vyšetření mutačního stavu genu *POLE* není nutné provádět paušálně, protože u pacientek s EC splňujících klinická kritéria pro nízké riziko recidivy nemění případná znalost o ultramutovaném typu tumoru klinický postup, kterým je doporučení dispenzarizace po operačním výkonu bez nutnosti adjuvantní léčby. Vyšetření stavu p53 a MMR indikujeme u všech pacientek s nově diagnostikovaným EC. Průkaz p53-mutovaného typu tumoru totiž automaticky zařazuje pacientku do skupiny s vysokým rizikem, kdy je standardně doporučována adjuvantní léčba ve snaze o redukci rizika recidivy onemocnění. Průkaz MMR-deficientního tu-

Tab. 7. Molekulární klasifikace karcinomu endometria – přehled publikovaných studií.

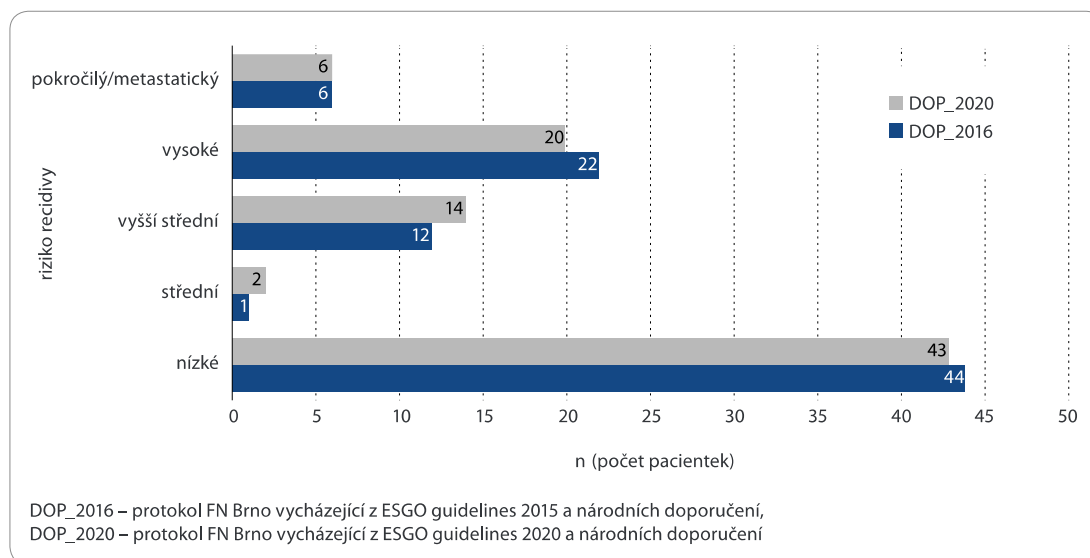
Charakteristiky	TCGA 2013 [3] n = 232	Talhounk 2015 [4] n = 143	Stelloo 2016 [6] n = 834	Talhounk 2017 [10] n = 319	Bosse 2018 [11] n = 376	Kommoss 2018 [7] n = 452	Devereaux 2022 [12] n = 310
typ studie	retrospektivní	retrospektivní	retrospektivní	retrospektivní	retrospektivní	retrospektivní	prospektivní
věk, medián	NA	63	68	67	66	65	64
stadium, n (%)							
I	254 (68 %)	102 (71 %)	834 (100 %)	221 (70 %)	291 (77 %)	365 (81 %)	177 (57 %)
II–IV	116 (32 %)	41 (29 %)		94 (30 %)	85 (23 %)	57 (19 %)	102 (33 %)
NA	3			4			31 (10 %)
histologie, n (%)							
EEC	304 (82 %)	119 (83 %)	834 (100 %)	215 (67 %)	376 (100 %)	320 (71 %)	220 (71 %)
non-EEC	66 (18 %)	25 (17 %)		104 (33 %)		132 (29 %)	90 (39 %)
grade, n (%)							
LG	193 (52 %)	90 (63 %)	724 (87 %)	123 (39 %)		357 (79 %)	185 (60 %)
HG	111 (30 %)	53 (37 %)	110 (13 %)	196 (61 %)	376 (100 %)	95 (21 %)	32 (10 %)
NA	66 (18 %)						93 (30 %)
POLE, n (%)							
MUT	17 (7 %)	12 (8 %)	49 (6 %)	30 (9 %)	49 (13 %)	42 (9 %)	15 (5 %)
WT	215 (93 %)	131 (92 %)	785 (94 %)	289 (91 %)	327 (87 %)	410 (91 %)	295 (95 %)
metodika	NGS	NGS/Sanger	Sanger	NGS/Sanger	NGS/Sanger	NGS/Sanger	SNaPshot
MMR, n (%)							
MMRd	65 (28 %)	41 (29 %)	219 (26 %)	64 (20 %)	138 (36 %)	127 (28 %)	59 (25 %)
MMRp	167 (72 %)	102 (71 %)	615 (74 %)	255 (80 %)	238 (64 %)	325 (72 %)	251 (75 %)
metodika	NGS/MSI	IHC	MSI	IHC	IHC	IHC	IHC
p53							
P53MUT	60 (26 %)	25 (18 %)	74 (9 %)	86 (27 %)	79 (21 %)	55 (12 %)	81 (26 %)
P53WT	172 (74 %)	118 (82 %)	760 (91 %)	233 (73 %)	297 (79 %)	397 (88 %)	229 (73 %)
metodika	NGS	IHC	IHC	IHC	IHC	IHC	IHC
NSMP/P53WT	90 (39 %)	63 (44 %)	492 (59 %)	139 (44 %)	228 (50 %)	228 (50 %)	135 (44 %)

EEC – endometroidní karcinom, HG – high-grade, IHC – imunohistochemie, LG – low-grade, MMR – mismatch-repair system, MMRd – MMR-deficientní, MSI – mikrosatelitní instabilita, MUT – mutovaný, n – počet, NA – nestanoveno, NGS – sekvenování nové generace, non-EEC – non-endometroidní karcinom, NSMP – s nespecifickým molekulárním profilem, Sanger – analýza metodou Sangerova sekvenování, SNaPshot – single nucleotide polymorphism analyses, WT – wild type

moru sice podle aktuálních doporučení neovlivňuje zařazení pacientky do některé z rizikových skupin, ale umožňuje identifikaci pacientek, u nichž je indikováno další došetření k vyloučení hereditární formy onemocnění. Při zohlednění počtu nových pacientek v našem centru a potřebě rychlého zavedení molekulárního testování jsme se dohodli, že v úvodní fázi budeme status p53 a MMR stanovovat v souladu s národním do-

poručením imunohistochemicky a mutační stav genu *POLE* metodou Sangerova sekvenování. Sekvenování nové generace využíváme v současnosti u pacientek s EC při vyčerpaných možnostech standardní systémové léčby podávané s paliativním záměrem, a to v rámci pátrání po eventuální targetovatelné lézi v situacích, kdy je pacientka stále kandidátkou aktivního terapeutického přístupu.

Jak dokladují naše první zkušenosti, námi zvolená metodika je v praxi proveditelná a nijak neprodlužuje dobu nutnou k projednání dalšího postupu v rámci primární léčby u pacientek s nově diagnostikovaným EC (medián doby od data diagnózy do projednání dalšího postupu s výsledky histologie byl v našem souboru 21 dní (tab. 5). Při hodnocení pilotních výsledků v kontextu s dosud publikovanými daty mů-



Graf 1. Predikce rizika podle DOP_2016 a DOP_2020 [2,8].

žeme konstatovat, že věkové složení naší kohorty (medián věku 66 let) i proporcionální rozložení jednotlivých stadií v době diagnózy (68 % diagnostikováno ve stadiu I a 32 % ve stadiu II–IV) odpovídá klinickým parametrům souborů v dosud publikovaných retrospektivních analýzách [3,4,6,7,10,11] i ve vůbec první práci popisující zkušenosti s prospektivním stanovováním molekulární klasifikace u EC [12] (tab. 5 a 8).

Skutečnost, že v našem souboru nebyla zachycena žádná pacientka s ultramutovaným typem tumoru, může být vysvětlena především relativně malou velikostí naší pilotní kohorty v porovnání s velikostí souborů pacientek v rámci dosud publikovaných studií, obzvláště vezmeme-li do úvahy udávanou frekvenci těchto typů tumorů (5–13 %; tab. 8). Podle dosud publikovaných dat se POLE-ultramutované tumory vyskytují především u pacientek s endometroidními tumory, a to u tumorů s vysokým i nízkým gradem. Např. ve studii Stelloo et al. bylo 49 % pacientek s POLE-ultramutovaným typem tumoru ve skupině s nízkým rizikem recidivy [6]. Je tedy evidentní, že řada pacientek s potenciálně POLE-ultramutovaným tumorem nebyla v našem souboru vůbec testována, neboť znalost výsledku testování

by nezměnila náš klinický postup. Velký důraz je kladen na dostatečné procentuální zastoupení nádorové tkáně ve vzorku vybraném patologem pro účely Sangerova sekvenování, a to vzhledem k možné limitaci této metody v senzitivitě zachytu patogenních variant. Udávaný detekční limit námi užívané metodiky je 15–20 % mutované alely, tj. nejméně 30–40 % buněk s mutací. Při mediánu 80 % nádorové tkáně ve vzorcích určených k testování *POLE* v naší pilotní kohortě nepředpokládáme významný podíl falešně negativních výsledků (tab. 6). Navíc výsledky studie Temko et al. dokladují, že somatické patogenní varianty exonukleázové domény genu *POLE* vznikají velmi časně v průběhu kancerogeneze a jsou detekovatelné již v prekurzorových lézích. Nepředpokládá se tedy významný podíl falešně negativních výsledků při analýze mutačního stavu *POLE* v důsledku heterogenity tumoru [13].

Relativně nízký podíl pacientek s p53-mutovaným typem tumoru v našem souboru (n = 8, tj. 9 %) je vysvětlitelný zejména nízkým podílem pacientek s non-endometroidními karcinomy, resp. serózními karcinomy (tab. 6). Tato hodnota je v naprosté korelaci s výsledky studie Stelloo et al., ve které byly retrospek-

tivně analyzovány pacientky ze studií PORTEC-1 a PORTEC-2, tj. pouze s endometroidními karcinomy při podílu HG tumorů 13 % (tab. 8).

Podíl pacientek s MMR-deficientními tumory 26 % (tab. 6) je plně v souladu s výsledky dosud publikovaných studií (tab. 8). Vysoký záchyt pacientek s hereditární formou EC při genetickém testování indikovaném na základě průkazu MMR-deficientního tumoru a/nebo rodinné anamnézy (22 %) dokladuje oprávněnost námi zvolených kritérií ke genetické konzultaci i skutečnost, že plošné zavedení testování MMR u všech pacientek s nově diagnostikovaným EC napomáhá identifikovat pacientky s dědičnou dispozicí ke vzniku nádorových onemocnění.

Konkordance mezi skutečně absolvovanou léčbou a léčbou doporučenou v návaznosti na zařazení pacientky do rizikové skupiny podle recentních evropských doporučení s využitím molekulárního testování (89 %) je v našem pilotním souboru vysoká, vyšší než např. v holandské studii posuzující compliance lékařů s aplikací doporučených postupů v běžné klinické praxi [14]. Naše pilotní zkušenosti tak dokladují praktickou realizovatelnost nových doporučení pro management pacientek s EC. Vý-

znamnost změn, které tato nová doporučení přináší, ilustruje porovnání s predikcí rizika recidivy podle předchozího DOP_2016 (graf 1) [2] a také detailní charakteristika parametrů, které byly důvodem pro změnu ve stratifikaci rizika u jednotlivých případů (tab. 7).

Hlavním kladem naší pilotní studie je skutečnost, že se jedná o první práci svého druhu vyhodnocující pragmatickou implementaci molekulárního testování do běžné klinické praxe u pacientek s nově diagnostikovaným karcinomem endometria, kdy jsou stanovovány parametry p53 a MMR u všech pacientek a mutační stav genu *POLE* je vyhodnocován pouze u pacientek s nízkým rizikem recidivy onemocnění. Relativním nedostatkem je velikost souboru podmíněná faktem, že se jedná o pilotní studii vyhodnocující dosavadní zkušenosti před případnou modifikací zavedeného postupu.

Závěr

Pilotní analýza našich zkušeností s implementací molekulárního testování u pacientek s nově diagnostikovaným karcinomem endometria dokladuje, že kombinace imunohistochemických analýz proteinů MMR a p53 u všech pacientek a sekvenční analýzy genu *POLE* u pacientek v nízkém riziku je v běžné klinické praxi proveditelná a neprodukuje dobu nutnou k rozhodnutí o adjuvantní léčbě. Stanovování nových markerů v rámci molekulárního testování pomáhá identifikovat pacientky se špat-

nou, nebo naopak excelentní prognózou (p53-mutované tumory, resp. ultramutované tumory s patogenní variantou genu *POLE*), a lépe tak cílit doporučení stran případné adjuvantní léčby. Samotný výsledek analýzy proteinů MMR sice doposud neměl vliv na volbu optimální strategie v rámci primární léčby, nicméně její plošné provádění u všech pacientek s nově diagnostikovaným karcinomem endometria napomáhá v širším kontextu identifikovat ty pacientky, které jsou nosičkami dědičné dispozice ke vzniku nádorových onemocnění.

Dedikace

Podpořeno MZČR-RVO (FNBr, 65269705).

Literatura

1. Modrá kniha České onkologické společnosti. [online]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/personalizovana-onkologie/modra-kniha-cos/aktualni-vydani-modre-knihy/>.
2. Colombo N, Preti E, Landoni F et al. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013; 24 (Suppl 6): vi33–vi38. doi: 10.1093/annonc/mdt353.
3. The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013; 497(7447): 67–73. doi: 10.1038/nature12113.
4. Talhouk A, McConechy MK, Leung S et al. A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers. *Br J Cancer* 2015; 113(2): 299–310. doi: 10.1038/bjc.2015.190.
5. León-Castillo A, de Boer SM, Powell ME et al. Molecular classification of the PORTEC-3 trial for high-risk endometrial cancer: impact on prognosis and benefit from adjuvant therapy. *J Clin Oncol* 2020; 38(29): 3388–3397. doi: 10.1200/JCO.20.00549.
6. Stelloo E, Nout RA, Osse EM 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): 4215–4224. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2878.

7. Kommoss S, McConechy MK, Kommoss F et al. Final validation of the ProMisE molecular classifier for endometrial carcinoma in a large population-based case series. *Ann Oncol* 2018; 29(5): 1180–1188. doi: 10.1093/annonc/mdy058.
8. Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2020; 31(1): 12–39. doi: 10.1136/ijgc-2020-002230.
9. Dunder P, Cibula D, Doležel M et al. Molecular testing in endometrial carcinoma – joint recommendation of Czech Oncological Society, Oncogynecological Section of the Czech Gynecological and Obstetrical Society, Society of Radiation Oncology, Biology and Physics, and the Society of Czech Pathologists. *Ceska Gynekol* 2021; 86(4): 264–272. doi: 10.48095/ccccg2021264.
10. Talhouk A, McConechy MK, Leung S et al. Confirmation of ProMisE: a simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer: molecular classification of EC. *Cancer* 2017; 123(5): 802–813. doi: 10.1002/cncr.30496.
11. Bosse T, Nout RA, McAlpine JN et al. Molecular classification of grade 3 endometrioid endometrial cancers identifies distinct prognostic subgroups. *Am J Surg Pathol* 2018; 42(5): 561–568. doi: 10.1097/PAS.00000000000001020.
12. Devereaux KA, Weiel JJ, Pors J et al. Prospective molecular classification of endometrial carcinomas: institutional implementation, practice, and clinical experience. *Mod Pathol* 2022; 35(5): 688–696. doi: 10.1038/s41379-021-00963-y.
13. Temko D, Van Gool IC, Rayner E et al. Somatic *POLE* exonuclease domain mutations are early events in sporadic endometrial and colorectal carcinogenesis, determining driver mutational landscape, clonal neoantigen burden and immune response. *J Pathol* 2018; 245(3): 283–296. doi: 10.1002/path.5081.
14. Eggink FA, Mom CH, Boll D et al. Compliance with adjuvant treatment guidelines in endometrial cancer: room for improvement in high risk patients. *Gynecol Oncol* 2017; 146(2): 380–385. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.05.025.
15. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS et al. WHO classification of tumours of female reproductive organs. International Agency for Research on Cancer 2014.
16. Brierley J, Gospodarowicz MK, Wittekind C et al. TNM klasifikace zhoubných novotvarů. [online]. Available from: <https://dwn.alza.cz/ebook/nahled/pdf2/EK34089>.
17. Colombo N, Creutzberg C, Amant F et al. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Radiother Oncol* 2015; 117(3): 559–581. doi: 10.1016/j.radonc.2015.11.013.

2.6 Molekulární charakteristika karcinomu endometria a individualizace systémové léčby

Systémová léčba je indikována u pacientek s karcinomem endometria ve vysokém riziku recidivy s cílem snížit riziko vzniku vzdálených metastáz. Hlavní indikací je však léčba pokročilého nebo diseminovaného onemocnění, kdy již ani chirurgická léčba, ani radioterapie neumožňují dosažení kurativního efektu.

Základní modalitou systémové léčby je chemoterapie, jejímž standardem v první linii zůstává kombinace platinového derivátu a taxanu. Tato léčba dosahuje objektivní odpovědi přibližně u 40–62 % pacientek a mediánu celkového přežití pacientek mezi 13–29 měsíci. U pacientek s progresí onemocnění po léčbě první linie jsou možnosti další chemoterapie výrazně omezené. Účinnost standardně používaných cytostatik ve vyšších liniích je nízká a procento léčebných odpovědí se zpravidla pohybuje pod 30 %, zejména u pacientek s časnou recidivou do šesti měsíců od předchozí chemoterapie [50].

Další možností systémové paliativní léčby je hormonální terapie, která se využívá zejména u pacientek s dobře diferencovanými endometroidními karcinomy s indolentním biologickým chováním a pozitivními steroidními receptory. Při průkazu exprese estrogenových nebo progesteronových receptorů nad 1 % lze využít gestageny (medroxyprogesteron acetát nebo megestrol acetát), inhibitory aromatáz (letrozol, anastrozol nebo exemestan) nebo antiestrogeny (tamoxifen). Volba preparátu je zpravidla ovlivněna především jejich bezpečnostním profilem, protože žádný z preparátů ani jejich kombinace neprokázaly v porovnání s ostatními jednoznačně vyšší účinnost. Procento dosažených léčebných odpovědí se pohybuje mezi 20–40 % [51].

2.6.1 Molekulárně cílená léčba a imunoterapie

Zásadní průlom v možnostech systémové léčby karcinomu endometria přinesl objev inhibitorů kontrolního bodu imunitní reakce, tzv. checkpoint inhibitorů, které bloádou interakce mezi receptory pro programovanou buněčnou smrt (PD-1, PD-L1) obnovují protinádorovou imunitní odpověď. Faktorem příznivě ovlivňujícím účinnost imunoterapie u karcinomu endometria je vysoká mutační nálož nádoru, která vede ke vzniku neoantigenů a následné aktivaci protinádorové imunitní odpovědi. V důsledku defektního mismatch-repair systému dochází ke kumulaci chyb vznikajících během replikace DNA a následně ke zvýšené expresi neoantigenů na povrchu nádorových buněk, které mohou být imunitním systémem rozpoznány jako cizorodé a imunogenní.

U MMR-deficientních subtypů, které představují přibližně 30 % karcinomů endometria s pokročilým nebo recidivujícím onemocněním, dosahují inhibitory PD-1/PD-L1 po selhání platinové chemoterapie objektivní léčebné odpovědi přibližně u 45 % pacientek. Výsledky studií vedly k registraci checkpoint inhibitorů pembrolizumabu a dostarlimabu pro léčbu pacientek s MMR-deficientním karcinomem endometria po selhání platinového derivátu [52, 53].

Významný posun v léčbě pokročilého karcinomu endometria přineslo také zařazení checkpoint inhibitorů do první linie léčby v kombinaci s chemoterapií. Přidání inhibitorů PD-1 ke standardní chemoterapii karboplatinou a paklitaxelem vedlo k významnému prodloužení doby do progresse onemocnění, zejména u pacientek s MMR-deficientními nádory [54, 55]. Na základě výsledků těchto studií se kombinace chemoimunoterapie

stala novým standardem první linie léčby pokročilého nebo recidivujícího karcinomu endometria.

U pacientek bez průkazu MMR-deficience je nicméně biologická aktivita imunoterapie nižší, procento léčebných odpovědí se pohybuje kolem 15 %. Významným posunem v léčbě této skupiny pacientek se stala kombinace pembrolizumabu s multikinázovým inhibítolem lenvatinibem, která prokázala prodloužení celkového přežití i doby bez progresu onemocnění oproti chemoterapii [56]. Alternativou posílení účinnosti léčby PD-1/PD-L1 inhibitory u této skupiny pacientek je současné podání PARP inhibitorů, které mohou způsobit zvýšenou expresi PD-L1 a neoantigenů v důsledku poškození DNA.

Mezi perspektivní terapeutické cíle u karcinomu endometria patří také receptor HER2/neu pro lidský epidermální růstový faktor. Cílem anti-HER léčby je blokáda receptoru HER2/neu a inhibice jedné z klíčových signálních drah regulujících proliferaci a apoptózu nádorových buněk.

Další možností cílené léčby je inhibice hlavního jaderného exportního proteinu (XPO1), jehož nadměrná exprese je typickým znakem nádorových buněk. Mechanismus účinku selektivních inhibitorů jaderného exportu spočívá v akumulaci tumor supresorových proteinů v jádře, zastavení buněčného cyklu a apoptóze nádorových buněk. Perspektivní skupinu představují také inhibitory WEE1 kináz, jejichž terapeutickým cílem je ovlivnění kontrolních bodů dysregulovaného buněčného cyklu u tumorů s prokázanou mutací genu *TP53*.

Současné poznatky o molekulární biologii karcinomu endometria zásadně změnily pohled na biologickou heterogenitu tohoto onemocnění. Význam molekulární klasifikace se postupně rozšířil z čistě prognostického nástroje také do oblasti predikce léčebné odpovědi a individualizace systémové léčby. Identifikace dalších terapeuticky využitelných molekulárních alterací významně rozšiřuje možnosti systémové léčby.

2.6.2 Vlastní přínos k problematice

S nástupem imunoterapie a cílené biologické léčby do běžné klinické praxe jsme se zaměřili na analýzu reálných klinických zkušeností u pacientek léčených v rámci druhé a vyšší linie systémové terapie. Moderní léčba pembrolizumabem v monoterapii u pacientek s prokázaným deficitem MMR systému nebo v kombinaci s lenvatinibem bez ohledu na MMR status byla v době realizace studie indikována až ve vyšších liniích systémové terapie po selhání platinového režimu. Vzhledem k limitovaným zkušenostem z běžné klinické praxe mimo podmínky registračních studií jsme se proto zaměřili na analýzu výsledků léčby v reálné klinické populaci pacientek. Zvláštní pozornost byla věnována vztahu mezi molekulárními charakteristikami nádoru a dosaženým klinickým přínosem chemoterapie, imunoterapie a molekulárně cílené léčby.

V rámci retrospektivní unicentrické analýzy byly hodnoceny všechny pacientky s pokročilým nebo recidivujícím karcinomem endometria, u nichž byla při progresi po předchozí léčbě platinovým režimem zvažována další linie systémové terapie. Vedle klinicko-patologických parametrů byly analyzovány také molekulární charakteristiky nádorů včetně MMR statusu, exprese p53, hormonálních receptorů a L1CAM. Hodnoceny byly typy podané systémové léčby, dosažená léčebná odpověď, doba do progresu onemocnění i specifické přežití pacientek.

Výsledky analýzy potvrdily velmi nepříznivou prognózu pacientek indikovaných ke druhé a vyšší linii systémové léčby. Současně však ukázaly, že aktivní léčebný přístup může u části nemocných vést k významnému klinickému přínosu, zejména při využití imunoterapie samotné nebo v kombinaci s molekulárně cílenou léčbou. Nejvyšší léčebná odpověď byla zaznamenána u pacientek s MMR-deficientními endometroidními karcinomy léčených pembrolizumabem v monoterapii, nicméně léčebné odpovědi byly pozorovány i u části pacientek s MMR-proficientními nádory při léčbě kombinací pembrolizumabu s lenvatinibem.

Za významný přínos práce považujeme zejména analýzu sekvenčního klinického benefitu jednotlivých léčebných modalit prostřednictvím porovnání doby do progresu při léčbě ve druhé a vyšší linii s délkou odpovědi na primární platinovou chemoterapii. Zatímco při opakované chemoterapii byla u většiny pacientek zaznamenána kratší doba do progresu než po primární léčbě, u téměř poloviny pacientek léčených pembrolizumabem samotným nebo v kombinaci s lenvatinibem byla doba do progresu delší než po předchozí platinové chemoterapii. Tento efekt byl nejvýraznější u pacientek s MMR-deficientními nádory, avšak byl pozorován i u části nemocných s MMR-proficientními non-endometroidními karcinomy.

Analýza potvrdila význam individualizovaného sekvenčního přístupu k paliativní systémové léčbě karcinomu endometria založeného nejen na klinickém stavu pacientky, ale také na biologických charakteristikách nádoru. Naše výsledky tak dokumentují praktický dopad molekulární charakteristiky karcinomu endometria na rozhodování o systémové léčbě v běžné klinické praxi.

Příloha 4: Druhá a vyšší linie systémové léčby karcinomu endometria – zkušenosti z reálné klinické praxe

BEDNAŘÍKOVÁ, M. **(corresponding author), M. KOBLÍŽKOVÁ, P. OVESNÁ, J. HAUSNEROVÁ, L. EHRLICHOVÁ, M. FELSINGER, M. TOMKOVÁ, L. MINÁŘ a V. WEINBERGER.** *Klinicka Onkologie [online]. 2026, 39 (3), 1-12. ISSN 0862-495X. Available at doi: 10.48095/ccko20261*

Typ příspěvku: původní práce. V době podání návrhu na zahájení habilitačního řízení nebyla publikace ještě indexována v databázi Scopus.

Vlastní přínos autorky: iniciace a návrh studie, tvorba klinické databáze, sběr a interpretace klinických dat, spolupráce na statistickém vyhodnocení, interpretace výsledků a příprava rukopisu, komunikace s redakcí.

Druhá a vyšší linie systémové léčby karcinomu endometria – zkušenosti z reálné klinické praxe

Second and subsequent lines of systemic therapy in endometrial cancer – a real-life clinical experience

Bednaříková M.^{1,2}, Koblížková M.², Ovesná P.^{2,3}, Hausnerová J.⁴, Ehrlichová L.^{1,2}, Felsinger M.², Tomková M.², Minář L.², Weinberger V.²

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Klinika gynekologie, porodnictví a neonatologie LF MU a FN Brno

³ Institut biostatistiky a analýz, LF MU, Brno

⁴ Ústav patologie, LF MU a FN Brno

Souhrn

Východiska: U pacientek s pokročilým nebo recidivujícím karcinomem endometria po selhání platinové chemoterapie zůstává prognóza nepříznivá a možnosti systémové léčby byly dříve omezené. Zavedení imunoterapie, samotné nebo v kombinaci s molekulárně cílenou léčbou, významně rozšířilo terapeutické možnosti. Cílem této práce bylo zhodnotit účinnost a klinický přínos 2. a vyšší linie systémové léčby u pacientek s pokročilým nebo recidivujícím karcinomem endometria v běžné klinické praxi. **Soubor pacientek a metody:** Do retrospektivní unicevrické analýzy byly zařazeny pacientky FN Brno, u nichž bylo v letech 2013–2024 zvažováno zahájení 2. linie systémové léčby po selhání platinové chemoterapie. Hodnoceny byly klinicko-patologické a molekulární charakteristiky, typy podané systémové léčby, maximální dosažená léčebná odpověď, doba do progresu onemocnění a specifické přežití. **Výsledky:** Celkem bylo identifikováno 43 pacientek, aktivní léčebný přístup ve 2. linii byl zvolen u 41 (95 %) z nich. Chemoterapie byla ve 2. linii indikována u 26 (63 %) pacientek, pembrolizumab samotný nebo v kombinaci s lenvatinibem u 14 (34 %) pacientek a hormonoterapie u 1 (2 %) pacientky. Medián specifického přežití dosahoval v celém souboru 13,4 měsíce (95% CI 8,5–27,2), v podskupině s opakovaným podáním platinové chemoterapie ve 2. linii 27,2 měsíce, v podskupině s pembrolizumabem samotným nebo v kombinaci s lenvatinibem 23,4 měsíce a v podskupině s neplatinovou chemoterapií 6,7 měsíce. Dvě pacientky bez aktivní léčby ve 2. linii měly medián specifického přežití 2,7 měsíce. U téměř poloviny pacientek léčených pembrolizumabem samotným nebo v kombinaci s lenvatinibem byl zaznamenán přínos ve formě prodloužení doby do progresu ve srovnání s primární platinovou chemoterapií. **Závěr:** U pacientek s pokročilým nebo recidivujícím karcinomem endometria po selhání platinové chemoterapie může aktivní systémová léčba přispět k prodloužení celkového přežití i zmírnění symptomů onemocnění. Nejvyšší klinický benefit byl zaznamenán při léčbě pembrolizumabem samotným nebo v kombinaci s lenvatinibem. Individualizovaný a sekvenční přístup k paliativní systémové léčbě zůstává klíčovým předpokladem pro maximalizaci klinického benefitu.

Klíčová slova

karcinom endometria – systémová léčba – chemoterapie – imunoterapie – 2. a vyšší linie léčby – pembrolizumab – lenvatinib

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Markéta Bednaříková, Ph.D.

Interní hematologická

a onkologická klinika

LF MU a FN Brno

Jihlavská 20

625 00 Brno

e-mail:

bednarikova.marketa@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 8. 2. 2026

Přijato/Accepted: 11. 4. 2026

doi: 10.48095/ccko2026184

Summary

Background: Patients with advanced or recurrent endometrial cancer who progress after platinum-based chemotherapy face a poor prognosis, and treatment options have historically been limited. The introduction of immunotherapy, alone or in combination with targeted agents, has substantially expanded therapeutic options in subsequent treatment lines. This study evaluated the efficacy and clinical benefit of second- and subsequent-lines of systemic therapy in a real-life cohort of patients with advanced or recurrent endometrial cancer. **Methods:** This retrospective, single-center analysis included patients treated at University Hospital Brno who were considered for second-line systemic therapy after failure of platinum-based chemotherapy between 2013 and 2024. Clinicopathological and molecular characteristics, systemic treatment modalities, best overall response, time to progression, and disease-specific survival were assessed. **Results:** A total of 43 patients were identified; second-line treatment was initiated in 41 patients (95.3%). Of these, 26 (63.4%) received second-line chemotherapy, 14 (34.1%) received pembrolizumab alone or in combination with lenvatinib, and one patient (2.4%) received hormonal therapy. The median disease-specific survival for the entire cohort was 13.4 months (95% confidence interval 8.5–27.2 months). Among patients with re-administration of platinum-based chemotherapy, the median disease-specific survival was 27.2 months. Patients receiving pembrolizumab ± lenvatinib had a median survival of 23.4 months, whereas those treated with non-platinum chemotherapy had a median survival of 6.7 months. Two patients without active second-line treatment had a median disease-specific survival of 2.7 months. Nearly half of the patients treated with pembrolizumab ± lenvatinib experienced a prolonged time to progression compared with those receiving primary platinum-based chemotherapy. **Conclusions:** In patients with advanced or recurrent endometrial cancer after platinum failure, active systemic therapy may prolong survival and improve disease control. The greatest clinical benefit was observed with pembrolizumab alone or in combination with lenvatinib. An individualized, sequential approach to palliative systemic therapy is crucial to maximize clinical benefits.

Key words

endometrial cancer – systemic treatment – chemotherapy – immunotherapy – second and subsequent lines of therapy – pembrolizumab – lenvatinib

Úvod

Díky brzkému nástupu symptomů, zejména v podobě abnormálního gynekologického krvácení, je > 70 % případů karcinomu endometria diagnostikováno v časném stadiu, kdy je onemocnění limitováno na dělohu. Základní léčebnou metodu v těchto případech představuje chirurgický výkon [1]. U pacientek, jejichž onemocnění na základě molekulárních charakteristik nádoru nebo rozsahu postižení nesplňuje kritéria pro nízké riziko recidivy, následuje adjuvantní léčba. Ve většině případů postčuje radioterapie zaměřená na snížení rizika lokální recidivy. Pouze u pacientek s vysokým rizikem (přibližně 30 % všech nových případů) je součástí primární léčby také adjuvantní chemoterapie založená na kombinaci platinového derivátu (platinová chemoterapie – P-CHT) a taxanu, jejímž cílem je redukce rizika rozvoje vzdálených metastáz [2,3].

Hlavní indikací systémové terapie u pacientek s karcinomem endometria nadále zůstává paliativní léčba metastatického nebo recidivujícího onemocnění, které není vhodné k chirurgickému řešení nebo radioterapii s kurativním záměrem. Základním pilířem 1. linie paliativní systémové léčby je chemoterapie. Kombinovaná léčba prokázala vyšší účinnost než monoterapie, a je proto

preferována vždy, pokud to celkový stav pacientky umožňuje [4]. Režimem první volby je kombinace karboplatiny a paklitaxelu, u které lze očekávat léčebnou odpověď přibližně v 50 % případů, medián doby do progresu (time to progression – TTP) okolo 12 měsíců a medián celkového přežití přibližně 3 roky [5].

Významný posun v možnostech 1. linie paliativní systémové léčby přineslo zavedení imunoterapie (IT), konkrétně monoklonálních protilátek proti receptoru programované buněčné smrti PD-1 (tzv. checkpoint inhibitorů – CPI). Hlavní mechanismus účinku CPI spočívá ve stimulaci protinádorové imunitní odpovědi blokadou inhibičních signálů v mikroprostředí [6]. Přidání CPI do kombinace s karboplatinou a paklitaxelem, následované udržovací léčbou samotným CPI po dobu 2–3 let, významně zlepšuje výsledky ve srovnání se samotnou chemoterapií, zejména u nádoru pacientek s prokázaným defektem v systému oprav chybného párování bází (mismatch repair deficiency – MMRd) nebo s vysokou mikrosatelitovou nestabilitou (MSI-H) [7–9]. V České republice (ČR) je tato léčba běžně dostupná od roku 2025, kdy dostarlimab získal úhradu z prostředků zdravotního pojištění. U pacientek s indolentními nádory bez průkazu MMRd/MSI-H může být alternativou paliativní systémové léčby hormone-

rapie (zpravidla progestiny) s očekávanou objektivní léčebnou odpovědí ve 20–40 % případů [10].

Pro 2. a vyšší linii paliativní systémové léčby nebyl až donedávna standardní postup definován. Léčebné odpovědi při monoterapii doxorubicinem, taxanem nebo při opětném podání P-CHT obvykle nepřesahují 20 %. Zásadní průlom přineslo až zavedení molekulárně cílené léčby v kombinaci s CPI. Významné byly zejména výsledky randomizované studie fáze III KEYNOTE-775, které prokázaly u pacientek s progresí po předchozí platinové terapii prodloužení doby bez progresu i celkového přežití při léčbě kombinací multikinázového inhibitoru lenvatinibu s pembrolizumabem [11]. Tato léčba získala v ČR úhradu v roce 2023 a stala se novým standardem pro další linie systémové léčby po selhání P-CHT, a to bez ohledu na MMR status. U pacientek s MMRd/MSI-H nádory byla v klinických studiích prokázána vysoká účinnost CPI (např. pembrolizumabu nebo dostarlimabu) v monoterapii, s dosažením léčebných odpovědí u téměř 50 % silně předkládaných [12,13]. V ČR však dosud žádný z těchto přípravků nezískal pro tuto indikaci úhradu z veřejného zdravotního pojištění. Alternativou pro vyšší linii systémové léčby může být v některých případech také hormonální léčba.

Data z klinických studií představují nepochybně klíčový zdroj informací o účinnosti a bezpečnosti léčby, avšak řada pacientek z běžné klinické praxe by přísná vstupní kritéria těchto studií nesplnila. U diseminovaného karcinomu endometria často pečujeme o ženy vyššího věku, s mnoha interními komorbiditami a variabilním sociálním zázemím. Zkušenosti z reálné klinické praxe proto poskytují velmi cennou zpětnou vazbu pro posouzení skutečného klinického přínosu nových léčebných postupů.

Cílem tohoto sdělení je analyzovat naše zkušenosti se systémovou léčbou ve 2. a dalších liniích (2^{+L}) u pacientek s pokročilým karcinomem endometria v éře širší dostupnosti inovativních léčiv a na jejich základě formulovat praktická doporučení, kterými se řídíme v naší běžné praxi.

Metodika

V rámci retrospektivní unicentrické studie schválené Etickou komisí FN Brno pod jednacím číslem 10-030225/EK byly z klinické databáze Onkogynekologického centra FN Brno identifikovány pacientky, u nichž bylo v období od 1. 12. 2013 do 31. 12. 2024 zvažováno zahájení další linie systémové léčby pro karcinom endometria.

Základním vstupním kritériem byla předchozí léčba chemoterapií obsahující P-CHT, a to buď v adjuvantním podání, nebo v rámci 1. linie pro diseminované onemocnění. Naopak byly vyloučeny všechny pacientky bez progresse onemocnění, pacientky předléčené pouze hormonální léčbou a pacientky primárně indikované k paliativní symptomatické péči bez předchozí léčby chemoterapií.

Systémová léčba byla podávána v souladu s platnými doporučeními a pravidly klinické praxe v ČR, a to buď s úhradou z prostředků veřejného zdravotního pojištění, na základě individuálního schválení revizním lékařem, nebo v rámci klinických studií. Hodnocení léčebné odpovědi bylo prováděno vždy po 3 měsících léčby, případně dříve při podezření na progresi onemocnění.

Klinická data

Z databáze nebo zdravotnické dokumentace byly pro statistické vyhodnocení získány následující údaje:

- demografické charakteristiky – věk v době diagnózy, index tělesné hmotnosti (body mass index – BMI), menopauzální stav;
- klinicko-patologické údaje – klinické stadium dle FIGO 2009 [14], datum diagnózy, histologický typ a stupeň diferenciace nádoru, výsledky imunohistochemického (IHC) stanovení estrogenových receptorů (ER), progesteronových receptorů (PR), L1 adhezivní molekuly (L1CAM) a výsledky molekulárního testování [15,16]: p53, MMR, resp. mutačního stavu genu *POLE*;
- dále bylo zaznamenáno datum úmrtí, příčina úmrtí nebo datum poslední kontroly (u žijících pacientek).

Pro každou linii systémové léčby byly navíc dohledány následující údaje: datum zahájení a datum ukončení léčby, typ (režim) systémové terapie, maximální dosažený efekt dle RECIST [17], důvod ukončení a TTP (interval mezi zahájením příslušné linie léčby a datem progresse onemocnění).

Statistické vyhodnocení

K sumarizaci byly použity standardní popisné statistiky – medián a mezikvartilové rozpětí (interquartile range – IQR) pro spojité proměnné a absolutní a relativní frekvence (%) pro kategoriální proměnné.

Specifické přežití (disease-specific overall survival – DSOS) bylo definováno jako čas od zahájení 2. linie do úmrtí v souvislosti s karcinomem endometria. Pokud pacientka žila v době analýzy či zemřela z jiné příčiny, byla cenzorována k datu poslední kontroly. K vizualizaci DSOS, stanovení mediánu přežití a procenta přežívajících ve vybraných časech byla použita Kaplan-Meierova metoda. TTP ve 2^{+L} systémové léčby byla porovnáována s TTP v 1. linii pomocí párového Studentova t-testu. Analýzy byly provedeny v programu R (verze 4.3.2).

Výsledky

Charakteristiky pacientek v době diagnózy

Celkem bylo identifikováno 43 pacientek s primárně pokročilým nebo recidivujícím karcinomem endometria, u nichž byla po předchozí P-CHT zva-

žována další linie léčby kvůli progresi. Medián věku pacientek v době diagnózy byl 64 let (IQR 60–72). Většina pacientek byla postmenopauzálních (n = 39; 90,7 %) a trpěla obezitou (medián BMI 31; IQR 25–36). Převládaly pacientky diagnostikované ve vyšších stadiích onemocnění (67,4 % ve stadiu III nebo IV) a s agresivnějším morfologickým typem nádoru (pouze 23 % pacientek mělo dobře diferencovaný endometroidní karcinom).

Z molekulárního testování byl k dispozici výsledek IHC stanovení p53 u 39 (90,6 %) pacientek; mutovaný obraz byl zaznamenán u 17 (43,6 %) z nich. MMR status byl vyšetřen u 30 (69,8 %) pacientek a 14 (46,7 %) mělo nádor s deficitem v MMR systému. Status genu *POLE* byl znám u 14 (32,5 %) pacientek, přičemž u žádné nebyl prokázán *POLE*-ultramutovaný typ tumoru.

Výsledek stanovení ER byl dostupný u 41 (95,3 %) pacientek. Hodnoty v rozmezí asociovaném s příznivou prognózou (90–100 %) mělo pouze 13 (31,7 %) z nich. U PR bylo zastoupení pacientek s hodnotami mezi 90 a 100 % ještě nižší; celkem 9 ze 40 (22,5 %) pacientek se známým statusem. Marker L1CAM byl vyšetřen u 27 pacientek a u téměř poloviny (41,4 %) z nich (n = 12) byly hodnoty pozitivní (> 10 %), tj. asociované s horší prognózou.

Operaci v rámci primární léčby podstoupilo celkem 37 (86,0 %) pacientek, 28 (75,7 %) vč. chirurgického stagingu mizních uzlin. Radioterapii absolvovalo celkem 17 (39,5 %) a chemoterapii 30 (69,8 %) pacientek. Základní vstupní charakteristiky jsou shrnuty v tab. 1.

Přehled systémové léčby indikované ve 2^{+L}

U celkem 41 (95,3 %) pacientek byl v době první progresse po předchozí P-CHT zvolen aktivní léčebný přístup. Chemoterapie ve 2. linii byla indikována u 26 (63,4 %) pacientek, a to buď formou opětovného podání P-CHT (n = 13), nebo neplatinového režimu (neplatinová chemoterapie – neP-CHT) (n = 13). Léčba kombinací lenvatinibu s pembrolizumabem nebo monoterapií pembrolizumabem byla podána celkem 14 (34,1 %) pacientkám a hormonální

Tab. 1. Vstupní charakteristiky (n = 43) z doby diagnózy pacientek, u nichž byla po léčbě platinovým režimem zvažována vyšší linie systémové terapie.

Klinicko-patologické údaje		Molekulární testování		20–80		11 (27,5 %)	
věk (roky)		POLE		90–100		9 (22,5 %)	
medián (IQR)	64 (60–72)	MUT	0 (0 %)	neznámý	3		
BMI (kg/m²)		WT	14 (100 %)	L1CAM (%)			
medián (IQR)	31 (25–36)	neznámý	29	> 10	12 (41,4 %)		
menopauzální stav		MMR status		0–10	17 (58,6 %)		
premenopauza	3 (7,0 %)	MMRd	14 (46,7 %)	neznámý	14		
perimenopauza	1 (2,3 %)	MMRp	16 (53,3 %)	Primární léčba			
postmenopauza	39 (90,7 %)	neznámý	13		chirurgie		
FIGO 2009		p53 status		ano	37 (86,0 %)		
I	8 (18,6 %)	MUT	17 (43,6 %)	ne	6 (14,0 %)		
II	6 (14,0 %)	WT	22 (56,4 %)	chirurgický staging LU (u operovaných)			
III	20 (46,5 %)	neznámý	4		ano	28 (75,7 %)	
IV	9 (20,9 %)	Imunohistochemické prognostické markery		ne	9 (24,3 %)		
histologický typ		ER (%)		radioterapie			
endometroidní LG	10 (23,3 %)	0–10	11 (26,8 %)	ano	17 (39,5 %)		
endometroidní HG	12 (27,9 %)	20–80	17 (41,5 %)	ne	26 (60,5 %)		
serózní karcinom	13 (30,2 %)	90–100	13 (31,7 %)	chemoterapie			
karcinosarkom	4 (9,3 %)	neznámý	2	ano	30 (69,8 %)		
nediferencovaný karcinom	2 (4,7 %)	PR (%)		ne	13 (30,2 %)		
ostatní	2 (4,7 %)	0–10	20 (50,0 %)				

BMI – body mass index, ER – estrogenové receptory, FIGO – Mezinárodní federace gynekologie a porodnictví, HG – grade 3, IQR – mezikvartilové rozpětí, L1CAM – L1 adhezivní molekula, LG – grade 1 + 2, LU – lymfatické uzliny, MMR – oprava chybného párování, MMRd – defekt v MMR systému, MMRp – MMR proficientní (bez průkazu defektu v MMR systému), n – počet, p53 MUT – p53 mutovaný obraz, p53 WT – p53 nemutovaný (wild type) obraz, POLE MUT – ultramutovaný typ, PR – progesteronové receptory, Q – kvartil, WT – bez průkazu definovaných alterací v genu POLE

terapie (HT) jedné pacientce (2,4 %). U dvou (4,7 %) pacientek neumožnil celkový stav v době progresu zahájení aktivní protinádorové léčby, a byla proto indikována pouze paliativní symptomatická péče.

Ve 3. linii byl aktivní léčebný přístup zvolen u 21 (48,8 %) pacientek – chemoterapie u 10 (47,6 %), pembrolizumab ± lenvatinib u čtyř (19,0 %), hormonoterapie u šesti (28,6 %) a léčba v rámci klinické studie u jedné pacientky (4,7 %). Ve 4. linii podstoupilo aktivní systémovou léčbu osm (18,6 %) pacientek (pět chemoterapií, jedna pembrolizumabem, jedna HT a jedna léčbu v klinické studii) a v 5. linii byla indikována chemoterapie

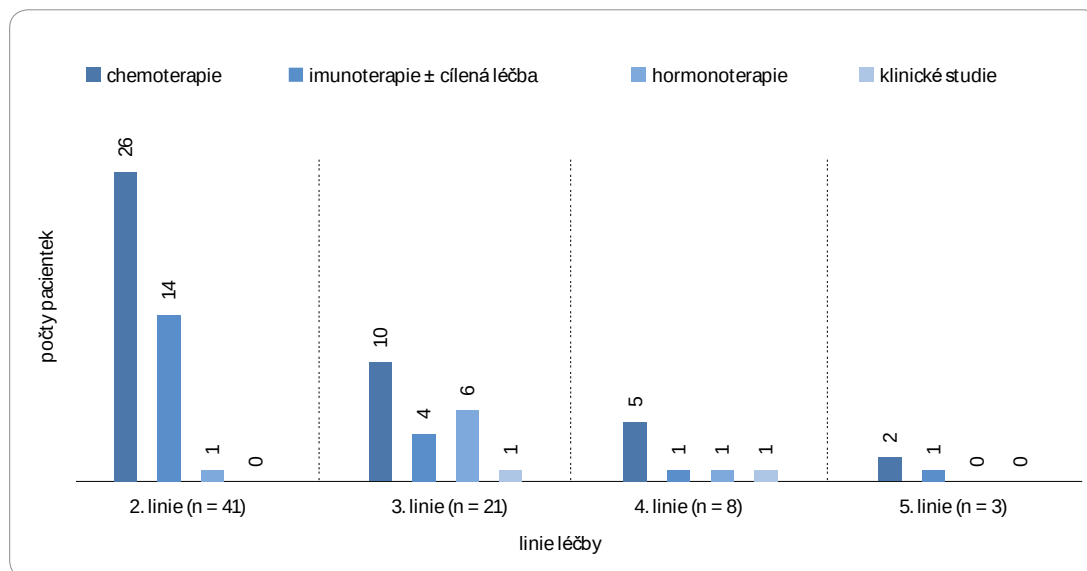
u dvou pacientek, pembrolizumab u jedné pacientky. Detailní přehled typů systémové léčby podle jednotlivých linií je uveden v grafu 1 a tab. 2.

Celkové přežití pacientek se zvažovanou 2^oL

K datu analýzy při mediánu sledování 10,7 měsíce zemřelo v souvislosti s karcinomem endometria celkem 30 (69,8 %) pacientek. Medián DSOS od zahájení 2. linie byl 13,4 měsíce (95% CI 8,5–27,2) (obr. 1).

Z pohledu modalit systémové léčby zahájené ve 2. linii (obr. 2) bylo patrné, že pacientky léčené P-CHT dosahovaly obdobného DSOS jako pacientky, u nichž

byla ve 2. linii zahájena léčba pembrolizumabem ± lenvatinibem (IT). Medián DSOS činil 27,2 měsíce ve skupině P-CHT a 23,4 měsíce ve skupině IT. Pacientky léčené neP-CHT měly medián specifického přežití výrazně kratší, konkrétně 6,7 měsíce. Dvě pacientky, u nichž celkový klinický stav neumožnil zahájení aktivní protinádorové léčby a byla indikována paliativně symptomatická péče (best supportive care – BSC), měly medián DSOS 2,7 měsíce. Hormonoterapie byla ve 2. linii zahájena pouze u jedné pacientky; tato pacientka pak následně pokračovala v další linii pembrolizumabem v monoterapii a v době analýzy byla naživu s aktivním onemocněním přibližně



Graf 1. Přehled typů systémové terapie indikovaných v jednotlivých liniích léčby.

Tab. 2. Přehled systémové léčby podle linie a typu režimu.

Druh systémové léčby	Celkem (2 ^L ; n = 73)	2L (n = 41)	3L (n = 21)	4L (n = 8)	5L (n = 3)
CHT (celkem)	43	26 (63,4 %)	10 (47,6 %)	5 (62,5 %)	2 (66,7 %)
P-CHT	17	13 (31,7 %)	3 (14,3 %)	–	1 (33,3 %)
neP-CHT	26	13 (31,7 %)	7 (33,3 %)	5 (62,5 %)	1 (33,3 %)
DOX	16	11 (26,8 %)	4 (19,0 %)	1 (12,5 %)	–
T	10	2 (4,9 %)	3 (14,3 %)	4 (50,0 %)	1 (33,3 %)
IT ± cílená léčba	20	14 (34,1 %)	4 (19,0 %)	1 (12,5 %)	1 (33,3 %)
P + L	10	7 (17,0 %)	3 (14,3 %)	–	–
P	10	7 (17,0 %)	1 (4,7 %)	1 (12,5 %)	1 (33,3 %)
hormonoterapie	8	1 (2,4 %)	6 (28,6 %)	1 (12,5 %)	–
klinické studie	2	–	1 (4,7 %)	1 (12,5 %)	–

2^L – 2. a další linie, 2L – 2. linie, 3L – 3. linie, 4L – 4. linie, 5L – 5. linie, DOX – doxorubicin, CHT – chemoterapie, IT – imunoterapie, L – lenvatinib, neP-CHT – neplatinová chemoterapie, P – pembrolizumab, P-CHT – platinová chemoterapie, T – taxan

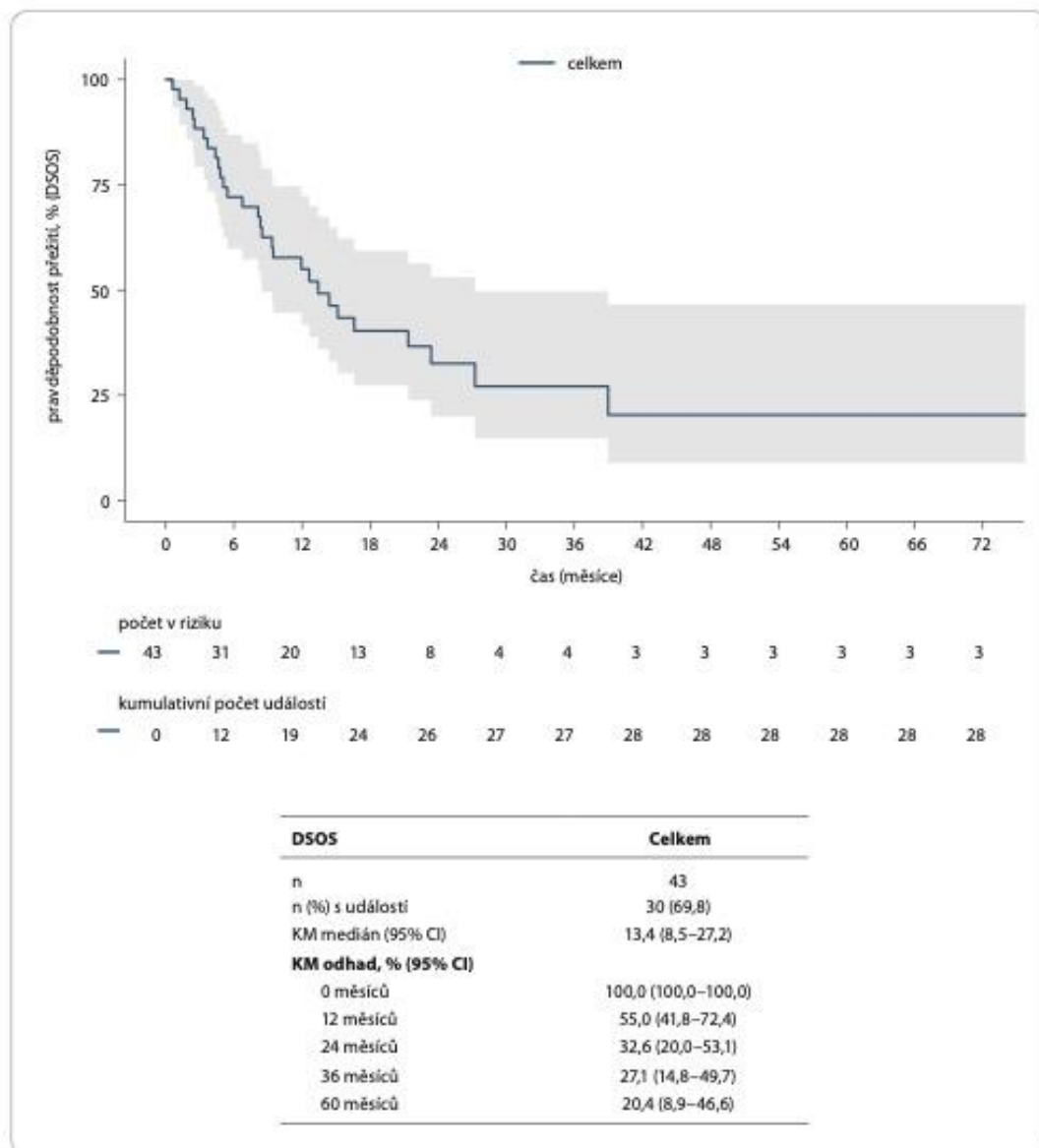
18 měsíců od zahájení 2. linie systémové léčby.

Celková odpověď ve 2^L systémové léčby

Maximální dosažená léčebná odpověď byla počítána přes všechny linie systémové léčby; výsledky jsou shrnuty tab. 3. Při léčbě chemoterapií bylo dosaženo

sedmi (18,4 %) parciálních nebo kompletních remisí (PR/CR), čtyř (10,5 %) stabilizací onemocnění a u 27 (71,0 %) pacientek byla zaznamenána progresse. Byl patrný jednoznačný trend k vyšší léčebné odpovědi při léčbě P-CHT ve srovnání s neP-CHT, a to jak z hlediska podílu PR/CR (35,3 vs. 4,8 %), tak i nižšího zastoupení progresí onemocnění

(58,8 vs. 81,0 %). Při léčbě pembrolizumabem, podávaným samotně nebo v kombinaci s lenvatinibem, bylo dosaženo PR/CR u 11 (55,0 %) pacientek, stabilizace u dvou (10,0 %) a progresse u čtyř (20,0 %) pacientek; u tří (15 %) pacientek nebylo možné k datu analýzy léčebnou odpověď vyhodnotit. Při HT byla maximální léčebnou odpověď



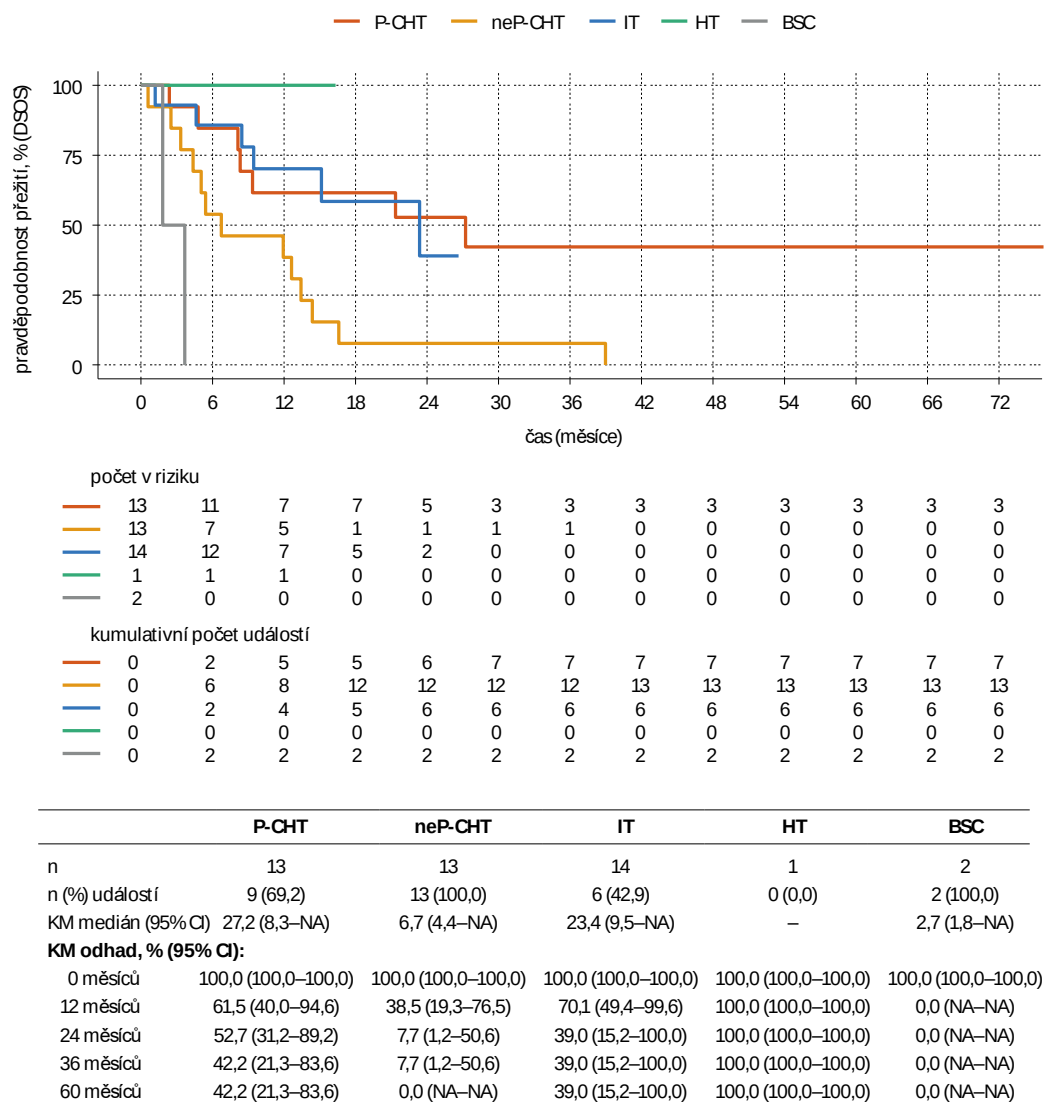
Obr. 1. Specifické přežití (DSOS) od zahájení 2. linie systémové léčby.

CI – interval spolehlivosti, DSOS – specifické přežití pacientek s úmrtím souvisejícím s karcinomem endometria, KM – Kaplan-Meier, n – počet

nejčastěji progresi onemocnění (šest z osmi; 75 %), zatímco stabilizace a remise byly zaznamenány vždy u jedné pacientky. U pacientky, která při hor-

monální léčbě dosáhla kompletní remise, tato remise přetrvávala i v době analýzy (> 5 let). Systémová léčba musela být z důvodu nežádoucích účinků

ukončena pouze u jedné pacientky léčené chemoterapií a u jedné pacientky léčené kombinací pembrolizumabu s lenvatinibem.



Poznámka: U pacientek s BSC ve 2. linii počítáno od data recidivy.

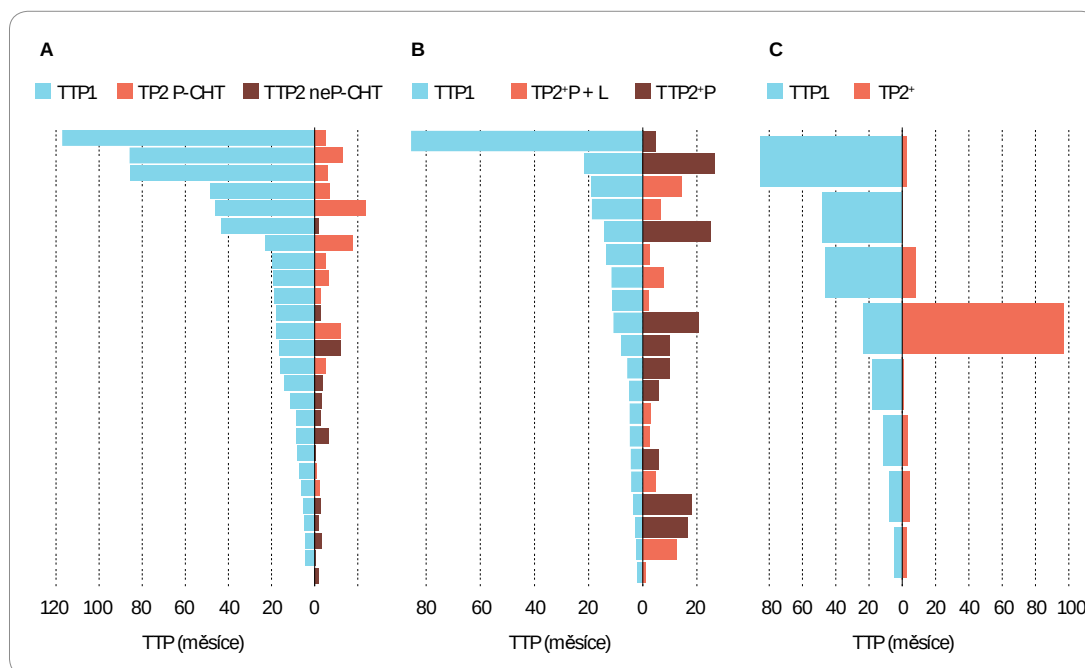
Obr. 2. Specifické přežití (DSOS) od zahájení 2. linie podle modality systémové léčby.
 BSC – paliativní symptomatická péče, CI – interval spolehlivosti, DSOS – specifické přežití pacientek s úmrtím souvisejícím s karcinomem endometria, HT – hormonální léčba, IT – imunoterapie +/- cílená biologická léčba, KM – Kaplan-Meier, n – počet, NA – nelze k datu analyzovat, neP-CHT – neplatinová chemoterapie, P-CHT – chemoterapie založená na platinovém derivátu

Tab. 3. Maximální dosažená léčebná odpověď (ORR) při různých režimech systémové léčby ve 2. a vyšší linii.

Charakteristika	PR/CR	SD	PD	NA	Celkem
CHT	7 (18,5)	4 (10,5)	27 (71,0)	–	38 (100,0)
P-CHT	6 (35,3)	1 (5,9)	10 (58,8)	–	17 (100,0)
neP-CHT	1 (4,8)	3 (14,3)	17 (80,9)	–	21 (100,0)
IT ± cílená léčba	11 (55,0)	2 (10,0)	4 (20,0)	3 (15,0)	20 (100,0)
P + L	3 (30,0)	0 (0,0)	4 (40,0)	3 (30,0)	10 (100,0)
P	8 (80,0)	2 (20,0)	0 (0,0)	–	10 (100,0)
HT	1 (12,5)	1 (12,5)	6 (75,0)	–	8 (100,0)

Poznámka: Pokud měly pacientky stejný typ chemoterapie ve více liniích, je uvedena nejlepší odpověď z nich.

HT – hormonoterapie, CHT – chemoterapie, IT – imunoterapie, L – lenvatinib, n – počet, NA – nelze k datu analýzy, neP-CHT – neplatinová chemoterapie, P – pembrolizumab, P-CHT – platinová chemoterapie



Obr. 3. Porovnání doby do progresu po 1. linii platinové chemoterapie (TTP1) s dobou do progresu ve 2. a vyšší linii systémové terapie (TTP2*) při léčbě chemoterapií (A), imunoterapií samotnou nebo v kombinaci s biologickou léčbou (B) a hormonální léčbou (C). L – lenvatinib, neP-CHT – neplatinová chemoterapie, P – pembrolizumab, P-CHT – platinová chemoterapie, TTP1 – doba do progresu v 1. linii při platinové chemoterapii, TTP2 – doba do progresu ve 2. linii, TTP2* – doba do progresu ve 2. a vyšší linii

Detailnější analýza pacientek léčebných pembrolizumabem samotným nebo v kombinaci s lenvatinibem je uvedena v tab. 4. Monoterapie pembrolizumabem byla podána u 10 z 20 (50 %)

pacientek, přičemž všechny měly endometroidní karcinom s MMR-deficientním prof. lem. Kombinace pembrolizumabu s lenvatinibem byla indikována převážně u pacientek s MMR-proficientními

nádory (9 z 10; 90 %); v jednom případě byla tato kombinace podána pacientce s MMR-deficientním non-endometroidním karcinomem. Maximální léčebná odpověď v podobě PR/CR byla nejčastěji

Tab. 4. Maximální dosažená léčebná odpověď při imunoterapii (samostatně nebo v kombinaci s biologickou léčbou) podle histologických typů a MMR statusu.

Charakteristika	Celkem	Endometroidní		Non-endometroidní	
		MMRd	MMRp	MMRd	MMRp
		n (%)			
IT	20 (100,0)	10 (50,0)	3 (15,0)	1 (5,0)	6 (30,0)
P + L	10 (100,0)	–	3 (30,0)	1 (10,0)	6 (60,0)
P	10 (100,0)	10 (100,0)	–	–	–
Nejlepší dosažená léčebná odpověď					
PR/CR	11 (100,0)	8 (72,7)	1 (9,1)	–	2 (18,2)
SD	2 (100,0)	2 (100,0)	–	–	–
PD	4 (100,0)	–	1 (25,0)	–	3 (75,0)
NA	3 (100,0)	–	1 (33,3)	1 (33,3)	1 (33,3)

IT – imunoterapie, L – lenvatinib, MMR – oprava chybného párování, MMRd – MMR-deficientní, MMRp – MMR-proficientní, n – počet, NA – nelze k datu analýzy, P – pembrolizumab, PD – progresse onemocnění, PR/CR – parciální nebo kompletní remise, SD – stabilizace nemoci

zaznamenána u pacientek s MMR-deficientními nádory léčených pembrolizumabem v monoterapii (8 z 11; 72,7 %). Další tři pacientky s dosaženou PR/CR byly léčeny kombinací pembrolizumabu s lenvatinibem a měly MMR-proficientní tumory, z toho dvě s non-endometroidním a jedna s endometroidním histologickým typem. Stabilizace nemoci byla pozorována výhradně u dvou pacientek s MMR-deficientními nádory, které byly léčeny pembrolizumabem v monoterapii. Naopak progresse onemocnění jako maximální dosažená léčebná odpověď byla zaznamenána u čtyř pacientek léčených kombinací pembrolizumabu s lenvatinibem, všechny s MMR-proficientními nádory (jedna s endometroidním a tři s non-endometroidním karcinomem).

Doba do progresse ve 2⁺L systémové léčby

Medián TTP po primární chemoterapii založené na platinovém derivátu (TTP1) činil u všech 43 pacientek 11 měsíců (IQR 4–19 měsíců). TTP ve 2⁺L systémové léčby (TTP2⁺) byla následně porovnávána s TTP1 vždy v rámci jednotlivých podskupin pacientek podle typu léčby, tj. pouze u pacientek, které danou léčbu ve 2⁺L skutečně obdržely. Výsledky jsou graficky znázorněny na obr. 3.

U 26 pacientek léčených chemoterapií ve 2. linii bylo u 25 (96,2 %) zaznamenáno kratší TTP2 než TTP1. Medián TTP2 v této podskupině činil 4 měsíce (IQR 2–7), zatímco medián TTP1 u těchto pacientek dosahoval 16 měsíců (IQR 7–23). TTP při léčbě chemoterapií ve 2. linii byla výrazně kratší než po primární P-CHT bez ohledu na skutečnost, zda se jednalo o platinový nebo neplatinový režim ($p = 0,002$; obr. 3A).

Naopak u 20 pacientek léčených pembrolizumabem samotným nebo v kombinaci s lenvatinibem byla TTP ve 2. a vyšší linii srovnatelná s TTP1 po primární P-CHT. Medián TTP2⁺ činil 7 měsíců (IQR 4–15), zatímco medián TTP1 u těchto pacientek byl rovněž 7 měsíců (IQR 4–14; obr. 3B). U devíti (47,0 %) pacientek byl TTP2⁺ delší než TTP1; většina z nich byla léčena pembrolizumabem v monoterapii pro MMR-deficientní endometroidní karcinom. U sedmi (35,0 %) pacientek (35 %) IT v době analýzy nadále pokračovala.

U osmi pacientek léčených hormonoterapií činil medián TTP2⁺ 3 měsíce (IQR 2–6), zatímco medián TTP1 dosahoval 21 měsíců (IQR 10–47). Delší TTP2⁺ než TTP1 byla zaznamenána pouze u jedné pacientky, přičemž tento rozdíl byl z klinického hlediska významný (obr. 3C).

Diskuze

Indikace 2⁺L systémové léčby je zvažována u pacientek s karcinomem endometria, u nichž rozsah onemocnění, předchozí léčba nebo celkový stav neumožňují chirurgickou léčbu či radioterapii s kurativním záměrem. Tato klinická situace se týká pouze menší části nemocných; na našem pracovišti bylo identifikováno 43 pacientek se zvažovanou 2. linií systémové léčby z celkového počtu 886 žen s nově diagnostikovaným onemocněním ve sledovaném období.

Zatímco u nově diagnostikovaných pacientek s karcinomem endometria převažují časná stadia onemocnění (v roce 2023 bylo v ČR 76,0 % žen diagnostikováno v 1. nebo 2. klinickém stadiu) [18] a low-grade endometroidní karcinomy, které tvoří obvykle 80–90 % případů [19], v našem souboru pacientek indikovaných k další linii paliativní systémové léčby byl patrný výrazný posun směrem k pokročilejším stadiím v době diagnózy a k vyššímu zastoupení agresivnějších histologických typů nádorů. Obdobně bylo zaznamenáno vyšší zastoupení pacientek s p53-abnormálními nebo MMR-deficientními tumory, než je obvyklé v populaci všech žen s nově diagnostikovaným karcinomem endometria (přibližně 15–25 % pro p53-abnormální a 25–30 % pro MMR-

-deficientní tumory) [20,21]. Relativně vyšší byl rovněž podíl pacientek s dalšími nepříznivými prognostickými faktory, jako je nízká exprese ER a PR nebo pozitivní exprese L1CAM [22,23]. Vysoký podíl pacientek léčených P-CHT již v rámci primární léčby (69,8 %) dále odráží skutečnost, že nemocné indikované k 2^oL systémové léčby představují specifickou podskupinu s iniciálně vysokým rizikem recidivy či progresu (tab. 1).

U většiny pacientek (41 z 43; 95,3 %) byl ve 2. linii po selhání P-CHT zvolen aktivní léčebný přístup. Nejčastěji byla indikována chemoterapie, resp. pembrolizumab samotný nebo v kombinaci s lenvatinibem, zatímco paliativní HT byla v této linii zvolena pouze u dvou nemocných, což opět dokládá převažující spíše agresivnější biologickou povahu onemocnění. Podíl aktivně léčených pacientek v dalších liniích postupně klesal; největší počet linií byl zaznamenán u tří nemocných, u nichž bylo postupně indikováno celkem pět linií systémové léčby (graf 1, tab. 2).

Dosažený medián specifického přežití po selhání primární P-CHT v celém souboru (obr. 1) je v souladu s recentně publikovanými údaji o celkovém přežití pacientek léčených ve 2^oL systémovou léčbou, ať již chemoterapií (medián OS přibližně 10,3 měsíce) [24], nebo kombinací pembrolizumabu s lenvatinibem (medián OS 18,3 měsíce) [11]. Nejdelší medián specifického přežití byl v našem souboru zaznamenán u pacientek s opětovným podáním P-CHT ve 2. linii, a to v situacích, kdy byl předpoklad zachované citlivosti k platině. Rovněž u pacientek léčených pembrolizumabem samotným nebo v kombinaci s lenvatinibem přesahoval medián specifického přežití 20 měsíců. Naproti tomu u nemocných léčených neP-CHT režimy byl medián přežití výrazně kratší. Nejkratší medián přežití byl zaznamenán u pacientek, u nichž celkový stav po selhání P-CHT neumožňoval zahájení aktivní systémové léčby (obr. 2).

Obdobný trend vyšší účinnosti pro P-CHT a léčbu pembrolizumabem, ať již v monoterapii, nebo v kombinaci s lenvatinibem, oproti neP-CHT a HT lze pozorovat také při hodnocení maximální dosažené léčebné odpovědi napříč jednotlivými liniemi systémové terapie

(tab. 3). Největší benefit z léčby pembrolizumabem byl zaznamenán u pacientek s MMR-deficientními endometroidními karcinomy, nicméně i mezi ženami s MMR-proficientními nádory, jak endometroidního, tak non-endometroidního typu, byly při léčbě kombinací pembrolizumabu s lenvatinibem zaznamenány PR/CR (tab. 4). I přes známou vyšší toxicitu kombinace lenvatinibu s pembrolizumabem oproti chemoterapii byl v našem souboru počet ukončení léčby z důvodu nežádoucích účinků nízký a srovnatelný mezi chemoterapií a IT [11].

V rámci hodnocení klinického benefitu jednotlivých režimů systémové léčby byla u pacientek porovnávána TTP ve 2^oL s TTP po primární P-CHT. Zatímco u chemoterapie ve 2. linii, bez ohledu na použití platinového nebo neplatinového režimu, a hormonální léčby ve 2^oL byla u většiny pacientek zaznamenána výrazně kratší TTP než po primární P-CHT, u pacientek léčených ve 2^oL pembrolizumabem v monoterapii nebo v kombinaci s lenvatinibem byla celková TTP při této léčbě srovnatelná. U téměř poloviny pacientek byla TTP při léčbě pembrolizumabem, ať již samotným, nebo v kombinaci s lenvatinibem, dokonce delší než po primární P-CHT, což svědčí o jednoznačném klinickém benefitu této léčby. Jednalo se převážně o pacientky s MMR-deficientními endometroidními karcinomy, nicméně zastoupeny byly i ženy s MMR-proficientními non-endometroidními karcinomy. Přestože u většiny pacientek nebyl ve vyšších liniích zaznamenán významnější klinický benefit HT, u jedné nemocné bylo dosaženo kompletní remise, jejíž trvání výrazně přesáhlo TTP po primární P-CHT (obr. 3).

Při interpretaci výsledků této studie musí být zohledněno několik limitujících faktorů. Jedná se o retrospektivní unicevrickou analýzu s relativně omezeným počtem pacientek, přičemž soubor je charakteristický heterogenitou klinických parametrů i použitých léčebných režimů. Z těchto důvodů nebylo cílem práce provádět detailní statistické porovnání jednotlivých modalit systémové léčby, ale především popsat reálnou klinickou zkušenost s vyššími liniemi léčby u selektované skupiny nemocných. Dalším významným aspektem je časový

kontext sledovaného období, během něhož se možnosti systémové léčby karcinomu endometria zásadně vyvíjely. Inovativní léčebné přístupy, zejména IT a její kombinace s molekulárně cílenou léčbou, byly v průběhu většiny sledovaného období dostupné pouze v rámci klinických studií nebo na základě individuálního schválení. Žádná z pacientek zařazených do tohoto souboru nebyla léčena IT v rámci 1. linie systémové léčby, a to z důvodu nedostupnosti v daném časovém období. Hodnocené výsledky tak reflektují sekvenční podání IT až ve 2^oL systémové léčby v podmínkách běžné klinické praxe.

Závěr

Ačkoliv je prognóza pacientek s pokročilým nebo recidivujícím karcinomem endometria indikovaných ke 2^oL systémové léčby nepříznivá, aktivní léčebný přístup může přispět k prodloužení celkového přežití i zmírnění symptomů onemocnění. Naše výsledky potvrzují význam IT, ať již v monoterapii, nebo v kombinaci s molekulárně cílenou léčbou, která v podmínkách reálné klinické praxe přináší významný klinický benefit u části pacientek, a to nejen s MMR-deficientními nádory. Tento přínos je dosažen za cenu vyšší, avšak ve většině případů zvládnutelné toxicity. V individuálně vybraných případech může rovněž HT představovat smysluplnou a účinnou léčebnou možnost, která by neměla být v klinické praxi opomíjena. Volba optimální léčebné strategie ve vyšších liniích by měla být individualizovaná a zohledňovat nejen histologický typ nádoru a jeho molekulární charakteristiky, ale také celkový stav pacientky, rozsah a dynamiku onemocnění, efekt předchozí léčby a přítomnost případné reziduální toxicity. Sekvenční přístup k paliativní systémové léčbě zůstává klíčovým předpokladem pro maximalizaci klinického benefitu.

Dedikace

Podpořeno: MZČR-RVO (FNBr, 65269705).

Poděkování

Autoři děkují pracovníkům Oddělení studijní a projektové podpory Kliniky gynekologie, porodnictví a neonatologie FN Brno za metodickou podporu při přípravě a realizaci studie a za pomoc se zajištěním datových podkladů pro tuto analýzu.

Literatura

- Krejčí D, Mužík J, Šnábl I et al. Portál epidemiologie novotvarů v ČR. [online]. Dostupné z: <https://www.svod.cz/>.
- Linkos. Zhoubný novotvar těla děložního (C54). [online]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/personalizovana-onkologie/modra-kniha-cos/aktualni-vydani-modre-knihy/32-16-zhoubny-novotvar-tela-delozniho-c54/>.
- Concin N, Matias-Guiu X, Cibula D et al. ESGO-ESTRO-ESP Guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma: update 2025. *Lancet Oncol* 2025; 26(8): e423–e435. doi: 10.1016/S1470-2045(25)00167-6.
- van Wijk FH, Aapro MS, Bolis G et al. Doxorubicin versus doxorubicin and cisplatin in endometrial carcinoma: definitive results of a randomised study (55872) by the EORTC gynaecological cancer group. *Ann Oncol* 2003; 14(3): 441–448. doi: 10.1093/annonc/mdg112.
- Miller DS, Filiaci VL, Mannel RS et al. Carboplatin and paclitaxel for advanced endometrial cancer: final overall survival and adverse event analysis of a phase III trial (NRG oncology/gog0209). *J Clin Oncol* 2020; 38(33): 3841–3850. doi: 10.1200/JCO.20.01076.
- Postow MA, Callahan MK, Wolchok JD. Immune checkpoint blockade in cancer therapy. *J Clin Oncol* 2015; 33(17): 1974–1982. doi: 10.1200/JCO.2014.59.4358.
- Mirza MR, Chase DM, Slomovitz BM et al. Dostarlimab for primary advanced or recurrent endometrial cancer. *N Engl J Med* 2023; 388(23): 2145–2158. doi: 10.1056/NEJMoa2216334.
- Powell MA, Bjørge L, Willmott L et al. Overall survival in patients with endometrial cancer treated with dostarlimab plus carboplatin-paclitaxel in the randomized EN-GOT-EN6/GOG-3031/RUBY trial. *Ann Oncol* 2024; 35(8): 728–738. doi: 10.1016/j.annonc.2024.05.546.
- Eskander RN, Sill MW, Beffa L et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in advanced endometrial cancer. *N Engl J Med* 2023; 388(23): 2159–2170. doi: 10.1056/NEJMoa2302312.
- van Weelden WJ, Birkendahl PB, Lalisang RJ et al. The effect of progestin therapy in advanced and recurrent endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *BJOG* 2023; 130(2): 143–152. doi: 10.1111/1471-0528.17331.
- Makker V, Taylor MH, Aghajanian C et al. Lenvatinib plus pembrolizumab in patients with advanced endometrial cancer. *J Clin Oncol* 2020; 38(26): 2981–2992. doi: 10.1200/JCO.19.02627.
- O'Malley DM, Bariani GM, Cassier PA et al. Pembrolizumab in patients with microsatellite instability-high advanced endometrial cancer: results from the KEY-NOTE-158 study. *J Clin Oncol* 2022; 40(7): 752–761. doi: 10.1200/JCO.21.01874.
- Oaknin A, Gilbert L, Tinker AV et al. Safety and anti-tumor activity of dostarlimab in patients with advanced or recurrent DNA mismatch repair deficient/microsatellite instability-high (dMMR/MSI-H) or proficient/stable (MMRp/MSS) endometrial cancer: interim results from garnet-a phase I, single-arm study. *J Immunother Cancer* 2022; 10(1): e003777. doi: 10.1136/jitc-2021-003777.
- Creasman W. Revised FIGO staging for carcinoma of the endometrium. *Int J Gynaecol Obstet* 2009; 105(2): 109. doi: 10.1016/j.ijgo.2009.02.010.
- Bednaříková M, Hausnerová J, Minář L et al. Molecular testing of endometrial carcinoma in real-world clinical practice. *Klin Onkol* 2023; 36(3): 215–223. doi: 10.48095/ccko2023215.
- Eid M, Bednaříková M, Vláčný J et al. Real-world data from a molecular tumor board-assisted cancer care from a single center in the Czech Republic: Is precision oncology an accessible option, or a privilege for a minority of patients? *Cancer Med* 2025; 14(15): e71119. doi: 10.1002/cam4.71119.
- Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009; 45(2): 228–247. doi: 10.1016/j.ejca.2008.10.026.
- Krejčí D, Mužík J, Šnábl I et al. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. [online]. Dostupné z: <https://www.svod.cz>.
- Noer MC, Antonsen SL, Ottesen B et al. Type I versus type II endometrial cancer: differential impact of comorbidity. *Int J Gynecol Cancer* 2018; 28(3): 586–593. doi: 10.1097/IGC.0000000000001184.
- Cancer Genome Atlas Research Network, Kandoth C, Schultz N et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013; 497(7447): 67–73. doi: 10.1038/nature12113.
- Talhok A, McConechy MK, Leung S et al. A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers. *Br J Cancer* 2015; 113(2): 299–310. doi: 10.1038/bjc.2015.190.
- Vrede SW, Van Weelden WJ, Bulten J et al. Hormonal biomarkers remain prognostically relevant within the molecular subgroups in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2025; 192: 15–23. doi: 10.1016/j.ygyno.2024.10.028.
- Kommoss FK, Karnezis AN, Kommoss F et al. L1CAM Further stratifies endometrial carcinoma patients with no specific molecular risk profile. *Br J Cancer* 2018; 119(4): 480–486. doi: 10.1038/s41416-018-0187-6.
- Heffernan K, Nikitas FS, Shukla U et al. Previously treated recurrent or advanced endometrial cancer in england: a real-world observational analysis. *Gynecol Oncol* 2022; 166(2): 317–325. doi: 10.1016/j.ygyno.2022.06.011.

2.7 Současné principy diagnostiky a léčby karcinomu endometria – syntéza poznatků pro klinickou praxi

Karcinom endometria patří mezi nádory, u nichž rychlý rozvoj poznatků v oblasti diagnostiky a léčebných možností významně mění zavedené postupy v běžné klinické praxi. Rostoucí komplexita diagnostických a terapeutických algoritmů zvyšuje význam mezioborové komunikace a jednotné interpretace aktuálních doporučení odborných společností a současně klade vysoké nároky na kontinuální vzdělávání lékařů, kteří se podílejí na péči o pacientky s tímto onemocněním.

Pro optimální implementaci nových poznatků do rutinní péče je nezbytný jejich efektivní přenos nejen do center vysoce specializované péče, ale také zajištění návaznosti těchto center na regionální pracoviště. Významnou úlohu v tomto procesu mají odborné monografie, které na základě kritického zhodnocení dostupných důkazů poskytují systematické shrnutí současných diagnostických a terapeutických postupů a převádějí nové poznatky do podoby prakticky využitelné pro širokou odbornou veřejnost.

2.7.1 Vlastní přínos k problematice

V roce 2024 byla v monografii *Onkogynekologie*, editované prof. MUDr. Michalem Zikánem, Ph.D., publikována kapitola „Karcinom endometria“, která přináší ucelený přehled současných poznatků o diagnostice, stratifikaci rizika a léčbě pacientek s karcinomem endometria se zvláštním důrazem na implementaci molekulární klasifikace do klinické praxe a individualizaci léčebného přístupu.

Příloha 5: Karcinom endometria

BEDNAŘÍKOVÁ, Markéta; Vít WEINBERGER; Petra BRETOVÁ a Lucie EHRLICHOVÁ.. In ZIKÁN, Michal. *Onkogynekologie*. 1. vyd. Praha: Maxdorf, 2024, s. 159-176. Jessenius. ISBN 978-80-7345-786-0.

Typ příspěvku: kapitola v učebnici

Vlastní přínos autorky: koncepce a struktura kapitoly, kritické zhodnocení dostupných důkazů, syntéza současných poznatků, interpretace dat a doporučených postupů, příprava rukopisu a finální redakce textu.

Michal Zikán a kol.

ONKOGYNEKOLOGIE



- Markéta Bednaříková
- Zuzana Bielčíková
- Jiří Bouda
- Petra Bretová
- Tomáš Brtnický
- Olga Dubová
- Ladislav Dušek
- Vladimír Dvořák
- Lucie Ehrlichová
- Lenka Fricová

- Petra Herbolťová
- Laura Janáčková
- Pavel Kabele
- Jaroslav Klát
- Denisa Krejčí
- Ondřej Májek
- Markéta Malecová
- Radim Marek
- Ondřej Ngo
- Pavlína Nosková

- Petra Ovesná
- Zdeňka Pechačová
- Jiří Presl
- Mikuláš Redecha
- Borek Sehnal
- Jiří Sláma
- Zuzana Špůrková
- Karolína Votavová
- Vít Weinberger

maxdorf jessenius

12 KARCINOM ENDOMETRIA

Markéta Bednaříková, Vit Weinberger, Petra Bretová, Lucie Ehrlichová

ZÁKLADNÍ FAKTA

- Karcinom endometria je v zemích Evropy a severní Ameriky nejčastějším gynekologickým nádorem.
- Vyznačuje se zpravidla dobrou prognózou, která je podmíněna diagnostikou v časném stadiu u 70–80 % žen.
- Mezi hlavní rizikové faktory patří obezita a vyšší věk.
- Plošný ultrazvukový screening u asymptomatických žen není doporučen.
- Zásadní změny do diagnostiky i léčby přineslo zavedení molekulárního testování.

Úvod

Karcinom endometria představuje nejčastější histologickou variantou zhoubných nádorů dělohy. Každoročně je v České republice diagnostikováno kolem 2000 nových případů, s incidencí 33,9/100 000 žen v roce 2021, a přibližně 500 žen každý rok s touto diagnózou umírá (mortalita činí 6/100 000 žen). Maximum výskytu onemocnění je v období 6. a 7. decennia. Díky brzkému nástupu symptomů je většina případů diagnostikována v I. stadiu podle klasifikace FIGO, kdy se průměrné 5leté přežití pohybuje kolem 90 %. U pacientek diagnostikovaných ve vyšším stadiu nebo s tumory agresivního biologického chování ale prognóza 5letého přežití výrazně klesá.

KARCINOM ENDOMETRIA V ČÍSLECH (vztaheno k ČR)

- 5leté přežití bez ohledu na stadium: 81 %
- celoživotní riziko onemocnění: 2 %
- incidence: 35/100 000 žen
- mortalita: 6/100 000 žen
- rozložení stadií v době diagnózy podle FIGO:
 - ~ stadium I: 65 %
 - ~ stadium II: 9 %
 - ~ stadium III: 7 %
 - ~ stadium IV: 5 %
 - ~ stadium neurčeno: 14 %

12.1 RIZIKOVÉ FAKTORY

Známé rizikové faktory jsou asociovány s nejčastější variantou endometriálního karcinomu, tradičně označovaného jako karcinom prvního typu, který je estrogen dependentní a vzniká v terénu hyperplastického endometria:

- vyšší věk (>55 let)
- déletrvající estrogení stimulace endometria bez odpovídající hladiny gestagenů
- brzká menarché (před 12. rokem věku), pozdní menopauza (≥ 55 let), nuliparita, anovulace, syndrom polycystických ovarií
- obezita (větší konverze androstendionu na estron)
- vyšší příjem živočišných tuků a bílkovin
- diabetes mellitus II. typu, hypertenze
- hormonálně aktivní nádory ovaria
- dlouhodobé užívání tamoxifenu (u postmenopauzálních pacientek)
- imunodeficience a imunosuprese
- genetické predispozice (nejčastěji Lynchův syndrom)

Naproti tomu další histologické varianty, označované dříve jako karcinomy endometria druhého typu, mají etiopatogenezi nejasnou. Vznikají spíše v terénu atrofického endometria a nejsou asociovány s hyperestrinismem ani dalšími rizikovými faktory typickými pro prvního typ.

12.2 PATOLOGIE

WHO rozděluje karcinomy endometria na základě morfolického typu. Nejčastější typem je endometroidní adenokarcinom nízkého stupně diferenciacie (dříve dobře a středně diferencovaný; tj. grade 1 nebo 2), který je typickým představitelem prvního typu endometriálního karcinomu a vyznačuje se příznivým biologickým chováním se zpravidla vynikající prognózou. Mezi zástupce druhého typu s agresivnějším biologickým chováním i horší prognózou patří endometroidní adenokarcinom vysokého stupně diferenciacie (dříve špatně diferencovaný; tj.

Tabulka 12.1 Histologické typy karcinomu endometria

Histologický typ	Četnost (%)
endometriální adenokarcinom	80
serózní karcinom	< 10
světlobuněčný karcinom	< 10
nediferencovaný/dediferencovaný karcinom	2
ostatní (vzácné): smíšený karcinom, mezenchymální adenokarcinom, skvamózní karcinom, mucinózní karcinom (intestinální typ), mizanephrické adenokarcinom, karcinosarkom	-

grade 3) spolu s dalšími morfologickými typy (mezi jinými např. serózním, světlobuněčným nebo nediferencovaným/dediferencovaným karcinomem). Zjednodušené dělení karcinomů endometria je uvedeno v tabulce 12.1.

Kromě určení morfologického typu je nedílnou součástí patologického vyšetření stanovení přítomnosti lymfovaskulární invaze (LVSI), které má podobně jako histologický typ nádoru zásadní prognostický význam. Hodnocení LVSI se provádí v okolí nádoru a podle nejnovějších evropských doporučení z roku 2020 má být klasifikováno do tří stupňů:

- 1) nepřítomná
- 2) fokální (1–4 cévní prostory)
- 3) podstatná (≥ 5 cévních prostor)

Přítomnost podstatné LVSI je negativním prognostickým faktorem.

Zásadní posun do diagnostiky endometriálního karcinomu přineslo zavedení molekulárního testování, které spočívá ve vyšetření mutačního stavu genů *TP53*, *POLE* a systému MMR. Umožňuje rozdělit karcinomy do čtyř skupin s odlišným biologickým chováním a prognózou i v rámci téhož histologického typu:

- ***POLE* ultramutované** karcinomy představují přibližně 5–15 % všech karcinomů. Pro zařazení do této skupiny musí být v tumoru prokázána některá z definovaných „hot-spotových“ patogenních variant v exonu 9–14 exonukleázové domény genu *POLE* (DNA polymerázy ϵ) pomocí molekulárních vyšetřovacích metod, jako jsou např. sekvenování nové generace (NGS) nebo Sangerovo sekvenování. Ačkoliv se morfologicky zpravidla jedná o high-grade karcinomy s přítomnou podstatnou LVSI, vyznačují se velmi dobrou prognózou a při diagnostice v prvním nebo druhém klinickém stadiu je u nich samotná operace považována za dostatečný léčebný výkon.
- **MMR deficientní (dMMR/MSI-H)** karcinomy s četností 25–30 % jsou charakteristické alterací některého

z genů systému MMR, což má za následek kumulaci počtu mutací v důsledku chybného mechanismu oprav párování bázi během syntézy DNA. Deficience MMR se stanovuje pomocí imunohistochemického vyšetření proteinů MLH1, PMS2, MSH2, resp. MSH6. V případě nejednoznačné exprese je doporučeno doplnit některou z molekulárních metod umožňující detekci mikrosatelitní instability (MSI). Karcinomy MMR deficientní se vyznačují intermediární prognózou a díky vysoké mutační náloži zpravidla dobrou odpovědí na léčbu imunoterapií. U pacientek s MMR deficientními tumory je častější průkaz hereditární dispozice (minimálně 10 % oproti 3–5 % v rámci všech karcinomů).

- **p53 mutované** karcinomy tvoří cca 5–15 % všech karcinomů, vyznačují se nízkou mutační náloží a nejhorší prognózou. Samotný průkaz p53 mutovaného typu postačuje i při diagnóze v prvním stadiu (za předpokladu přítomnosti invaze karcinomu do myometria) pro zařazení do skupiny s vysokým rizikem, kdy je doporučována kromě chirurgického výkonu i adjuvantní léčba chemoterapií, v indikovaných případech i spolu s radioterapií. Vyšetření p53 se stanovuje primárně imunohistochemicky standardizovaným protokolem, který splňuje požadovaná kritéria vysoké senzitivity a specifity. Alternativou je vyšetření pomocí NGS umožňující stanovení mutačního stavu genu *TP53*.
- **Karcinomy s nespecifickým molekulárním profilem (NSMP)** představují nejpočetnější skupinu karcinomů (40–65 %), pro kterou je typická absence jednoznačného molekulárního charakteru. Představují velmi heterogenní skupinu karcinomů s rozličným biologickým chováním a vyznačují se intermediární prognózou.

12.3 KLINICKÝ OBRAZ

Díky časnému nástupu symptomatologie je u 75–80 % žen onemocnění v době diagnózy limitováno na dělohu. Pouze přibližně 10 % žen nemá v době diagnózy vyjádřeny žádné symptomy.

Subjektivní příznaky:

- krvácení z dělohy v postmenopauze
- nepravidelné, nadměrné nebo protažované krvácení u premenopauzálních žen
- méně časté: bolesti v podbřišku, břišní diskomfort, zvětšování objemu břicha a vyprazdňovací obtíže

Objektivní nálezy:

- ve vyšších stadiích onemocnění zvětšená děloha, málo pohyblivá, fixovaná v pánvi
- patologický korelát při gynekologickém UZ vyšetření (rozšířená sliznice endometria, porušená endomyometriální junkce, invaze do myometria postupující svaluvinou směrem k seróze, invaze tumoru do stromatu hrdla, při dopplerovském vyšetření patologické bohaté prokrvení tumoru, prokrvení tumoru z několika míst z myometria)

Na druhou stranu je potřeba mít na paměti, že pouze asi u 5–10 % žen je příčinou postmenopauzálního krvácení závažné onkologické onemocnění. Pravděpodobnost karcinomu jako příčiny krvácení v menopauze úměrně stoupá s věkem. Zatímco u žen mladší 50 let je to pouze 1 %, ve věku 55 let jsou to 3 % a u žen po 80. roku věku riziko stoupá až na 24 %.

Přibližně u 15 % žen je onemocnění diagnostikováno před nástupem menopauzy. Při patologickém premenopauzálním krvácení je obecně přítomnost karcinomu jako příčiny obtížnější ještě méně pravděpodobná než u postmenopauzálních žen, pohybuje se kolem 0,3 %. Mezi varující rizikové faktory pro možnou přítomnost karcinomu patří pozitivní rodinná anamnéza (tj. vícečetný výskyt zhoubných nádorů onemocnění v rodině), interkurentní obezita nebo syndrom polycystických ovarií.

Další obtíže jako bolesti v podbřišku, zvětšování obvodu břicha, břišní diskomfort nebo obtíže s vyprazdňováním patří již mezi příznaky pokročilého onemocnění a jako první se vyskytují pouze vzácně.

12.4 DIAGNOSTIKA

ZÁKLADNÍ FAKTA

- Až 90 % všech případů je diagnostikováno u žen starších 50 let.
- Cca 75 % žen má onemocnění v době diagnózy limitováno na dělohu.
- Charakteristickým příznakem je patologické děložní krvácení, které je vyjádřeno u 90 % žen.
- Základní vyšetřovací metodou je ultrazvukové vyšetření.
- Diagnóza je zpravidla stanovena na základě histopatologického vyšetření vzorku děložní sliznice indikovaného v návaznosti na ultrazvukový nálezy u symptomatických žen.
- Nádorové markery mají význam při monitoraci efektu léčby, nikoliv pro stanovení diagnózy.

Diagnózu karcinomu endometria je možné stanovit pouze na základě histopatologického vyšetření, a to nejčastěji ze vzorku endometria odebraného při diagnostickém výkonu indikovaném v návaznosti na UZ nálezy u symptomatických žen. Méně častý je náhodný nálezy karcinomu po provedení hysterektomie z neonkologické příčiny.

12.4.1 Ultrazvukové vyšetření

U žen s patologickým děložním krvácením je na prvním místě indikováno provedení transvaginálního UZ vyšetření, které umožní detailní zhodnocení endometria, myometria, děložního hrdla a okolí dělohy. Pro popis UZ nálezu je doporučeno využívat terminologii IETA (International Endometrial Tumor Analysis, viz kap. 7 Ultrazvuková diagnostika). V případě patologického nálezu v oblasti endometria je možno vyslovit podezření na patologii v děložní dutině a indikovat provedení biopsie vedoucí ke stanovení definitivní diagnózy. U postmenopauzálních pacientek s patologickým krvácením je možno indikovat biopsii od šíře endometria ≥ 4 mm, je ale nutno počítat s nízkou specificitou UZ vyšetření pro diagnózu endometriálního karcinomu. Podíl falešně pozitivních UZ nálezu s následným negativním výsledkem histologického vyšetření klesá úměrně se zvětšující se šíří endometria. Naopak negativní UZ nálezy nízké, dobře ohraničené, homogenní a hyperechogenní sliznice o šíři ≤ 3 mm vylučuje přítomnost karcinomu s až 99 % negativní prediktivní hodnotou. U premenopauzálních žen s patologickým děložním krvácením je indikováno provedení biopsie vždy u žen ve věku ≥ 45 let; u mladších žen pak v situacích, kdy je pozitivní rodinná nebo osobní anamnéza, případně při přetrvávajícím krvácením nereagujícím na farmakologickou léčbu.

12.4.2 Další vyšetřovací metody

Alternativou UZ vyšetření expertním sonografistou je MR pánve umožňující rovněž stanovení rozsahu invaze do myometria, postižení děložního hrdla a posouzení stavu adnex, resp. regionálních lymfatických uzlin. Vyšetření CT hrudníku, břicha a pánve (nebo v indikovaných případech vyšetření hybridní zobrazovací metodou PET/CT, resp. PET/MR) se provádí k vyloučení přítomnosti vzdálených metastáz, a to zejména u tumorů s vysokým stupněm diferenciací (tzv. high-grade karcinomy), případně u pacientek s incidentálním nálezem karcinomu po operaci z neonkologického případu, jsou-li přítomny další rizikové faktory (tj. invaze do myometria nad 50 %,

postižení stromatu cervixu, průkaz podstatné LVSI nebo high-grade karcinomu).

Nedílnou součástí vyšetřovacího algoritmu je rovněž detailní odběr anamnézy zaměřený na historii výskytu zhoubných nádorových onemocnění v rodině, přítomnost závažných interkurentních onemocnění, anamnézu předchozích břišních operací a zhodnocení sociálního zázemí. Zásadní při zvažované operační léčbě je orientační posouzení fyzické a mentální zdatnosti, resp. vyhodnocení výsledků základních laboratorních testů (krevní obraz, biochemie).

Další vyšetřovací metody (jako např. kolonoskopie nebo cystoskopie) by měly být indikovány v situacích, kdy jejich výsledek změni léčebný přístup.

12.4.3 Význam nádorových markerů

V klinické praxi je při známé diagnóze karcinomu endometria možné využít stanovení sérových nádorových markerů CA125 a HE4, a to zejména u pokročilejších stadií nebo v případě vysokého rizika recidivy jako výchozí hodnotu pro následnou monitoraci efektu léčby. Potenciální využití dalších markerů asociovaných s endometriálním karcinomem je předmětem klinického výzkumu.

12.4.4 Stanovení diagnózy – patologické vyšetření

Ke stanovení diagnózy je zapotřebí odběr reprezentativního vzorku děložní sliznice. Metodou první volby je hysteroskopie s odběrem vzorku pod znakovou kontrolou, u velkoobjemových tumorů nebo při silném krvácení je možné provést frakcionovanou kyretáž či ambulantně aspiraci vzorku endometria pipellou. Nezbytnou součástí patologického vyšetření v rámci diagnostického výkonu je stanovení histologického typu a stupně diferenciace tumoru, které jsou vedle výsledků klinického vyšetření a zobrazovacích metod zásadními faktory ovlivňujícími volbu správné léčebné strategie.

Definitivní histopatologické vyšetření po operační léčbě musí vedle histologického typu a gradingu tumoru obsahovat rovněž vyhodnocení přítomnosti nebo absence LVSI a stanovení patologického stagingu (tj. rozsahu postižení, viz kap. 3 Principy histopatologického vyšetření). Molekulární testování by mělo být provedeno vždy, kdy jeho výsledek u konkrétní pacientky ovlivní diagnosticko-léčebný postup. Všechny pacientky operované pro karcinom endometria by tak měly mít vyšetření p53 (pro vyloučení vysokého rizika recidivy) a optimálně i MMR

status (pro identifikaci pacientek ve zvýšeném riziku hereditární dispozice). Pacientky diagnostikované v prvním a ve druhém stadiu onemocnění nesplňující kritéria pro nízké riziko (tj. vždy s výjimkou endometroidního karcinomu nízkého gradu nepřesahujícího polovinu síly myometria) by měly mít vyšetřen i status *POLE*, což umožní v případě průkazu *POLE* ultramutovaného typu nezatěžovat pacientku adjuvantní léčbou, která by jinak byla indikována. Vyšetření mutačního stavu genů *POLE* a MMR je nutné také vždy při průkazu mutace *TP53* vzhledem k existenci karcinomu označovaných jako „multiple classifiers“, kdy je mutace *TP53* sekundární (nikoliv driverová) při *POLE*-ultramutačním stavu nebo MMR deficienci.

Chyby v diagnostice:

- podcenění příznaků u premenopauzálních žen vedoucí k oddálení diagnózy
- nekvalitně provedené ultrazvukové vyšetření
- nerespektování zásad pro indikaci biopsie
- falešně negativní výsledek separované abraze podmiňený technikou odběru
- patologické vyšetření nezohledňující současnou terminologii, resp. s chybějícími parametry nezbytnými pro stanovení míry rizika recurence

12.5 GENETICKÉ VYŠETŘENÍ

Většina karcinomů endometria vzniká na podkladě sporadických mutací, přibližně 3 % všech onemocnění jsou podmíněna geneticky. Nejčastější příčinou dědičné formy je syndrom hereditárního nepolypózního kolorektálního karcinomu (tzv. HNPCC; resp. Lynchův syndrom), pro který je charakteristická zděděná patogenní varianta v některém z genů MMR systému (tj. genů *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* nebo *PMS2*). Na rozdíl od běžné populace žen s celoživotním rizikem vzniku karcinomu endometria okolo 3 % se toto riziko u zdravých žen s Lynchovým syndromem pohybuje mezi 40 a 60 % a významně narůstá od 40. roku věku. Podíl žen s hereditární formou endometriálního karcinomu významně narůstá u MMR deficientních tumorů, kde se pohybuje kolem 10 %. Všechny ženy s MMR deficientními tumory by proto měly být screenovány ve snaze o identifikaci pacientů s hereditárními karcinomy.

Vzácnější geneticky podmíněnou příčinou vzniku karcinomu endometria je Cowdenův syndrom, vyznačující se patogenní variantou v tumor supresorovém genu *PTEN*. U zdravých žen s Cowdenovým syndromem se celoživotní riziko vzniku karcinomu endometria pohybuje

je v rozmezí 20–30 %. Zvýšené riziko vzniku serózního karcinomu se někdy popisuje v rámci syndromu dědičného karcinomu prsu a vaječníků (HBOC – hereditary breast and ovarian cancer), který vzniká na podkladě vrozené patogenní varianty v genech *BRCA1* nebo *BRCA2*.

Pro hereditární karcinomy je typický vznik přibližně o 10–20 let dříve než u sporadických forem. Vedle žen s MMR deficientními tumory by proto měla být nabídnuta genetická konzultace rovněž ženám s karcinomem endometria diagnostikovaným před 50. rokem věku, zvláště pak při anamnéze opakovaného výskytu zhoubných nádorů u pokrevních příbuzných prvního nebo druhého stupně.

12.6 SCREENING

Díky celkově příznivé prognóze onemocnění podmíněné vedle diagnostiky většiny případů v časném stadiu i převahou méně agresivních histologických typů nepatří karcinom endometria mezi ideální kandidáty pro plošný populační screening, a to i přes širokou dostupnost zdánlivě ideální screeningové metody, tedy vaginálního UZ vyšetření.

Zásadním problémem je nízká specificita vyšetření vaginálním UZ, která vede k neúměrnému navýšení počtu biopsií (a s nimi souvisejících potenciálních rizik) indikovaných pro UZ nález patologie endometria u asymptomatických žen. Při prokázané prevalenci 0,62 % je riziko přítomnosti karcinomu endometria u postmenopauzálních žen bez přítomného patologického děložního krvácení velmi nízké a náhodné diagnostikování tumoru u těchto pacientek nijak nezlepšuje jejich celkové přežití. Za hranici vhodnou k indikaci biopsické verifikace byla u asymptomatických žen v postmenopauze doporučena výška endometria > 11 mm, kdy je riziko přítomnosti karcinomu srovnatelné jako u pacientky s krvácivými symptomy při výšce endometria 4–5 mm. Při nižším endometriu a absenci symptomatologie je biopsie vhodná pouze v případě přítomnosti rizikových UZ markerů, jako jsou vysoká vaskularizace, porušení endomyometrální junky a non-uniformní endometrium.

Celoplošné provádění screeningu karcinomu endometria u žen bez vyjádřených symptomů se jednoznačně nedoporučuje, a to ani v případě silné obezity a s tím souvisejícího metabolického syndromu nebo u žen např. s anamnézou syndromu polycystických ovaríí. Mezi naprosto zásadní screeningová opatření tak patří edukace žen registrovaným gynekologem o nutnosti včasného vyšetření v případě objevení se potíží, které mohou (ale taky nemusí) signalizovat přítomnost zhoubného nádoru

dělohy, tedy jakéhokoliv krvácení, špinění nebo naružovělého výtoku v postmenopauze, resp. silného, neobvykle dlouhého nebo nepravidelného krvácení v premenopauzálním období. V takovém případě je pak zapotřebí provést v co možná nejkratším čase gynekologické vyšetření včetně vaginálního UZ a na základě nálezů spolu s vyhodnocením anamnestických údajů případně indikovat odběr vzorku děložní sliznice k histologickému vyšetření.

Přístup k selektivnímu screeningu u postmenopauzálních žen dlouhodobě užívajících tamoxifen po léčbě karcinomu prsu, které mají riziko vzniku karcinomu endometria v průměru 2,5× vyšší než běžná populace, není celosvětově jednotný. Riziko se zvyšuje s délkou užívání tamoxifenu a přetrvává i po ukončení léčby. Racionální využití vaginálního UZ spočívá v důkladném vstupním vyšetření před zahájením léčby tamoxifenem spolu s vyhodnocením všech přítomných rizik pro vznik karcinomu endometria. V případě negativního nálezu je možné začít pacientky každoročně vyšetřovat vaginálním UZ až od 3. roku užívání tamoxifenu, i když přínos UZ screeningu pro časný záchyt karcinomu nebo jeho prekursorových lézí nebyl ani u této skupiny žen jednoznačně prokázán. Zásadní je opět důkladné poučení pacientek o nutnosti hlásit přítomnost krvácení nebo špinění z dělohy, při kterém je nutno provést biopsii děložní sliznice nejlépe hysteroskopicky.

Ani u žen s dědičnou dispozicí ke vzniku karcinomu endometria nebyl význam screeningu jednoznačně prokázán. U těchto žen navíc karcinom endometria vzniká často ještě v premenopauzálním období. Podle evropských doporučení by ženy s prokázanou hereditární dispozicí měly být sledovány jednou ročně pomocí transvaginálního UZ (preferenčně expertním sonografistou) a od 35 let podstoupit jednou za rok až dva biopsie endometria pipelou nebo hysteroskopií. Při abnormálním děložním krvácení je namísto provedení biopsie i mimo tento interval. Pacientkám by měla být nabídnuta profylaktická hysterektomie s bilaterální adnexektomií po dokončení reprodukčních plánů (preferenčně do 40 let) jako prevence vzniku karcinomu endometria i ovaríí. U premenopauzálních žen by pak měla být zvažena estrogení substituční terapie.

12.7 STAGING

Rozsah nádoru a určení stadia onemocnění se stanovuje prostřednictvím systému TNM a klasifikace FIGO. Zatímco klinická klasifikace (cTNM) je stanovována na základě klinického vyšetření a výsledku zobrazo-

Tabulka 12.2 Klasifikace karcinomu endometria – TNM (2018) a FIGO (2009)

TNM	Subkategorie TNM	FIGO	Definice
Tx			stadium primárního tumoru nelze hodnotit
T0			bez známek primárního nádoru
T1		I	nádor omezen na děložní tělo
	T1a	IA	nádor omezen na endometrium nebo postihuje < 1/2 tloušťky myometria
	T1b	IB	nádor postihuje ≥ 1/2 tloušťky myometria
T2		II	nádor postihuje cervikální stroma
T3		III	lokální a/nebo regionální šíření
	T3a	IIIA	nádor postihuje serózu dělohy nebo adnexa
	T3b	IIIB	postížení pochvy nebo parametří
NX			regionální mízní uzliny nelze hodnotit
N0			v regionální mízních uzlinách nejsou metastázy
	N0(+)		izolované nádorové buňky v regionálních mízních uzlinách (≤ 0,2 mm)
N1		IIIC1	metastáza v pánevních mízních uzlinách
	N1mi	IIIC1	mikrometastáza v pánevních mízních uzlinách (> 0,2 mm, ≤ 2,0 mm)
	N1a	IIIC1	metastáza v pánevních mízních uzlinách (> 2,0 mm)
N2		IIIC2	metastáza v paraaortálních mízních uzlinách ± metastáza v pánevních mízních uzlinách
	N2mi	IIIC2	mikrometastáza v paraaortálních mízních uzlinách (> 0,2 mm, ≤ 2,0 mm) ± metastáza v pánevních mízních uzlinách
	N2a	IIIC2	metastáza v paraaortálních mízních uzlinách (> 2,0 mm) ± metastáza v pánevních mízních uzlinách
T4		IVA	nádor postihuje močový měchýř/slivnici střeva
M0			nejsou vzdálené metastázy
M1		IVB	vzdálené metastázy včetně intraabdominálních metastáz a/nebo inguinálních mízních uzlin

vacích metod, patologickou klasifikaci (pTNM, resp. FIGO) stanovuje patolog na základě vyšetření tkání odebraných během operace. Stanovení stagingu je nezbytným krokem determinujícím spolu s celkovým stavem pacientky léčebný přístup. Doporučení pro obligatorní stagingová vyšetření zohledňují mimo jiné histologický typ tumoru (u serózních karcinomů nebo karcinosarkomů je v době diagnózy detekovatelné extrauterinní šíření až ve 40–50 % případů), rozsah postižení primárního tumoru podle UZ vyšetření a celkový stav pacientky (tab. 12.2).

Stagingová vyšetření u postmenopauzálních i premenopauzálních žen s diagnózou stanovenou na základě biopsie endometria a bez indikace k fertilitě zachovávajícímu postupu:

- obligatorní:
 - komplexní klinické vyšetření s podrobnou anamnézou cílenou na rizikové faktory a závažné interku-

rentní onemocnění (včetně případné předchozí malignity a její léčby) a fyzikálním vyšetřením vč. údaje o BMI

- základní laboratorní vyšetření (krevní obraz, biochemický rozbor krve)
- transvaginální (nebo transrektální) a transabdominální UZ provedený expertním sonografistou
- MR pánve (alternativa k expertnímu UZ vyšetření)
- RTG plic (na zvláštění u pacientek s low-grade tumory)
- CT vyšetření plic, břicha, a pánve (při podezření na extrauterinní šíření dle UZ/MR nebo RTG vyšetření, resp. u high-grade tumorů)
- fakultativní:
 - hybridní PET/CT nebo PET/MR vyšetření (nejsou-li CT, resp. MR a expertní UZ dostatečně konkluzivní)
 - nádorové markery CA125 a HE4 (u pacientek s vysokým rizikem recidivy k monitoraci efektu léčby)

- případná další vyšetření dle zvažení ošetřujícího lékaře, resp. nálezů (rektoskopie, kolonoskopie, cystoskopie atd.)
- genetická konzultace (u MMR deficientních tumorů nebo při pozitivní rodinné anamnéze)
- posouzení mentální a fyzické kondice, resp. sociálního zázemí u geriatrických patientek

Stagingová vyšetření u premenopauzálních žen s předpokladem fertilitu zachovávaného postupu:

- MR pánve nebo expertní UZ vyšetření
- RTG plic, případně doplnění CT plic dle nálezu

Stagingová vyšetření při náhodném nálezu karcinomu po hysterektomii indikované pro neonkologickou diagnózu (zejména nebyla-li součástí výkonu adnexektomie):

- MR pánve
- RTG plic (u karcinomu asociovaných s nízkým rizikem recidivy)
- CT břicha +/- CT plic

12.8 PROGNOSTICKÉ SKUPINY PODLE RIZIKA RECIDIVY ONEMOCNĚNÍ

Co možná nejpřesnější predikce rizika recidivy v době diagnózy je naprosto zásadní pro volbu správné léčebné strategie, a to jak z hlediska adekvátního rozsahu chirurgické léčby, tak i z hlediska indikace případné adjuvantní léčby. Mezi standardně užívané prognostické faktory rozděluje pacientky do jednotlivých rizikových skupin patří stadium onemocnění v době diagnózy, histologický typ a grading tumoru, přítomnost podstatné LVSI a nově také vyšetření genů *POLE* a *TP53*. Vzhledem ke zvýšeným finančním nákladům souvisejících s molekulárním testováním, jehož plošné stanovování nemusí být běžně dostupné, definují současná evropská doporučení jednotlivé rizikové skupiny jak pro situace se známým výsledkem molekulárního testování (a tedy vyšetřením

■ Tabulka 12.3 Rozdělení patientek do prognostických skupin podle míry rizika onemocnění

Riziko recidivy	Molekulární klasifikace neznámá	Molekulární klasifikace známá
nízké	• IA endometroidní + low-grade + LVSI negat./fokálně	• I–II <i>POLE</i> mut, bez reziduálního onemocnění • IA <i>dMMR/NSMP</i> endometroidní + low-grade + LVSI negat./fokálně
střední	• IB endometroidní + low-grade + LVSI negat./fokálně • IA endometroidní + high-grade + LVSI negat./fokálně • IA non-endometroidní (serózní, světlolobučný, nediferencovaný, karcinosarkom, smíšený) bez invaze do myometria	• IB <i>dMMR/NSMP</i> endometroidní + low-grade + LVSI negat./fokálně • IA <i>dMMR/NSMP</i> endometroidní + high-grade + LVSI negat./fokálně • IA <i>p53</i> abn a/nebo non-endometroidní (serózní, světlolobučný, nediferencovaný, karcinosarkom, smíšený), bez invaze do myometria
vyšší střední	• stadium I endometroidní + LVSI podstatná, bez ohledu na grade a invazi do myometria • IB endometroidní + high-grade, bez ohledu na LVSI • stadium II	• stadium I <i>dMMR/NSMP</i> endometroidní + LVSI podstatná, bez ohledu na grade a invazi do myometria • IB <i>dMMR/NSMP</i> endometroidní + high-grade, bez ohledu na LVSI • stadium II <i>dMMR/NSMP</i> endometroidní
vysoké	• III–IVA, bez reziduální nemoci • I–IVA non-endometroidní (serózní, světlolobučný, nediferencovaný, karcinosarkom, smíšený) s invazí do myometria, R0 resekce	• III–IVA <i>dMMR/NSMP</i> endometroidní, bez reziduálního onemocnění • I–IVA <i>p53</i> abn s invazí do myometria, R0 resekce • I–IVA <i>dMMR/NSMP</i> serózní, karcinosarkom nebo nediferencovaný karcinom, s invazí do myometria, R0 resekce
pokročilý/metastatický	• III–IVA s reziduálním onemocněním po operačním výkonu • IVB	• III–IVA s reziduálním onemocněním po operaci, jakýkoliv molekulární typ • IVB jakýkoliv molekulární typ

Vysvětlivky: I, IA, IB, II, III, IVA, IVB – stadia dle klasifikace TNM nebo FIGO; LVSI – lymfovaskulární invaze, low-grade – karcinom s nízkým stupněm diferenciací (grade 1 nebo 2), high-grade (karcinom s vysokým stupněm diferenciací (grade 3), R0 – nulové makroskopické residuum, *POLE*mut – *POLE* ultrasonusovaný typ, *dMMR* – MMR deficientní (synonymum mikrosatelitní instability) typ, *NSMP* – karcinom s nespecifickým molekulárním profilem, *p53* – *p53*, mutovaný typ

genů *POLE*, resp. *TP53*), tak i pro situace, kdy výsledky molekulárního testování k dispozici nejsou (tab. 12.3).

Stanovení genů systému MMR v současnosti volbu primární léčby neovlivňuje, podobně jako vyšetření dalších markerů s prokázaným prognostickým významem, mezi které patří např. L1CAM, estrogenové a progesteronové receptory u tumorů s nespecifickým molekulárním profilem, resp. HER2 status nebo vyšetření genů systému homologní rekombinace u p53 mutovaných karcinomů. Začlenění těchto a případně dalších markerů umožňujících ještě přesnější stratifikaci pacientek podle míry rizika recidivy lze očekávat v brzké době v návaznosti na výsledky aktuálně probíhajících klinických studií.

12.9 LÉČBA

ZÁKLADNÍ FAKTA

- Základní léčebnou metodou je chirurgická léčba, a to minimálně v rozsahu extrafasciální hysterektomie s bilaterální adnexektomií.
 - » zachování ovarií je možné zvážit u žen mladších 45 let s příznivými prognostickými vlastnostmi nádoru a bez genetické predispozice
 - » radikální hysterektomie se provádí pouze za účelem dosažení zdánlivých okrajů
 - » staging lymfatických uzlin je prováděn metodou detekce sentinelové uzliny, případně provedením systematické pánevní a paraaortální lymfadenektomie
- Doporučení případné adjuvantní léčby závisí na zařazení do příslušné skupiny podle míry rizika recidivy.
- Samostatná radioterapie je alternativou pro pacientky kontraindikované k operačnímu výkonu nebo pro lokálně pokročilá inoperabilní stadia.
- V rámci systémové léčby je k dispozici chemoterapie, hormonální léčba a molekulárně cílená biologická léčba.

Zásadní léčebnou modalitou je operační výkon, který má rovněž stagingový význam. Pokud lze, je v časném stadiu preferován výkon minimálně invazivní, a to včetně karcinomů asociovaných s vysokým rizikem.

Další postup po operaci pak závisí na míře rizika recidivy onemocnění, která je stanovována na základě výsledku histologického vyšetření (klasifikace pTNM nebo FIGO, morfologický typ karcinomu a grading, přítomnost nebo absence podstatné LVSI, případně i status *TP53* a *POLE*) a rozsahu operačního výkonu. U pacientek s nízkým rizikem je za dostačující léčbu považován samotný operační výkon, protože riziko recidivy je u nich velmi nízké (< 5%). Od středního rizika je doporučována

adjuvantní radioterapie (s cílem redukce rizika lokálních recidiv), chemoterapie (ve snaze o snížení rizika vzniku vzdálených metastáz), případně kombinace obou metod. Stanovení nových markerů *TP53* a *POLE* zavedených v rámci molekulárního testování může podle současných evropských doporučení významně ovlivnit zařazení pacientek do jednotlivých prognostických skupin. Zatímco pacientky s *POLE* ultramutovanými tumory jsou i při průkazu invaze karcinomu přes polovinu myometria, postižení cervixu, vyšší grade nebo přítomnost podstatné LVSI zařazeny do skupiny s nízkým rizikem bez nutnosti adjuvantní léčby, pacientky s p53 mutovanými tumory při prokázání invazi karcinomu do myometria automaticky spadají do skupiny s vysokým rizikem, a to bez ohledu na další prognostické parametry (včetně stadia).

Pokud není operační výkon možný (např. z důvodu celkového stavu pacientky), je u lokalizovaných forem zvažována na prvním místě radioterapie. Není-li ani radioterapie možnou variantou (např. z důvodu rozsahu postižení), lze pacientce nabídnout systémovou hormonoterapii nebo chemoterapii, jejichž léčebný záměr je v této klinické situaci vždy paliativní.

Terapeutický postup u pokročilých nebo recidivujících karcinomů endometria by měl být vždy projednán v rámci multidisciplinárního týmu ve specializovaných centrech s cílem stanovení optimální sekvence léčebných modalit po zohlednění rozsahu onemocnění, molekulárního profilu nádoru, předchozí léčby i celkového stavu pacientky. Velkým přínosem je možnost léčby v rámci klinických studií, která umožňuje pacientkám dostupnost nejnovějších léčiv a léčebných postupů.

12.9.1 Chirurgická léčba

12.9.1.1 OPERAČNÍ LÉČBA ČASNÉHO KARCINOMU ENDOMETRIA (FIGO I–II)

Extrafasciální hysterektomie s bilaterální adnexektomií představují standardní operační výkon u pacientek s časným karcinomem endometria. Za účelem stagingu lymfatických uzlin je do klinické praxe zaveden koncept sentinelové uzliny, v indikovaných případech je provedena pánevní a paraaortální lymfadenektomie či totální omentektomie. Dříve standardně prováděná peroperační laváž nemá od roku 2009 ve klasifikaci FIGO svůj prognostický korelát, a proto není součástí stagingového operačního výkonu pro karcinom endometria. Nad jejím prognostickým významem se uvažuje jen u non-endometroidních typů karcinomu děložního těla.

Preferuje-li pacientka postup zachovávající fertilitu, je u příznivého histologického typu a stadia IA

omezeného na endometrium možná hysteroskopická resekce tumoru s následnou hormonální terapií perorálními gestageny. Pacientka je pak sledována ve tříměsíčních intervalech, po půl roce se hysteroskopie zopakuje a v případě histologicky potvrzené remise onemocnění je pacientce doporučeno naplnění reprodukčních plánů v co možná nejkratší době s následným provedením výkonu v rozsahu hysterektomie s bilaterální adnexektomií. V případě neuspokojivé odpovědi na hormonální léčbu je indikována standardní chirurgická léčba bez dalšího odkladu.

12.9.1.2 OPERAČNÍ PŘÍSTUP

Jednoznačný trend miniinvasivního operování za účelem snížení časné i pozdní pooperační morbididy při současném zachování onkologické bezpečnosti operačního výkonu zasáhl samozřejmě i oblast léčby karcinomu endometria. Data z nejnovější metaanalýzy Cochrany databáze ukazují, že není rozdíl v celkovém přežití a přežití bez recidivy u pacientek, které podstoupily laparoskopickou nebo abdominální hysterektomii. Naopak je prokázána kratší doba hospitalizace a menší krvní ztráta u laparoskopicky operovaných pacientek. Některé studie pak poukazují na rozdíl ve výskytu středně těžkých a závažných pooperačních komplikací v neprospěch laparotomie. Ve studii LAP2, kde bylo randomizovaně zařazeno 1696 pacientek do laparoskopické a 920 do laparotomické větve, byl výskyt pooperačních komplikací 14 vs. 21 %. Nejvýraznější rozdíly byly ve vzniku pooperačního ileu (4 vs. 7 %) a infekčních komplikací vyžadujících aplikaci intravenózních antibiotik (8 vs. 13 %).

Díky moderním laparoskopickým nástrojům je tradiční laparoskopicky asistovaná vaginální hysterektomie (superiorní či inferiorní typ) čím dál častěji nahrazována totální laparoskopickou hysterektomií, kdy je celá děloha odstraněna laparoskopicky včetně sutury poševního

pahýlu (obr. 12.1). Záleží však na konkrétním pracovišti a operátorovi, kterou variantu si zvolí. Onkologické výsledky a rozdíly mezi jednotlivými typy nebyly publikovány.

Některá onkogynekologická centra mají možnost roboticky asistovaného operování, což představuje nejnovější trend v chirurgické terapii. Rozsáhlá metaanalýza prokázala, že roboticky asistovaná operace provedená zkušeným onkogynologem má v případě karcinomu endometria ještě lepší výsledky než standardní laparoskopie. A to zejména v délce hospitalizace, výši krvní ztráty, počtu získaných lymfatických uzlin, nutnosti konverze v laparotomii a celkového počtu komplikací. Nevýhodou jsou vysoké pořizovací náklady na vybavení. Nutné je ovšem podotknout, že v současnosti je karcinom endometria jedinou gynekologickou malignitou, kterou lze bezpečně a kompletně radikálně operovat laparoskopicky či s asistencí robota.

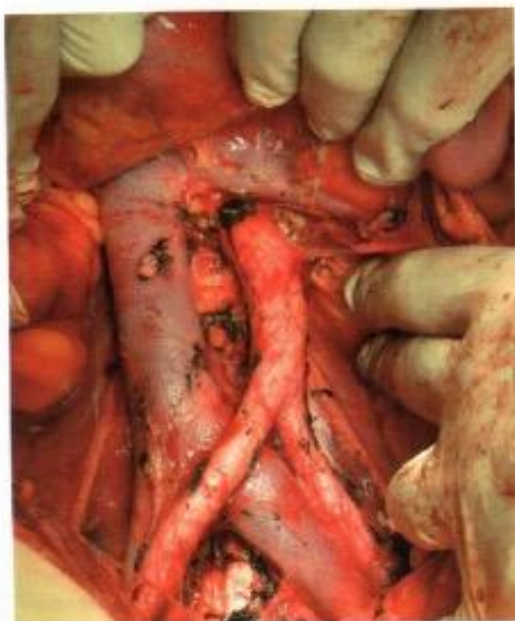
Vaginální přístup je méně vhodný zejména pro nemožnost aspekce dutiny břišní k vyloučení případných metastatických ložisek. Z vaginálního přístupu také nelze provést kompletní stagingovou operaci ve smyslu uzlinového stagingu a/nebo omentektomie. Jedná se o přístup, který je volen jako varianta u symptomatických a polymorbidních pacientek, které by operační výkon laparotomicky či laparoskopicky v Trendelenburgově poloze či jinak v celkové anestezii nemohly absolvovat. Operace je vedena za účelem odstranění symptomů (krvácení) a provádí se s výhodou ve svodné anestezii.

12.9.1.3 PÁNEVNÍ A PARAAORTÁLNÍ LYMFADENEKTOMIE, SENTINELOVÉ UZLINA

Ve stagingu lymfatických uzlin došlo ke skutečné revoluci. V minulosti byla u všech pacientek v rámci stagingového výkonu prováděna jen pánevní systematická lymfadenektomie. Vzhledem k anatomii cévně-lymfatického zásobení dělohy je ale jasné, že spádové uzliny pro karcinom endometria zasahují i paraaortálně, a proto byl výkon rozšířen o tuto oblast. Pánevní lymfadenektomie se provádí oboustranně z povodí zevních ilických cév, obturatorní fosy, společných ilických cév a presakrální oblasti. Nad hranicí malé pánve se tukové lymfatické tkáň odstraňuje systematicky z parakavální, interaortokavální a paraaortální oblasti až do výše levé renální žíly. Při lymfadenektomii šetříme odstup a. mesenterica inferior z abdominální aorty (obr. 12.2). Terapeutický význam aortopelvicke lymfadenektomie je však sporný a podle nejnovějších evropských doporučení je preferovanou metodou stagingu lymfatických uzlin biopsie sentinelových uzlin. Ta by měla být zvážena u tumorů s nízkým nebo středním rizikem recidivy, vynechána může být



Obr. 12.1 Laparoskopická sutura poševního pahýlu vstřebatelným pokračujícím stehem V-Lock



Obr. 12.2 Stav po provedené pánvevní a paraaortální lymfadenektomii až po úrovni renálních žil se zachováním odstupe arteria mesenterica inferior z abdominální aorty

u případů bez myometrální invaze. Systematická lymfadenektomie v této skupině není doporučena. U tumorů omezených na dělohu ze skupiny vyššího středního nebo vysokého rizika je biopsie sentinelové uzliny přijatelnou alternativou k systematické lymfadenektomii. V případě nenalezení sentinelové uzliny se provádí stranové specifická pánvevní lymfadenektomie. Preferovanou metodou je intracervikální aplikace fluorescenčního barviva (indocyanová zeleň). Vyšetření sentinelových uzlin se provádí metodou patologického ultrastagingu.

12.9.1.4 RADIKÁLNÍ HYSTEREKTOMIE

U pacientek s postižením cervikálního stromatu (FIGO II) se nabízí jako operační technika provedení radikální hysterektomie (tedy kromě odstranění samotné dělohy také odstranění určité části parametří). V recentních studiích však nebyl prokázán pozitivní vliv tohoto výkonu na prognózu a přežití pacientek oproti extrafasciální hysterektomii (radikalita typu A). Naopak parametrektomie má více závažných peri- a pooperačních komplikací, lepší výsledky přináší v tomto stadiu adjuvantní RT. Samotné postižení cervixu nemusí predikovat postižení parametří, větší vypovídající hodnota má přítomnost



Obr. 12.3 Stav po provedené totální omentektomii

lymfovaskulární invaze. Radikální hysterektomii (typ B) je doporučeno provést pouze v případech bulky postižení cervixu a viditelného postižení parametří za účelem dosažení volných okrajů nádoru a tím pooperačně nulového rezidua tumoru.

12.9.1.5 OMENTEKTOMIE

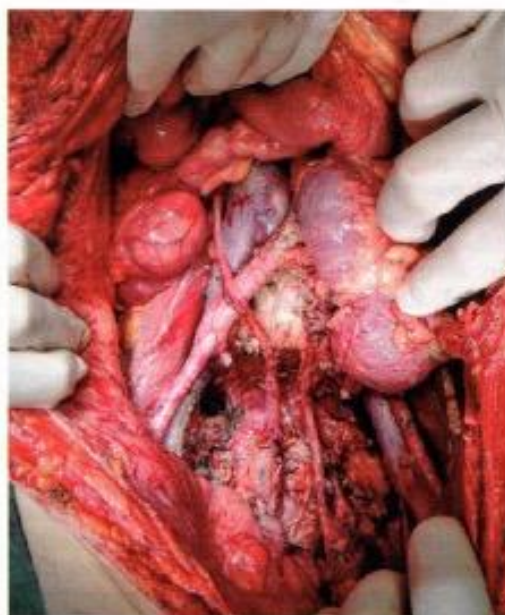
V případě serózního karcinomu je výkon doplněn totální omentektomii, ačkoliv riziko mikroskopického postižení při absenci makroskopicky viditelného korelátu je nízké, nicméně je to výkon nezvyšující morbiditu a případné extrauterinní šíření by mělo negativní dopad na přežití pacientky. Omentektomii provádíme standardně odstraněním tukové předsěny od colon transversum, velké křiviny žaludku, sleziny a lícňální flexury tlustého střeva (obr. 12.3).

12.9.1.6 ZACHOVÁNÍ OVARIÍ U PREMENOPAUZÁLNÍCH PACIENTEK

V malém procentu případů se může karcinom endometria vyskytnout u premenopauzálních pacientek. Tyto nádory jsou většinou diagnostikovány v počátečním stadiu a mají prognosticky příznivý histologický typ a grade. Ponechání ovarií *in situ* u těchto pacientek nezhoršuje prognózu, naopak bylo prokázáno, že tento postup vede ke zlepšení celkového přežití v důsledku redukce rizika úmrtí z kardiovaskulární příčiny v souvislosti s předčasným nástupem menopauzy. Dle doporučení evropských společností ESMO, ESGO, ESTRO by mělo být zachování ovarií zvažováno u všech žen mladších 45 let ve stadiu onemocnění IA, s endometroidním karcinomem grade I, bez rodinné a genetické zátěže ve smyslu mutace v genech BRCA, Lynchova syndromu atd. Oboustranné odstranění vejcovodů je doporučeno vždy.



Obr. 12.4 Lokálně pokročilý karcinom endometria tvořící konvolut s nekrotizujícím jádrem



Obr. 12.5 Stav po zadní suprapubické exenteraci s částečnou resekcí interních ilických arterií pro poškození nádorovou masou (celkový pohled zastíněn ektopickou ledvinou vlevo)

12.9.1.7 OPERAČNÍ LÉČBA POKROČILÉHO KARCINOMU ENDOMETRIA (STADIA III A IV)

Vzhledem k malé četnosti zachytu karcinomu endometria v jeho pokročilých stadiích chybí i rozsáhlejší prospektivní data. Základem terapie u pacientek v dobrém klinickém stavu je radikální cytoredukční operace (obr. 12.4 a 12.5). Optimální cytoredukce s nulovým pooperačním reziduem (R0) zlepšuje dobu bez progresu onemocnění a celkové přežití pacientek. V rámci cytoredukční operace též provádíme odstranění bulky metastatických uzlin (obr. 12.6). Byla publikována série 25 pacientek, kde nejlepších výsledků stran pětiletého přežití dosáhly pacientky s kompletní resekci postižených uzlin (71 %). Horší přežití pak měly pacientky s mikroskopickým (40 %) a makroskopickým reziduem (0 %).

Vždy je potřeba individuálně zhodnotit performance status pacientky, komorbiditu, symptomy a chirurgická rizika.

12.9.1.8 SYMPTOMATICKÁ A PALIATIVNÍ OPERAČNÍ LÉČBA U KARCINOMU ENDOMETRIA

V případě, že pacientka není schopná podstoupit standardní operační výkon s dosažením nulového pooperačního rezidua, je chirurgická léčba akceptovatelná se



Obr. 12.6 Bulky postižený uzlin (do masy zcela zavzat nervus obturatorius)

záměrem paliativním, tedy ve smyslu zlepšení kvality života. Měla by být rezervována pro pacientky s výraznými symptomy. V případě krvácení a nemožnosti celkové anestezie lze při vhodných anatomických podmínkách provést vaginální hysterektomii ve svodné anestezii. Další možností je embolizace uterinních arterií či interních

ilických arterií ve spolupráci s intervenčními radiology. Tyto vaskulární intervence vykazují 70% úspěšnost ve smyslu redukce či úplné zástavy krvácení.

V případě neprůchodnosti střev pak lze provést jeho resekci a vyvedení pomocí stomie. Podrobnější doporučení pro tuto problematiku u karcinomu endometria však nejsou publikována a vychází spíše ze zkušeností s léčbou ovariálních nádorů.

12.9.2 Radioterapie

Léčba zářením formou vaginální brachyterapie nebo zevní radioterapie může být doporučena v adjuvantní indikaci po operačním výkonu u pacientek od středního rizika, a to s cílem redukce rizika recidiv v oblasti poševního pahýlu, resp. pánevních nebo paraaortálních mizních uzlin. Pokud je adjuvantní radioterapie indikována, měla by být zahájena nejpozději do 12 týdnů od operace. Radioterapie představuje dále účinnou alternativu operačního výkonu u lokalizovaného onemocnění v situacích, kdy chirurgické řešení primárního nádoru není možné (např. z důvodu celkového stavu pacientky), případně u léčby recidiv. V paliativní indikaci je možno využít hemostatického účinku radioterapie u inoperabilních krvácejících tumorů nebo analgetického účinku ke zmírnění obtíží u symptomatických metastáz. Stereotaktickou radioterapií je možno využít jako alternativu chirurgické léčby u oligometastatického postižení.

12.9.2.1 ADJUVANTNÍ RADIOTERAPIE

Při rozhodování o indikaci adjuvantní radioterapie je vždy nutno individuálně zvážit jak prognostické faktory asociované s tumorem, tak i ty související s celkovým stavem a věkem pacientky.

Pacientky ve středním riziku (viz tab. 12.3) jsou nejvíce ohroženy recidivou v oblasti poševního pahýlu. Zejména u žen starších 60 let věku je proto doporučena adjuvantní vaginální brachyterapie, která podle výsledků studie PORTEC-1 sice neovlivňuje celkové přežití, významně ale v porovnání se samotnou operační léčbou snižuje riziko vaginálních recidiv (redukce rizika při mediánu sledování 52 měsíců ze 14 na 4%). Plně postačující je samotná vaginální brachyterapie, použití zevní radioterapie u této skupiny pacientek nezlepšuje podle výsledků studie PORTEC-2 lokální kontrolu a zvyšuje doprovodnou morbiditu zejména ve smyslu projevů gastrointestinální toxicity. Tyto výsledky jsou plně v souladu s výsledky historické studie rovněž prokazující, že u čas-

ných stadií nevede přidání zevní radioterapie k vaginální brachyterapii ke zlepšení výsledků ve smyslu celkového přežití. V rámci dlouhodobého sledování pacientek účastnících se této studie (medián sledování 20,5 roku) byl navíc zaznamenán u žen léčených zevní radioterapií ve věku < 60 let signifikantně vyšší výskyt sekundárních malignit.

U pacientek s vyšším středním rizikem recidivy závisí forma adjuvantní radioterapie na přítomnosti podstatné lymfovaskulární invaze, stadiu a gradingu. Zatímco u pacientek s LVSI negativními tumory nebo tumory nižšího gradu s provedeným chirurgickým stagingem mizních uzlin je možná vaginální brachyterapie, u pacientek s přítomnou podstatnou LVSI je v rámci adjuvantní léčby doporučeno zvážit zevní radioterapii. Indikace zevní radioterapie je založena mimo jiné na výsledcích studie GOG-249, která porovnávala účinnost adjuvantní zevní radioterapie proti vaginální brachyterapii následované třemi cykly chemoterapie paklitaxel/karboplatina u pacientek s tumory prvního nebo druhého stadia s vysokým rizikem recidivy (kam podle dříve platných doporučení patřilo i II. stadium). Výsledky prokázaly statisticky významný pokles vzniku recidiv v pánevních a paraaortálních uzlinách ve skupině pacientek léčených adjuvantní zevní radioterapií.

Pacientkám ve vysokém riziku recidivy je vedle chemoterapie možno nabídnout zevní radioterapii s cílem redukce rizika rekurencí v oblasti poševního pahýlu a pánevních nebo paraaortálních mizních uzlinách, a to na základě výsledků studie GOG-258, která posuzovala efektivitu kombinované zevní RT spolu se dvěma cykly cisplatiny následované čtyřmi cykly chemoterapie režimem paklitaxel/karboplatina oproti šesti cyklům samotné chemoterapie paklitaxel/karboplatina. Pacientky léčené chemoterapií i radioterapií měly významně nižší procento recidiv v oblasti pánve a paraaortálních uzlin oproti pacientkám léčeným samotnou chemoterapií, nicméně celkové přežití i doba bez progresu onemocnění byly srovnatelné. Pacientky léčené kombinovanou léčbou měly zvýšené riziko vzniku vzdálených metastáz. Všechny tyto skutečnosti spolu s rizikem výskytu dlouhodobých nežádoucích účinků radioterapie je nutné při indikaci adjuvantní léčby u této skupiny nemocných zvážit, a to zejména u pacientek < 60 let věku. Pomocným faktorem v rozhodovacím procesu mohou být i výsledky molekulárního testování, které identifikují pacientky jak ve zvýšeném riziku vzdálených metastáz (s p53 mutovanými tumory), tak i s možným vyšším rizikem vzniku sekundárních malignit (s MMR deficientními / mikrosatelitně instabilními nádory).

12.9.2.2 KURATIVNÍ RADIOTERAPIE

U pacientek, které nejsou kandidátkami chirurgické léčby např. z důvodu celkové křehkosti související s vyšším věkem nebo pro závažné interní komorbidity nadměrně zvyšující rizika související s operační léčbou, představuje radioterapie efektivní alternativu lokální léčby s potenciálem dosažení dlouhodobého období bez progresu onemocnění. U pacientek v nízkém a středním riziku je zpravidla indikována samotná vaginální brachyterapie, zatímco v případě invaze přes polovinu tloušťky myometria, postižení cervixu nebo vždy u karcinomu asociovaných s vysokým rizikem je doporučena kombinace zevní radioterapie s vaginální brachyterapií.

Podobně je možné nabídnout léčbu zevní radioterapií v kombinaci s vaginální brachyterapií a případně i chemoterapií pacientkám s lokálně pokročilými primárně inoperabilními nebo hraničně operabilními nádory. Vždy by ale po této léčbě mělo být následně provedeno přešetření s opětovným zvážením možnosti chirurgické léčby.

V případě oligometastatického postižení (např. 1–5 ložisek v oblasti plic) lze za předpokladu dosažené kontroly nad primárním tumorem zvážit možnost cílené radioterapie jako alternativy chirurgické léčby.

12.9.2.3 PALIATIVNÍ RADIOTERAPIE

Paliativní radioterapie může být indikována u krvácejících tumorů s hemostyptickým záměrem nebo ve snaze o ovlivnění symptomů souvisejících s metastatickým postižením.

12.9.3 Systémová léčba

V rámci systémové léčby je k dispozici pro léčbu karcinomu endometria chemoterapie, hormonální léčba a molekulárně cílená biologická léčba (tab. 12.4). Hlavní indikací systémové léčby je paliativní léčba inoperabilního, metastatického nebo recidivujícího onemocnění nevhodného k chirurgické léčbě nebo radioterapii. U pacientek po operační léčbě s prokázaným vysokým rizikem recidivy je indikována systémová léčba s adjuvantním záměrem s cílem redukce rizika vzniku vzdálených metastáz, prodloužení doby bez progresu onemocnění a celkového přežití. Pokroky dosažené v oblasti poznání zásadních molekulárně biologických procesů u karcinomu endometria sebou přináší také nové možnosti systémové terapie ve formě molekulárně cílené biologické léčby.

12.9.3.1 CHEMOTERAPIE

Pokud to celkový stav pacientky umožňuje, měla by být preferována kombinovaná léčba nad monoterapií pro její prokázanou vyšší účinnost. Režimem první volby je dvojkombinace karboplatina spolu s paklitaxelem, která ve studii GOG-209 prokázala srovnatelnou účinnost a příznivější bezpečnostní profil než trojkombinace cisplatina + doxorubicin + cyklofosamid. U pacientek s kontraindikací k paklitaxelu lze jako alternativu zvážit v kombinaci s karboplatinou docetaxel. Léčba touto kombinací je provázena nižším výskytem neurotoxicity, ale vyšší hematologickou toxicitou. Pokud není kombinovaná chemoterapie možná, lze zvážit na prvním místě monoterapii platinovým derivátem nebo taxanem.

Chemoterapie v rámci komplexní primární léčby

V rámci primární léčby může být chemoterapie indikována po operaci u pacientek ve vysokém riziku recidivy. U časných stadií je záměrem adjuvantní chemoterapie především redukce rizika vzniku vzdálených metastáz, význam na prodloužení celkového přežití nebyl dosud provedenými studiemi jednoznačně prokázán. Zásadní léčebnou modalitou je chemoterapie zejména u pacientek ve III. a IV. stadiu po cytoredukční operaci, u kterých byl přínos adjuvantní kombinované chemoterapie na prodloužení doby bez progresu i celkového přežití v porovnání s tehdy standardní radioterapií na oblast celé abdominopelvicke dutiny prokázán již v rámci studie GOG-122 publikované v roce 2006.

Ve studii PORTEC 3 porovnávající účinnost zevní radioterapie aplikované spolu s chemoterapií oproti zevní radioterapii samotné u pacientek ve vysokém riziku recidivy podle dřívějších kritérií (tj. včetně pacientek s jakýmkoliv endometroidním karcinomem diagnostikovaným ve II. stadiu nebo endometroidním karcinomem grade 3 ve stadiu IB) bylo při mediánu sledování 60,2 měsíce prokázáno statisticky významné prodloužení doby bez progresu při kombinované léčbě chemoterapií spolu s radioterapií (75,5 vs. 68,6%, $p = 0,022$). Při delším sledování (medián follow-up 72,6 měsíce) byl patrný i vliv chemoterapie na zlepšení celkového přežití (81,4% u pacientek léčených chemoradioterapií oproti 76,1% u pacientek léčených samotnou radioterapií; $p = 0,034$). Největší benefit z kombinované léčby měly pacientky ve III. stadiu, resp. ty se serózními karcinomy. V rámci kombinované radiochemoterapie absolvovaly pacientky nejprve zevní radioterapii konkomitantně se dvěma cykly cisplatiny a následně čtyřmi cykly režimem paklitaxel/karboplatina.

Při indikaci samotné chemoterapie u pacientek ve vysokém riziku recidivy na základě výsledků studie GOG-249 je standardem šest cyklů chemoterapie režimem paklitaxel/karboplatina.

V návaznosti na výsledky aktuálně probíhající prospektivní studie RAINBO zohledňující výsledky molekulárního testování při volbě adjuvantní léčby lze předpokládat další individualizaci systémové léčby v této indikaci. Podle zatím dostupných výsledků analýzy studie PORTEC-3 posuzující dosažené léčebné výsledky v kontextu s retrospektivně doplněným molekulárním testováním mají největší benefit z přidání adjuvantní chemoterapie pacientky s p53 mutovanými nádory. Pacientky s tumory nespecifického molekulárního profilu profitovaly z chemoterapie také, její přínos byl ale při hodnocení celé této velmi heterogenní skupiny nižší než u p53 mutovaných tumorů. U pacientek s MMR deficientními nádory nebyl zaznamenán žádný statisticky významný přínos z přidání chemoterapie a pacientky s POLE ultramutovanými tumory měly excelentní prognózu bez ohledu na podání chemoterapie.

Chemoterapie v paliativní indikaci

Chemoterapie je v rámci paliativní léčby indikována především u rychle progredujících, špatně diferencovaných karcinomů s agresivním biologickým chováním, resp. v případě symptomatického nebo velkoobjemového postižení. Standardem pro první linii je šest cyklů chemoterapie režimem paklitaxel/karboplatina. Léčebné odpovědi se pohybují mezi 40 a 62 % a medián doby celkového přežití mezi 13 a 29 měsíci. U pacientek s primárně neoperační léčbou s potenciálem operability je vhodné přestěhování v průběhu chemoterapie s opětovným zhodnocením možnosti chirurgické léčby.

Standard pro paliativní chemoterapii druhé a vyšších linií není definován, navíc je nutno počítat s výrazně nižší účinností než v rámci primární léčby. Procento léčebných odpovědí cytostatik (např. u doxorubicinu, taxanů nebo při opakovaném podání platiny u vybrané skupiny pacientek s recidivou za déle než šest měsíců od předchozí chemoterapie) se pohybuje maximálně kolem 29 %.

12.9.3.2 HORMONÁLNÍ LÉČBA

K hormonální léčbě lze využít gestageny (medroxyprogesteron acetát nebo megestrol acetát), inhibitory aromatáz (letrozol, anastrozol nebo exemestan) nebo antiestrogeny (tamoxifen). Volba preparátu je řízena především jejich bezpečnostním profilem, žádný z preparátů (případně jejich kombinace) neprokázal v porovnání s ostatními významně lepší účinnost. Zásadní roli má hormonální léč-

ba u mladých žen s nově diagnostikovaným onemocněním v časném stadiu, jsou-li splněny podmínky pro postup zachovávající fertilitu.

Hormonální léčba v adjuvanci

Význam hormonoterapie na prodloužení celkového přežití v adjuvantní indikaci v rámci komplexní primární léčby prokázán nebyl, nicméně dostupná data pocházejí ze studií realizovaných naposledy v 90. letech 20. století. Tyto studie byly prováděny bez jakékoli stratifikace podle míry exprese estrogenových, resp. progesteronových receptorů a pouze u pacientek s časným stadiem onemocnění. U pokročilejších stadií nejsou data o významu adjuvantní hormonální léčby k dispozici vůbec, podobně jako dosud nebyla porovnávána účinnost adjuvantní hormonální léčby s chemoterapií. Adjuvantní hormonoterapie je proto indikována pouze v rámci klinických studií.

Hormonální léčba v paliativní indikaci

V rámci paliativní léčby je hormonoterapie nejúčinnější u dobře diferencovaných endometroidních karcinomů s indolentním biologickým chováním a pozitivními steroidními receptory (tj. při průkazu imunohistochemické exprese estrogenových nebo progesteronových receptorů > 1 %). Před zahájením léčby u recidivujícího onemocnění se doporučuje imunohistochemické stanovení steroidních receptorů z recentní biopsie (je-li technicky možná), neboť hormonální status se může v průběhu onemocnění měnit. U inoperabilního nebo metastatického onemocnění se procento dosažených léčebných odpovědí pohybuje mezi 20 a 40 %, mezi nejzávažnější nežádoucí účinky patří tromboembolické komplikace.

12.9.3.3 MOLEKULÁRNÍ CÍLENÁ BIOLOGICKÁ LÉČBA

Hlubší poznání molekulární podstaty významné heterogenity v biologickém chování endometriálních karcinomů i v rámci téhož histologického typu přispělo k významnému rozšíření možností systémové léčby, jejíž možnosti byly až do nedávné doby limitovány pouze na v chemoterapii nebo hormonální léčbu. Dosud nejzásadnější průlom přinesl objev inhibitorů kontrolního bodu imunitní reakce, tzv. checkpoint inhibitorů, které prostřednictvím vazby na receptory pro programovanou buněčnou smrt (PD-1, PD-L1) blokují příslušnou inhibiční signální dráhu a umožňují tak překonání navozené tolerance imunitního systému pro přítomnost nádorových buněk. Faktorem přispívajícím k účinnosti imunoterapie u endometriálního karcinomu je navíc relativně vysoké procentuální zastoupení subtypu dMMR/MSI-h (cca 30 %). V důsledku defektního systému MMR do-

cháží ke kumulaci chyb vzniklých během replikace DNA a následně pak ke zvýšené expresi neoantigenů na povrchu nádorových buněk, což vede ke zvýšené stimulaci cytotoxických T lymfocytů vyvolávajících buněčnou protinádorovou odpověď.

U MMR proficientního subtypu, který představuje přibližně 70 % všech karcinomů endometria, je léčebná odpověď na monoterapii checkpoint inhibitory omezená, pohybuje se kolem 15 %. Posílení účinnosti léčby PD-1/PD-L1 inhibitory u této skupiny karcinomů je možné jejich kombinací s antiangiogenní léčbou nebo PARP-inhibitory. Vlivem antiangiogenní léčby (např. bevacizumab, lenvatinib) dochází k inhibici abnormální nádorové vaskularizace a v jejím důsledku k inhibici vstupu T lymfocytů, snížení jejich adhezivity k cévní stěně, inhibici maturace dendritických buněk a celkově k tvorbě imunosupresivního prostředí. Souběžné podání PARP-inhibitorů (např. olaparib, niraparib, rukaparib) potencuje účinnost checkpoint inhibitorů navozením zvýšené exprese PD-L1 a tvorby neoantigenů v důsledku poškození DNA, které PARP-inhibitory působí.

Mezi zástupce molekulárně cílené léčby s velmi slibným potenciálem účinnosti u karcinomu endometria patří dále preparáty, jejichž terapeutickým cílem je receptor HER2/neu pro lidský epidermální růstový faktor. Cílem anti-HER léčby (např. trastuzumab, trastuzumab emtansin, trastuzumab deruxtekan, lapatinib a pertuzumab) je blokáda receptoru HER2/neu inhibovat jednu z nejvýznamnějších signálních drah regulujících apoptózu nádorových buněk, jejíž nadměrná stimulace má za následek vytvoření malignějšího fenotypu nádorové buňky s agresivnějším biologickým chováním.

Další možností cílené léčby je inhibice hlavního jaderného exportního proteinu (XPO1), jehož nadměrná exprese patří k typickým znakům nádorových buněk. Vlivem selektivní inhibice jaderného exportu dochází ke kumulaci tumor supresorových proteinů v jádře, zástavě buněčného cyklu a apoptóze nádorových buněk. Zástupcem inhibitorů XPO1 s již prokázanou účinností u karcinomu endometria i v rámci klinické studie fáze III je selinexor.

Slibným kandidátem jsou také inhibitory WEE1 kináz (např. adavosertib), jejichž terapeutickým cílem je ovlivnění kontrolních bodů dysregulovaného buněčného cyklu u tumorů s prokázanou mutací genu *TP53*.

U pacientek, které jsou kandidátkami hormonoterapie v rámci paliativní systémové léčby, byl v rámci studií fáze II prokázán benefit ve smyslu prodloužení celkového přežití u pacientek léčených kombinací letrozolu s everolimem (preparát ze skupiny inhibitorů mTOR) oproti hormonoterapii samotné.

Postavení molekulárně cílené léčby v primární terapii

V rámci primární systémové léčby prokázaly výsledky randomizované klinické studie fáze III NRG-GY018, že přidání pembrolizumabu (monoklonální protilátky proti PD-1) ke standardní chemoterapii paklitaxel/karboplatina významně prodloužuje dobu bez progresu onemocnění jak u pacientek s MMR deficientními karcinomy (74 vs. 38 %), tak i v rámci kohorty pacientek s MMR proficientními tumory (medián doby bez progresu 13,1 vs. 8,7 měsíce; HR = 0,54, 95% CI: 0,41–0,71, $p < 0,001$). Do studie nebyly zařazovány pacientky s karcinosarkomem. Podobně výsledky randomizované studie III. fáze (RUBY) prokázaly benefit z přidání další monoklonální protilátky proti PD-1, dostarlimabu ke standardní chemoterapii paklitaxel/karboplatina v rámci primární léčby, a to včetně karcinosarkomu. Přežití bez progresu onemocnění činilo za 24 měsíců 36,1 % u pacientek léčených kombinací chemoterapie a dostarlimabu oproti 18,1 % při léčbě samotnou chemoterapií (HR = 0,64; 95% CI: 0,51–0,80, $p < 0,001$). Rozdíl v celkovém přežití dosáhl rovněž statistické významnosti (71,3 vs. 56 %; HR = 0,64; 95% CI: 0,46–0,87, $p < 0,001$).

Význam přidání bevacizumabu, monoklonální protilátky proti VEGF, k chemoterapii paklitaxel/karboplatina na prodloužení doby bez progresu onemocnění i celkového přežití byl prokázán pouze ve studiích fáze II, data ze studií III. fáze nejsou k dispozici. Podobně u pacientek s HER2/neu pozitivním karcinosarkomem nebo serózním karcinomem léčených tripletem trastuzumab (monoklonální protilátka proti receptoru HER2/neu) + paklitaxel/karboplatina bylo ve studiích fáze II dosaženo prodloužení doby bez progresu onemocnění oproti chemoterapii samotné.

Účinnost selinexoru, selektivního inhibitoru jaderného exportu, v udržovací léčbě po primární chemoterapii byla hodnocena ve studii fáze III (SIENDO). U pacientek s karcinomem endometria a dosaženou parciální nebo kompletní remisi po primární chemoterapii ve složení taxanový derivát + platina léčených v rámci udržovací terapie selinexorem bylo dosaženo mediánu doby bez progresu onemocnění 5,7 vs. 3,8 měsíce u pacientek ve skupině s placebem (HR = 0,76, 95% CI: 0,543–1,076). Statisticky významného prodloužení mediánu doby bez progresu onemocnění dosáhl selinexor podle předem plánované subanalýzy u pacientek s *TP53* nemutovanými tumory (13,7 vs. 3,7 měsíce). Udržovací léčba selinexorem vedla u pacientek s *TP53* wild-type nádory oproti placebu k redukcí rizika progresu a/nebo úmrtí o 62 % (HR = 0,375, 95% CI: 0,210–0,670). Ověření výsledků

Tabulka 12.4 Možnosti systémové léčby karcinomu endometria

ADJUVANTNÍ NEBO PRIMÁRNÍ LÉČBA (chemoterapie, biologická léčba)	
V kombinaci s RT: • cDDP 2× + RT a následně 4× PTX/CBDCa • 6× PTX/CBDCa a následně RT	Samotná systémová léčba: • 6× PTX/CBDCa • 6× DOC/CBDCa • 6× PTX/CBDCa + pembrolizumab* 6× až 3 týdny, následně až 14× až 6 týdnů • 6× PTX/CBDCa + dostarlimab* 6× až 3 týdny, následně až 3 roky až 6 týdnů • 6× PTX/CBDCa + trastuzumab* spolu s CHT až 3 týdny; následně samotný do progresu nebo nepřiměřené toxicity (pro HER2+ serózní karcinomy nebo karcinosarkomy)
LÉČBA PRO DRUHÉ A DALŠÍ LINIE (chemoterapie nebo biologická léčba)	
Chemoterapie: • platinový derivát (při PFS ≥ 6 měsíců) • doxorubicin nebo taxan (při PFS < 6 měsíců) • ifosfamid nebo ifosfamid/paklitaxel (pro karcinosarkomy)	Molekulárně cílená biologická léčba: • lenvatinib + pembrolizumab • pembrolizumab* pro TMB-H nebo dMMR/MSI-H tumory • dostarlimab* pro dMMR/MSI-H tumory • léčba dle výsledků komplexního molekulárního profilování tumoru
HORMONÁLNÍ LÉČBA (pro endometroidní karcinom nízkého gradu; indolentní průběh a malý rozsah onemocnění)	
• gestageny (medroxyprogesteron acétát, megestrol acétát) • inhibitory aromatázy (letrozol, anastrozol, exemestan) • tamoxifen • fulvestrant	

* K datu vydání neměly v dané indikaci stanovenou úroveň z prostředků zdravotního pojištění

cDDP – cisplatin, CBDCa – karboplatin, PAC – paklitaxel, DOC – docetaxel, HER2+ – pozitivní stanovení receptoru HER2/neu, PFS – doba bez progresu onemocnění, TMB-H – nádory s vysokou mutační náloží (> 10 mut/Mb), dMMR/MSI-H – tumory s prokázanou deficiencí v mismatch-repair systému nebo vysokou mírou mikrosatelitní instability

přinese probíhající studie XPORT, do které jsou zařazovány pouze pacientky s *TP53* nemutovanými nádory.

Postavení cílené léčby ve druhé a dalších liniích

Volba léčebného režimu ve druhé a dalších liniích závisí vedle celkového stavu pacientky na složení předchozí terapie a výsledcích testování MMR statusu, resp. mutační nálože.

Pro pacientky s MMR deficientními tumory a/nebo vysokou mutační náloží (> 10 mut/Mb) nepředléčené protilátkami anti-PD-1/PD-L1 je po selhání primární chemoterapie optimální alternativou léčba checkpoint inhibitory. Pembrolizumab jako první prokázal dosažení dlouhodobé léčebné odpovědi na malé kohortě pacientek s endometriálním karcinomem ve studii fáze Ib KEYNOTE-028. V navazující studii fáze II KEYNOTE-158, která hodnotila v rámci tzv. tumor-agnostického přístupu efektivitu pembrolizumabu u nádorů s prokázanou deficiencí MMR bez ohledu na orgán původu, bylo u podskupiny celkem 15 pacientek s karcinomem endometria dosaženo objektivní odpovědi (parciální nebo kompletní remise) u 52 % pacientek a tzv. kontroly aktivity onemocnění u 73 % pacientek (3 kompletní remise, 5 parciál-

ních remise a 3 stabilizace nemoci). Alternativou k pembrolizumabu je dostarlimab, který v rámci studie fáze I GARNET prokázal u celkem 143 pacientek s dMMR/MSI-H rekurentním nebo pokročilým karcinomem endometria po selhání předchozí léčby založené na platinovém derivátu dosažení objektivní odpovědi u celkem 45,5 % pacientek a kontroly aktivity onemocnění u 60,1 % pacientek (23 kompletních remise, 42 parciálních remise a 21 stabilizací).

Pacientkám s MMR proficientními nádory, které progredují při předchozí léčbě obsahující platinový derivát nebo po ní, je možné nabídnout léčbu kombinací pembrolizumabu s lenvatinibem (inhibitor receptorové kinázy pro vaskulární endotelový růstový faktor patřící mezi antiangiogenní léky), a to na základě výsledků klinické studie fáze III KEYNOTE-775. Do studie bylo zařazeno celkem 827 pacientek (697 s pMMR karcinomy a 130 s dMMR karcinomy) a ve skupině pacientek léčených kombinací pembrolizumab + lenvatinib bylo v porovnání se skupinou pacientek léčených chemoterapií doxorubicin nebo paklitaxel dosaženo jak delšího mediánu bez progresu (7,2 vs. 3,8 měsíce; HR = 0,56, 95% CI: 0,47–0,66, $p < 0,001$), tak i delšího mediánu

celkového přežití (18,3 vs. 11,4 měsíce; HR = 0,62, 95% CI: 0,51–0,75, $p < 0,001$). Signifikantní rozdíly v mediánu doby bez progresu i celkového přežití byly zaznamenány i v rámci podskupiny s pMMR karcinomy (6,6 vs. 3,8 měsíce [HR = 0,60, 95% CI: 0,50–0,72, $p < 0,001$]; resp. 17,4 vs. 12 měsíce [HR = 0,68, 95% CI: 0,56–0,84, $p < 0,001$]). Zlepšení léčebných výsledků bylo ale provázeno významně vyšší doprovodnou toxicitou, mezi nejčastější nežádoucí účinky léčby patřily hypertenze, průjem a alterace funkce štítné žlázy.

Pro pacientky s karcinosarkomem je podle výsledků klinické studie fáze II STATICE velmi slibnou alternativou v případě průkazu HER2/neu pozitivitu léčba trastuzumabem deruxetanem. U 22 pacientek předléčených chemoterapií s imunohistochemickým skóre HER2 ≥ 2 bylo dosaženo objektivní odpovědi u 54,5 % pacientek s mediánem doby bez progresu 6,2 měsíce. U 10 pacientek s HER2-low tumory (HER2 skóre 1+) byl efekt léčby ještě výraznější, s objektivní odpovědí 70 % a mediánem doby bez progresu 13,3 měsíce.

U pacientek s vyčerpanými možnostmi systémové terapie, které jsou přitom kandidátkami aktivního léčebného přístupu, je možno zvážit komplexní profilování tumoru s cílem identifikace dalších potenciálně tergetovatelných terapeutických cílů a na jeho základě podání vhodné molekulárně cílené léčby, je-li dostupná.

12.10 SLEDOVÁNÍ (FOLLOW-UP)

Zatímco u pacientek s iniciálně nízkým rizikem se recidiva může vyskytnout přibližně v 15 %, u pacientek s vysokým rizikem je riziko recidivy až 50 %. Návrat onemocnění může být v podobě lokální recidivy v oblasti poševního pahýlu (až ve 40 % případů), dále ve formě postižení regionálních uzlin, anebo vzdálených metastáz. Medián času do relapsu onemocnění je 12–17 měsíců.

Dosud nejefektivnější metoda detekce rekurence onemocnění je sledování subjektivních obtíží a klinických symptomů pacientky. Nejčastějšími příznaky recidivy onemocnění je vaginální krvácení, bolesti v podbřišku, méně často pak zažívání (nauzea, zvracení) nebo dechové (dušnost) obtíže. Nebylo prokázáno, že by pacientky profitovaly z rutinního fyzikálního vyšetření, zobrazovacích metod, odběrů tumor markerů a jiných testů. I při pečlivé dispenzarizaci je recidiva diagnostikována až v době klinických potíží u více než poloviny pacientek.

Dle doporučeného postupu ČGPS (Česká gynekologická a porodnická společnost) pro dispenzarizaci pacientek po chirurgické léčbě karcinomu endometria sledujeme pacientky v časovém intervalu 3–6 měsíců první

dva roky a následně každých 6–12 měsíců další tři roky. Po léčbě šerfici fertilitu by měla pacientka co nejdříve otěhotnět. Pakliže není spontánní koncepce reálná, měla by být referována na konzultaci do IVF centra.

Sérové markery mají vynikající potenciál v diagnostice recidivy onemocnění ještě před prvními klinickými projevy a mohou vést ke zlepšení prognózy pacientek u řady malignit. U karcinomu endometria však dosud nebyl objeven žádný nádorový marker, který by byl dostatečně senzitivní a specifický k zavedení do klinické praxe. Nejčastěji studovaným sérovým markerem je CA125, jehož využití je ovšem u karcinomu endometria velmi omezené.

Rutinní využití zobrazovacích metod v rámci dispenzarizace po léčbě je taktéž kontroverzní. Nejjednodušší a nejdostupnější zobrazovací metodou, kterou můžeme využít v rámci běžné dispenzární prohlídky, je UZ vyšetření, které nám umožňuje odhalení lokoregionální recidivy. Při podezření na patologii v této oblasti je rovněž možné využít zobrazení MR. Vyšetření CT je pak zásadní pro posouzení stavu lymfatických uzlin a vzdálených metastáz. Nejlepších výsledků pak dosahuje kombinace funkčního zobrazovacího vyšetření PET s některou konvenční metodou (CT, MR).

LITERATURA

1. Aalders JG, vd Syde R, Poppema S, et al. Prognostic factors and changing trends in the treatment of Stage I endometrial cancer: a clinical and histopathological study of 182 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1984;10(11):2083–8.
2. Brierty J, Gospodowicz MK, Wittekind C, et al. TNM Classification of Malignant Tumours; 2018.
3. Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I, et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer.* Published online December 18, 2020;1jgo-2020-002230.
4. Crosbie EJ, Kitson SJ, McAlpine JN, et al. Endometrial cancer. *The Lancet.* 2022;399(10333):1412–28.
5. Dowdy SC, Borah BJ, Bakkum-Gomez JN, et al. Prospective assessment of survival, morbidity, and cost associated with lymphadenectomy in low-risk endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2012;127(1):5–10.
6. Dond P, Cibula D, Doležel M, et al. Molecular testing in endometrial carcinoma – joint recommendation of Czech Oncological Society, Oncogynecological Section of the Czech Gynecological and Obstetrical Society, Society of Radiation Oncology, Biology and Physics, and the Society of Czech Pathologists. *Ceska Gynecol.* 2021;86(4):264–72.
7. Dušek I, Mužík J, Kubásek M, et al. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. Masarykova univerzita [online]. Accessed January 13, 2023. <http://www.svod.cz/>
8. FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and corpus uteri. *Int J Gynecol Obstet.* 2014;125(2):97–8.
9. Frost JA, Webster KE, Bryant A, Morrison J. Lymphadenectomy for the management of endometrial cancer. In: *The Cochrane Collaboration, ed. Cochrane Database of Systematic Reviews.* John Wiley & Sons, Ltd; 2015:CD007585.pub3.

10. Fröhlich F, Shima J, Zikán M. Význam screeningu v onkogynekologii. 2014;12:79(6):491–8.
11. Galaš K, Donkers H, Bryant A, Lopes AD. Laparoscopy versus laparotomy for the management of early stage endometrial cancer. Cochrane Gynaecological, Neuro-oncology and Orphan Cancer Group, ed. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2018;2018(10).
12. Guo W, Cai J, Li M, et al. Survival benefits of pelvic lymphadenectomy versus pelvic and para-aortic lymphadenectomy in patients with endometrial cancer: A meta-analysis. *Medicine*. 2018;97(1):e9520.
13. Ind T, Laos A, Haeding M, Nøbdenhuis M. A comparison of operative outcomes between standard and robotic laparoscopic surgery for endometrial cancer: A systematic review and meta-analysis. *Int J Med Robotics Comput Assist Surg*. 2017;13(4):e1851.
14. Koskas M, Amant F, Mirza MR, Creutzberg CL. Cancer of the corpus uteri: 2021 update. *Int J Gynecol Obstet*. 2021;155(S1):45–60.
15. Kurman RJ, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, eds. WHO Classification of tumours of female reproductive organs, 4th ed. International Agency for Research on Cancer; 2014.
16. Makker V, T aylor MH, Aghajanian C, et al. Lenvatinib plus pembrolizumab in patients with advanced endometrial cancer. *JCO*. 2020;38(26):2981–92.
17. Marabelle A, Le DT, Ascierto PA, et al. Efficacy of Pembrolizumab in patients with noncolorectal high microsatellite instability/mismatch repair-deficient cancer: results from the phase II KEY-NOTE-158 Study. *JCO*. 2020;38(1):1–10.
18. Matsuo K, Machida H, Shoupe D, et al. Ovarian conservation and overall survival in young women with early-stage low-grade endometrial cancer. *Obstetrics & Gynecology*. 2016;128(4):761–70.
19. Mirza MR, Chase DM, Slamonvitz BM, et al. Dostarlimab for primary advanced or recurrent endometrial cancer. *N Engl J Med*. 2023;388(23):2145–58.
20. Modrá kniha České onkologické společnosti. 16. Zdobný novotvar těla děložního (C54). Accessed June 20, 2023. <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/personalizovano-onkologie/modra-kniha-cos/aktualni-vydani-modre-knihy/>
21. Nishikawa T, Hasegawa K, Matsumoto K, et al. Trastuzumab derastecan for human epidermal growth factor receptor 2-expressing advanced or recurrent uterine carcinosarcoma (NCCH1615): The STATICE Trial. *JCO*. 2023;41(15):2789–99.
22. Oaknin A, Gilbert L, Tinker AV, et al. Safety and antitumor activity of dostarlimab in patients with advanced or recurrent DNA mismatch repair deficient/microsatellite instability-high (dMMR/MSI-H) or proficient/stable (MMRp/MSS) endometrial cancer: interim results from GARNET—a phase I, single-arm study. *J Immunother Cancer*. 2022;10(1):e003777.

3 Karcinom ovaria: prediktivní markery chemosenzitivity a individualizace systémové léčby

Karcinomy ovaria vznikají z epitelu na povrchu vaječníků a představují 90 % všech zhoubných ovariálních nádorů. Podle současných diagnosticko-léčebných protokolů jsou společně s karcinomy vejcovodů a primárními peritoneálními karcinomy považovány za jednotnou klinicko-patologickou skupinu. Pro zjednodušení je v dalším textu pro tuto skupinu používán souhrnný pojem karcinomy ovaria.

Ovariální karcinomy tvoří velmi heterogenní skupinu onemocnění, která byla historicky rozdělena do dvou skupin podle svého biologického chování. První skupinu tvoří low-grade (indolentní) nádory, které typicky vznikají z prekursorových lézí vaječníku a bývají diagnostikovány v časnějším stadiu onemocnění, což je spojeno s příznivější prognózou. Vzhledem k relativní chemorezistenci je jejich prognóza při diagnóze v pokročilém stadiu obecně horší než u high-grade nádorů. Mezi typické zástupce patří low-grade serózní a low-grade endometroidní karcinomy, mucinózní karcinomy, maligní Brennerův tumor a část clear-cell karcinomů. Z molekulárního hlediska jsou pro tuto skupinu typické mutace v genech *KRAS*, *BRAF*, *ERBB2*, *PTEN*, *PIK3CA* a *ARID1A*.

Do druhé skupiny byly řazeny high-grade tumory charakterizované agresivním biologickým chováním a nepříznivou prognózou navzdory vysoké počáteční chemosenzitivitě. Nejčastějším zástupcem je high-grade serózní karcinom, dále sem patří high-grade endometroidní karcinom, nediferencovaný, resp. dediferencovaný karcinom a část světlobuněčných karcinomů. Typickými molekulárními charakteristikami jsou mutace v genu *TP53* a u přibližně čtvrtiny případů také mutace genů *BRCA1/2* [9].

Základem primární léčby ovariálního karcinomu je chirurgická léčba doplněná o systémovou terapii. Rozsah chirurgického výkonu se liší podle stadia onemocnění. U časných stadií (FIGO I a II, Tabulka 10) je cílem kompletní chirurgický staging k přesnému stanovení rozsahu onemocnění. Výkon zahrnuje hysterektomii s bilaterální adnexektomií, omentektomii, systematickou pánevní a paraaortální lymfadenektomii a zhodnocení dutiny břišní včetně odběru peritoneálních biopsií. U mucinózních karcinomů je stagingový výkon doplněn o appendektomii z důvodu potřeby vyloučit metastatické postižení ovaria při primárním nádoru appendixu. U expanzivní formy mucinózního karcinomu omezeného na ovarium není při absenci suspektních lymfatických uzlin systematická pánevní a paraaortální lymfadenektomie standardně doporučována vzhledem k nízkému riziku lymfogenní diseminace.

U pokročilých stadií (FIGO III a IV, Tabulka 10) představuje hlavní cíl chirurgické léčby dosažení maximální cytoredukce, ideálně s nulovým makroskopickým reziduem, protože rozsah pooperačního rezidia patří mezi nejvýznamnější prognostické faktory ovlivňující přežití pacientek. Výkon proto bývá rozšířen o multiviscerální resekční výkony včetně resekcí postiženého střeva, bránice, sleziny, jater nebo močového systému. Na rozdíl od časných stadií není systematická pánevní a paraaortální lymfadenektomie u pokročilých stadií bez suspektních uzlin standardní součástí chirurgického výkonu.

Tabulka 10: FIGO 2014 klasifikace klinických stadií karcinomu ovaria, tuby a primárního peritoneálního karcinomu [57]

Stadium	Charakteristika
FIGO I	Tumor omezen na vaječník nebo vejcovod (jednostranně nebo oboustranně)
IA	nádor omezen na jeden vaječník/vejcovod; pouzdro intaktní; v ascitu nebo laváži nejsou maligní buňky
IB	nádor omezen na oba vaječníky/vejcovody; pouzdro intaktní; v ascitu nebo laváži nejsou maligní buňky
IC	- nádor omezen na jedno nebo obě ovaria (vejcovody), a přitom: - chirurgické porušení pouzdra
IC1	spontánní ruptura pouzdra nebo přítomnost tumoru na povrchu vaječníku/vejcovodu
IC2	maligntní buňky v ascitu nebo laváži
IC3	
FIGO II	Nádor postihující jeden či oba vaječníky/vejcovody, se šířením v páni; nebo primární nádor peritonea
IIA	šíření a/nebo implantace na dělohu a/nebo vejcovod(y) a/nebo vaječníky
IIB	šíření na jiné pánevní tkáně
FIGO III	Nádor postihující jeden nebo oba vaječníky/vejcovody nebo primární nádor peritonea s cytologicky nebo histologicky potvrzeným peritoneálním postižením mimo páne a/nebo metastázami v retroperitoneálních lymfatických uzlinách
IIIA	pozitivní retroperitoneální mizní uzliny
IIIB	makroskopické peritoneální metastázy mimo páne, 2 cm nebo méně v největším rozměru +/- pozitivní retroperitoneální mizní uzliny
IIIC	peritoneální metastázy mimo páne >2 cm v největším rozměru +/- pozitivní retroperitoneální mizní uzliny. Včetně šíření do pouzdra sleziny/jater, bez postižení parenchymu.
FIGO IV	Vzdálené metastázy (mimo peritoneální metastázy)
IVA	pleurální výpotek s pozitivní cytologií
IVB	parenchymové metastázy jater/sleziny, extraabdominální metastázy (včetně postižení tříselných mizních uzlin, resp. extraabdominálních mizních uzlin), prorůstání přes stěnu střeva

Základem systémové primární léčby je chemoterapie založená na platinovém derivátu, zpravidla v kombinaci s taxanem (P-chemoterapie). U pacientek s pokročilým stadiem (FIGO III nebo IV, Tabulka 10) může být součástí primární systémové léčby také cílená biologická terapie inhibitory PARP nebo bevacizumabem, případně jejich kombinace, a to v návaznosti na histologický typ nádoru, odpověď na primární P-chemoterapii a výsledky somatického profilování nádoru [14].

Přes náročnou primární léčbu až 75 % pacientek s karcinomem ovaria zrecidivuje a vyžaduje další náročnou léčbu, jejíž základ tvoří systémová terapie. Mezi hlavní klinické prognostické faktory patří vedle klinického stadia, histologického typu, gradingu a chirurgické cytoredukce také celkový stav a věk. Pacientky ve vyšším věku a s výraznější

alterací celkového stavu v době diagnózy mají horší prognózu. Mezi molekulární charakteristiky ovlivňující prognózu karcinomu ovaria patří především mutační stav genů BRCA1/2 a průkaz deficitu homologní rekombinace (HRD). Pacientky s prokázanou germinální nebo somatickou mutací genů BRCA1 nebo BRCA2, resp. s průkazem HRD v nádoru, mají příznivější prognózu, pravděpodobně v důsledku vyšší citlivosti k platinové chemoterapii a inhibitorům PARP [58].

3.1 Význam hodnocení odpovědi na platinovou chemoterapii

Navzdory vysoké počáteční chemosenzitivitě, zejména u high-grade serózních karcinomů, dochází po iniciální léčbě u většiny patientek k relapsu onemocnění a postupnému rozvoji platinové rezistence, což vede k nutnosti využít jiné možnosti systémové léčby a nepříznivě ovlivňuje celkové přežití patientek. Charakter odpovědi na primární P-chemoterapii tak představuje jeden z nejvýznamnějších klinických prediktorů prognózy i pravděpodobnosti odpovědi na další léčbu. V klinické praxi je odpověď na platinovou chemoterapii hodnocena podle tzv. bezplatinového intervalu (platinum treatment-free interval, TFIp), tedy časového období od ukončení P-chemoterapie do relapsu onemocnění.

Na základě délky TFIp jsou patientky tradičně rozdělovány do skupin s platina-rezistentním nebo platina-senzitivním onemocněním. Historicky bylo i pro potřeby zařazování patientek do klinických studií hodnotících nové terapeutické přístupy používáno rozdělení do dvou skupin. Relaps do šesti měsíců od posledního podání P-chemoterapie byl klasifikován jako platina-rezistentní a relaps po intervalu delším než šest měsíců jako platina-senzitivní [59].

Toto rozdělení však plně neodpovídá klinické realitě, protože v praxi lze pozorovat kontinuum odpovědi na platinovou chemoterapii bez jednoznačně definovaného biologického cut-off. Pravděpodobnost opakované odpovědi na platinový derivát je navíc ovlivněna řadou dalších faktorů, zejména rozsahem reziduálního onemocnění po chirurgické léčbě, biologickou povahou nádoru a kinetikou relapsu. Pacientky s kratším TFIp bez provedené primární chirurgické cytoredukce mohou dosahovat odpovědi na opakovanou platinovou chemoterapii, zatímco u jiných patientek může obdobně dlouhý TFIp odrážet skutečný chemorezistentní fenotyp nádoru.

Na tuto skutečnost reagují i závěry poslední konsenzuální konference zaměřené na klinický výzkum v oblasti ovariálního karcinomu, publikované v roce 2022. Pacientky jsou nově rozdělovány do skupin podle předpokládané pravděpodobnosti odpovědi na opakovanou léčbu platinovým derivátem. Opakovaný efekt P-chemoterapie lze očekávat především při TFIp delším než 12 týdnů, zatímco při kratším TFIp bývá tento efekt méně pravděpodobný. Onemocnění progredující již během primární P-chemoterapie nebo do 12 týdnů po jejím ukončení je označováno jako platina-refrakterní a představuje prognosticky mimořádně nepříznivou skupinu patientek [60].

Přestože délka bezplatinového intervalu představuje v současné klinické praxi základní parametr pro odhad pravděpodobnosti odpovědi na opakovanou léčbu platinovou chemoterapií, jedná se o ukazatel stanovovaný retrospektivně až na základě průběhu onemocnění po ukončení příslušné linie systémové léčby. V době diagnózy ani před zahájením další linie systémové léčby nejsou k dispozici dostatečně validované

prediktivní markery, které by umožnily spolehlivě odhadnout chemosenzitivitu nádoru a pravděpodobnost léčebné odpovědi.

Potřeba časně predikce odpovědi na platinovou chemoterapii je přitom zásadní jak v rámci primární léčby, tak i při léčbě relapsu onemocnění. Před zahájením primární léčby by přesnější identifikace chemorezistentních nádorů pomohla omezit indikaci neúčinné léčby, zatížené nemalou doprovodnou toxicitou, a lépe cílit biologickou nebo experimentální terapii. U recidivujícího onemocnění by pak predikce pravděpodobnosti odpovědi na opakovanou platinovou chemoterapii mohla přispět k racionálnějšímu výběru pacientek vhodných k opakované léčbě režimem založeným na platinovém derivátu nebo naopak k preferenci alternativních léčebných strategií. Identifikace biologických markerů predikujících odpověď na platinovou chemoterapii proto představuje jednu z klíčových oblastí současného výzkumu karcinomu ovaria.

3.2 Molekulární determinanty odpovědi na platinovou chemoterapii

Platinové deriváty patří mezi cytotoxické látky poškozující DNA nádorových buněk. Hlavní mechanismus jejich účinku spočívá v tvorbě kovalentních příčných vazeb mezi bázemi vláken DNA, což vede k narušení replikace a transkripce, k aktivaci buněčné odpovědi na poškození DNA a následně k indukci apoptózy. Účinnost platinové chemoterapie je významně ovlivněna schopností nádorových buněk rozpoznat a opravovat vzniklé poškození DNA, zejména prostřednictvím mechanismů homologní rekombinace a nukleotidové excizní opravy DNA. Porucha těchto reparačních drah, typicky při deficitu homologní rekombinace, vede ke zvýšené citlivosti nádoru na léčbu platinovými deriváty.

Naopak perzistující nebo postupně vznikající rezistence k platinové chemoterapii je jednou z hlavních příčin léčebného selhání a vysoké mortality pacientek s karcinomem ovaria. Z biologického hlediska lze rozlišovat primární rezistenci, kdy jsou nádorové buňky vůči platinové chemoterapii rezistentní již před zahájením léčby, a získanou rezistenci vznikající v průběhu systémové terapie v důsledku selekčního tlaku léčby a adaptivních změn nádorových buněk. U karcinomu ovaria se pravděpodobně uplatňuje kombinace obou mechanismů, přičemž významnou roli hrají nádorová heterogenita a klonální evoluce rezistentních buněčných populací.

Hlavní mechanismy platinové rezistence shrnuje Tabulka 11. Zjednodušeně lze rozdělit na faktory podmíněné vlastnostmi nádorových buněk a faktory podmíněné nádorovým mikroprostředím. Mezi intracelulární mechanismy patří především alterace procesů reparace DNA, změny v transportu platinových derivátů, únik apoptózy, epigenetická plasticita a metabolická adaptace nádorových buněk. Významnou roli však hrají také extracelulární mechanismy zahrnující interakce s nádorovými fibroblasty, imunitními buňkami, extracelulární matrix a metabolickým mikroprostředím ascitu a omenta. Platinová rezistence tak představuje komplexní biologický proces vznikající na základě dynamické interakce nádorových buněk a jejich mikroprostředí [61, 62].

Tabulka 11: Hlavní molekulární determinanty odpovědi na platinovou chemoterapii u karcinomu ovaria.

Mechanismus	Příklady alterací / markerů	Potenciální význam
-------------	-----------------------------	--------------------

Poruchy reparace DNA	reverzní mutace <i>BRCA1/2</i> zvýšená exprese RAD51 ztráta exprese SLFN11	ovlivnění citlivosti k platinovým derivátům a PARP inhibitorům
Regulace buněčného cyklu	<i>CCNE1</i> amplifikace, <i>TP53</i> , aletrace <i>SMARCA4</i>	chemorezistence, zvýšená genomová nestabilita, horší prognóza
Transport a detoxifikace léčiv	<i>MDR1/ABCB1</i> , <i>GSTP1</i>	snížená intracelulární koncentrace platiny
Poruchy apoptózy	BCL2, p53 signální dráha	únik apoptóze
Epigenetická plasticita	methylace promotoru <i>BRCA1</i> , remodelace chromatinu	adaptace nádoru na léčbu
Stem-like fenotyp a EMT	ALDH1, CD44, EMT markery	přežívání reziduálních buněk
Nádorové mikroprostředí	CAFs, TAMs, cytokiny, ascites	podpora chemorezistentního fenotypu
Imunitní regulace	PD-L1, TILs	ovlivnění prognózy a léčebné odpovědi
Metabolická adaptace	hypoxie, oxidativní stres	přežívání při cytotoxickém stresu

HRD – deficit homologní rekombinace; BRCA1/2 – breast cancer susceptibility genes 1/2; RAD51 – RAD51 recombinase; SLFN11 – schlafen family member 11; CCNE1 – cyclin E1; TP53 – tumor protein p53; SMARCA4 – SWI/SNF related matrix associated actin dependent regulator of chromatin subfamily A member 4; MDR1/ABCB1 – multidrug resistance protein 1 / ATP binding cassette subfamily B member 1; GSTP1 – glutathione S-transferase pi 1; BCL2 – B-cell lymphoma 2; EMT – epitelálně-mezenchymální tranzice; CAF – fibroblasty asociované s nádorem; TAM – tumor asociované makrofágy; PD-L1 – programmed death ligand 1; TIL – tumor infiltruující lymfocyty.

Schopnost malého množství přežívajících nádorových buněk přetrvávat po primární léčbě ve formě minimální reziduální choroby a následně iniciovat recidivu onemocnění odráží značnou biologickou komplexitu karcinomu ovaria. Detailnější porozumění mechanismům umožňujícím přežití chemorezistentních buněk představuje jeden z klíčových předpokladů pro vývoj účinnějších prediktivních markerů i nových terapeutických strategií.

Následující podkapitoly jsou věnovány vlastním pracím autorky zaměřeným na vybrané molekulární determinanty odpovědi na platinovou chemoterapii.

3.3 Schlafen11 a odpověď na DNA-poškozující léčbu

Protein Schlafen11 (SLFN11), produkt jednoho z genů tzv. Schlafen family, se podílí na regulaci buněčné odpovědi na replikační stres a poškození DNA. Experimentální práce ukázaly, že buňky s vysokou expresí SLFN11 po expozici cytostatikům podléhají ireverzibilní zástavě buněčného cyklu v S-fázi a následné apoptóze, zatímco buňky deficientní v expresi SLFN11 jsou schopny pokračovat v replikaci DNA za současné aktivace kontrolních drah ATR/Chk1. SLFN11 tak pravděpodobně představuje samostatný regulační mechanismus buněčné odpovědi na replikační stres působící paralelně k tradičním drahám reparace poškozené DNA. Pro svůj význam v regulaci buněčné odpovědi na genomový stres bývá SLFN11 označován jako „strážce genomu“ [63].

Vedle přímého vlivu na buněčnou odpověď na DNA-poškozující léčbu je SLFN11 v poslední době studován také v kontextu nádorového mikroprostředí a protinádorové imunity. Dostupná data naznačují, že exprese SLFN11 není omezena pouze na nádorové buňky, ale je přítomna také v různých populacích imunitních buněk infiltrujících nádorové mikroprostředí. Vyšší exprese SLFN11 byla opakovaně spojena se známkami aktivované protinádorové imunitní odpovědi, včetně vyšší infiltrace tumor infiltrujících lymfocytů, aktivace interferonových signálních drah a exprese genových signatur asociovaných s imunogenní buněčnou smrtí. Současně se předpokládá, že DNA-poškozující léčba může prostřednictvím replikačního stresu a aktivace imunitní odpovědi dále modulovat expresi SLFN11 a podporovat interakci mezi nádorovými a imunitními buňkami. SLFN11 tak pravděpodobně představuje nejen marker nádorově podmíněné citlivosti k DNA-poškozující léčbě, ale také širší biomarker odrážející biologickou interakci mezi nádorem, genomovým stresem a protinádorovou imunitní odpovědí [64].

První poznatky o biologické a klinické roli SLFN11 pocházejí především ze studií u hematologických malignit a malobuněčného karcinomu plic, kde byla vysoká exprese SLFN11 opakovaně spojena se zvýšenou citlivostí k platinovým derivátům, topoizomerázovým inhibitorům a PARP inhibitorům. Postupně byla jeho potenciální prediktivní role studována také u dalších solidních nádorů, včetně karcinomu ovaria. Nepochybnou výhodou pro potenciální klinické využití je možnost stanovovat míru exprese imunohistochemicky, tedy metodikou běžně dostupnou v klinické praxi.

3.3.1 Vlastní přínos k problematice

Problematice SLFN11 jako markeru odpovědi na DNA-poškozující léčbu u karcinomu ovaria byly věnovány dvě publikace.

První z nich představuje narativní přehled zaměřený na biologickou a klinickou roli proteinu SLFN11 jako potenciálního prediktivního markeru odpovědi na DNA-poškozující léčbu u karcinomu ovaria. Práce systematicky shrnuje mechanismus účinku SLFN11 v regulaci replikačního stresu a buněčné odpovědi na poškození DNA, jeho vztah k checkpointovým drahám ATR/CHK1 a možné mechanismy epigenetické regulace exprese SLFN11. Součástí review je rovněž diskuse o možnostech terapeutického překonání rezistence prostřednictvím inhibitorů replikačních checkpointů a epigenetické modulace.

Významná část práce je věnována metodologickým aspektům hodnocení exprese SLFN11, heterogenitě mezi jednotlivými histologickými typy karcinomu ovaria a limitacím dosud publikovaných studií. Review současně shrnuje dostupná preklinická i klinická data naznačující souvislost vysoké exprese SLFN11 se zvýšenou citlivostí na platinové deriváty, inhibitory PARP a další DNA-poškozující léčbu. Přínosem práce bylo komplexní shrnutí problematiky SLFN11 u karcinomu ovaria v období rychle narůstajícího zájmu o tento biomarker a identifikace klíčových oblastí pro další translační a klinický výzkum. Práce vytvořila teoretický základ pro následnou pilotní analýzu vlastního souboru pacientek hodnotící vztah exprese SLFN11 k odpovědi na platinovou chemoterapii a prognóze onemocnění.

Druhá práce prezentuje formou článku ve sborníku výsledky pilotní retrospektivní analýzy hodnotící imunohistochemickou expresi proteinu SLFN11 u pacientek s

karcinomem ovaria léčených platinovou chemoterapií v rámci primární systémové léčby. Do analýzy bylo zařazeno celkem 61 pacientek léčených v letech 2010–2021, rozdělených podle odpovědi na platinovou chemoterapii na skupinu pacientek s platina-senzitivním a platina-rezistentním onemocněním. Expresí SLFN11 byla hodnocena imunohistochemicky na archivních vzorcích nádoru odebraných před zahájením systémové léčby, a to pomocí H-skóre i procentuální positivity nádorových buněk.

Práce prokázala obecně nízkou expresi SLFN11 v hodnoceném souboru a neprokázala statisticky významnou souvislost mezi expresí SLFN11 v nádorových buňkách a odpovědí na platinovou chemoterapii hodnocenou délkou bezplatinového intervalu (TFIp). Studie současně upozornila na významné metodologické limity imunohistochemického hodnocení SLFN11.

Přínosem práce bylo především ověření proveditelnosti imunohistochemického stanovení SLFN11 v rutinní patologické praxi a kritické zhodnocení limitací této metodiky v podmínkách reálné klinické kohorty pacientek s karcinomem ovaria. Výsledky pilotní analýzy současně podpořily potřebu další standardizace hodnocení exprese SLFN11 a validace jeho potenciálního prediktivního významu v rozsáhlejších prospektivních studiích.

Příloha 6: Can Schlafen 11 Help to Stratify Ovarian Cancer Patients Treated with DNA-Damaging Agents?

BEDNARIKOVA, Marketa, HAUSNEROVA, Jitka, EHRLICHOVA, Lucie, MATULOVA, Kvetoslava, GAZARKOVA, Eliska, MINAR, Lubos a WEINBERGER, Vit. *Cancers*. 2022, 14(10), 2353. ISSN 2072-6694. doi:10.3390/cancers14102353

IF = 5,200; median IF ONCOLOGY – 3,600; according to IF ONCOLOGY Q2; according to AIS ONCOLOGY Q2

Typ příspěvku: přehledová práce.

Vlastní přínos autorky: iniciace tématu, návrh struktury review, systematická literární rešerše, odborná syntéza současných poznatků a příprava rukopisu

Review

Can Schlafen 11 Help to Stratify Ovarian Cancer Patients Treated with DNA-Damaging Agents?

Marketa Bednarikova ¹, Jitka Hausnerova ², Lucie Ehrlichova ¹, Kvetoslava Matulova ², Eliska Gazarkova ³, Lubos Minar ³ and Vit Weinberger ^{3,*}

- ¹ Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, Masaryk University and University Hospital, 625 00 Brno, Czech Republic; bednarikova.marketa@fnbrno.cz (M.B.); ehrlichova.lucie@fnbrno.cz (L.E.)
² Department of Pathology, Masaryk University and University Hospital, 625 00 Brno, Czech Republic; hausnerova.jitka@fnbrno.cz (J.H.); matulova.kvetoslava@fnbrno.cz (K.M.)
³ Department of Obstetrics and Gynecology, Masaryk University and University Hospital, 625 00 Brno, Czech Republic; gazarkova.eliska@fnbrno.cz (E.G.); minar.lubos@fnbrno.cz (L.M.)
* Correspondence: weinberger.vit@fnbrno.cz

Simple Summary: Anticancer agents causing DNA damage are widely used in the treatment of ovarian cancer; however, predictive biomarkers capable of optimizing the selection of patients with the best likelihood of a good response have not been defined yet. The newly discovered protein Schlafen 11 was identified to have a casual association with responses to a wide range of DNA-damaging agents, including platinum compounds and PARP inhibitors. We review the current state of knowledge regarding the role of Schlafen 11 as a biomarker in ovarian cancer and its potential to identify patients not responding to the systemic treatment.



Citation: Bednarikova, M.; Hausnerova, J.; Ehrlichova, L.; Matulova, K.; Gazarkova, E.; Minar, L.; Weinberger, V. Can Schlafen 11 Help to Stratify Ovarian Cancer Patients Treated with DNA-Damaging Agents? *Cancers* **2022**, *14*, 2353. <https://doi.org/10.3390/cancers14102353>

Academic Editor: Donatella Aldinucci

Received: 25 March 2022
Accepted: 6 May 2022
Published: 10 May 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Platinum-based chemotherapy has been the cornerstone of systemic treatment in ovarian cancer. Since no validated molecular predictive markers have been identified yet, the response to platinum-based chemotherapy has been evaluated clinically, based on platinum-free interval. The new promising marker Schlafen 11 seems to correlate with sensitivity or resistance to DNA-damaging agents, including platinum compounds or PARP inhibitors in various types of cancer. We provide background information about the function of Schlafen 11, its evaluation in tumor tissue, and its prevalence in ovarian cancer. We discuss the current evidence of the correlation of Schlafen 11 expression in ovarian cancer with treatment outcomes and the potential use of Schlafen 11 as the key predictive and prognostic marker that could help to better stratify ovarian cancer patients treated with platinum-based chemotherapy or PARP inhibitors. We also provide perspectives on future directions in the research on this promising marker.

Keywords: SLFN11; ovarian cancer; high-grade serous carcinoma; DNA-damaging agents; PARPi; chemoresistance

1. Introduction

Ovarian cancer (OC) is the leading cause of death amongst all gynecological cancers, with an overall 5-year survival rate of no more than 35% for advanced stages [1,2]. For decades, primary therapy has consisted of cytoreductive surgery and platinum-based chemotherapy (CT). The leading cause of the high mortality rate, besides the diagnosis at an advanced stage, is the sooner or later acquired resistance to systemic therapy despite a good response in the majority of cases initially. Thus, platinum sensitivity or resistance, together with tumor stage, histotype, and the ability of complete surgical resection, represent the main clinically used prognostic factors. Moreover, platinum sensitivity is the key predictive factor for the successful subsequent treatment of recurrent disease [3,4].

Lately, the anti-angiogenic agent bevacizumab, and poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors (PARPi) have become an integral part of the systemic treatment of primary or

3. SLFN11 as a Guardian of the Genome in Response to Replication Stress

In 2012, two independent research groups discovered by bioinformatic analyses of large cancer cell line panels that the nuclear protein SLFN11 is the causal and dominant genomic determinant of response to DNA-damaging agents [10,24]. Further studies confirmed that the nuclear protein SLFN11 plays a crucial role in cell cycle arrest and the induction of apoptosis in response to replication stress and therefore acts as a guardian of the genome. In case of various types of DNA damage caused by anticancer agents, such as covalent DNA adducts formed by platinum compounds or inhibition of DNA repair by PARPi (see Table 1), SLFN11 binds to stressed replication forks and thus blocks replicative helicase complex, induces chromatin opening, and forces the degradation of the key replication factor CD1 [31–34]. These processes ultimately lead to irreversible cell death.

Table 1. Anticancer agents inducing replication stress (based on [35]).

DNA-Targeting Agents	Representative Drugs	Target	Mechanism of Action
Alkylating agents	Cisplatin Carboplatin Oxaliplatin	DNA template damage	Inter-strand crosslinks
	Temozolomide	DNA template damage MGMT	O ⁶ -alkyl-guanine lesions on DNA
TOP I and II inhibitors	Irinotecan Topotecan Etoposide Doxorubicin Mitoxantrone	DNA template damage	Block the re-ligation of the TOP-DNA cleavage complexes
PARP inhibitors	Olaparib Rucaparib Niraparib Talazoparib Veliparib	DNA template damage by defective single-strand breaks repair	Generating toxic PARP-DNA complexes
Nucleoside analogs	Gemcitabine Cytarabine 5-azacytidine	DNA elongation inhibition	Blocking DNA polymerase or reducing the pool of nucleotides

Abbreviations: TOP = topoisomerase; PARP = poly (ADP-ribose) polymerase; DNA = deoxyribonucleic acid; MGMT = DNA-repair protein O⁶ methylguanine-DNA methyltransferase.

SLFN11-mediated cell cycle inhibition works independently on the classical signal pathway of ataxia telangiectasia mutated and Rad3-related and checkpoint kinase 1 (ATR/CHK1) [36,37]. Notably, the effectivity of non-DNA-damaging anticancer drugs acting by a different mechanism (such as microtubules inhibitors, kinase inhibitors, or mTOR inhibitors) is independent of the level of SLFN11 expression [10,24].

Lack of SLFN11 expression makes the functionality of the SLFN11-mediated system impossible and increases tumor viability. SLFN11-low cancer cells then rely on the ATR/CHK1 DNA repair system that enables only reversible cell-cycle arrest in response to replication stress. Cells are then capable of repairing DNA damage and recover replication, which contributes to resistance to DDA [12,25] (see Figure 1).

Based on detailed analyses of cancer cell lines, neither clinically meaningful SLFN11 mutations nor its copy number variations have been reported. Thus, the current evidence suggests that the expression level of SLFN11 is largely regulated by epigenetic processes such as DNA methylation and histone modifications [36,38,39]. Indeed, in different tumor types, epigenetic modifications have been shown to cause loss of SLFN11 expression and associated resistance to DDA [25,36,39–42]. These epigenetic processes may also induce dynamic changes in tumor expression levels of SLFN11 during chemotherapy and cause the development of acquired resistance to DDA [23,43,44]. On top of that, as these modifications are reversible, the therapeutic interventions using inhibitors of DNA methylation

relapsed ovarian cancer [5–8]. Unfortunately, the precise selection of patients with a high probability of a good response to this novel therapy remains far from optimal. Despite the high cost and significant toxicity of bevacizumab, no predictive markers for treatment response have been identified yet. The precise prediction of platinum resistance would help to protect non-responders from an even more aggressive combination with bevacizumab. Similarly, regardless of the known effect of PARPi, especially in ovarian cancer with either a mutation in the BRCA 1/2 genes or a deficiency in the homologous recombination system (HR), even patients with HR-proficient tumors may benefit from PARPi [9]. On top of that, not all BRCA-deficient tumors are sensitive to PARPi [10]. The sensitivity to PARPi has been associated with defects in the DNA damage response. Therefore, the identification of markers predicting sensitivity to platinum compounds belonging to DNA damage-inducing agents (DDA) could also help in this field [11,12].

So far, platinum sensitivity or resistance has been evaluated clinically, based on a platinum-free interval (TfIp), i.e., the time between the last course of platinum-based chemotherapy and the progression of the disease. Despite platinum-sensitivity in the majority of ovarian cancers, there is a significant proportion of patients with primary platinum-refractory or resistant disease (i.e., progressive during or shortly after the termination of primary chemotherapy). In other words, about 30–40% of patients undergo an ineffective initial treatment accompanied by substantial side effects [4,13,14]. Although some genetic alterations are known to be associated with resistance to the platinum-containing regimen, no validated molecular predictive biomarkers capable of predicting response to platinum-based chemotherapy have been identified yet [14–17].

Schlafen 11 (SLFN11), a member of the mammalian Schlafen family of growth regulatory genes first described in 1998, was recently identified to have a casual association with response to a wide range of DDA, including platinum salts and PARPi. Multiple preclinical models and some clinical studies have demonstrated that high SLFN11 expression levels positively correlate with increased DDA sensitivity in various types of cancers [11,18–23]. Conversely, the loss of SLFN11 expression is associated with resistance to these therapeutics [10,24,25]. Independent groups proved that SLFN11 expression in tumor cells could be easily assessed by immunohistochemistry [26–29]. Altogether, data published so far suggest the promising role of SLFN11 as a predictive biomarker in the clinical setting across multiple cancers [12,30].

In this review, we aim to summarize the current knowledge of the role of SLFN11 in ovarian cancer. Here, we briefly describe the function of Schlafen 11 and its vital importance for the maintenance of genomic stability under replication stress. We review the available information about the prevalence of SLFN11 in ovarian cancer, the possibilities of its determination in tumor tissue, as well as the current level of evidence about the correlation between SLFN11 expression levels in ovarian cancer and response to DDA or PARPi. We also focus on the available data on the potential prognostic role of SLFN11 in ovarian cancer patients.

2. Materials and Methods

For this review, we used the results of studies and review articles on the subject published in English up to December 2021. They were identified through a search of the literature using PubMed, MEDLINE-Ovid, Scopus, and Cochrane Library with the keywords ('Schlafen 11' OR 'SLFN11' OR 'DNA damage' OR 'DDA' OR 'PARPi' OR 'platinum sensitivity' OR 'platinum resistance') AND ('ovarian cancer' OR 'high-grade serous carcinoma'). We retrieved and assessed potentially relevant papers and checked the reference list of all papers of interest to identify additional relevant publications.

(such as 5-azacytidine) or histone deacetylases (such as romidepsin or entinostat) may result in the re-increase in SLFN11 tumor expression levels and thus re-sensitization to DDA, making SLFN11 an attractive therapeutic target [25,34,42,43,45,46]. The other way to synergistically overcome the resistance of low SLFN11 tumors to DNA-damaging agents is by using replication checkpoint inhibitors (ATR/CHK1/WEE1 inhibitors), such as berzosertib, ceralasertib, and elimustertib [35] (Figure 1).

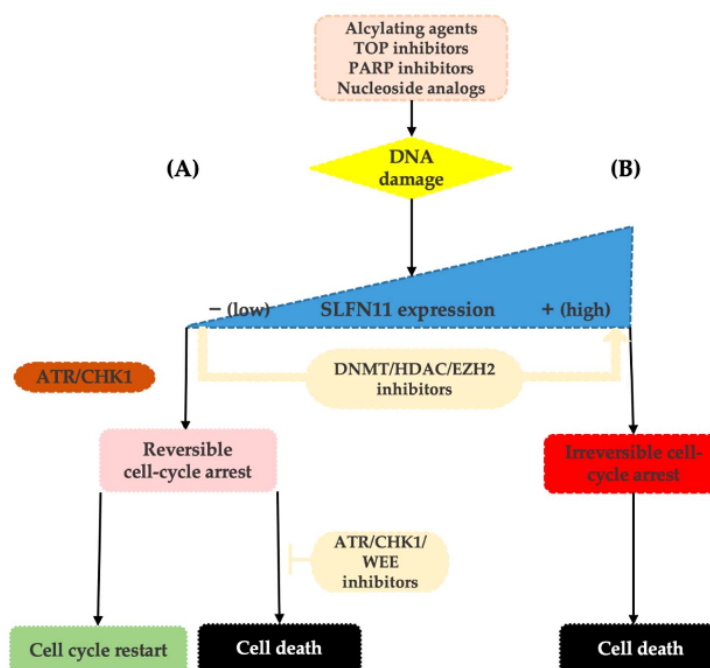


Figure 1. Upon replication stress caused by various types of DDA, SLFN11-proficient cells undergo an enforced G1/S arrest ultimately resulting in cell death (B). On the contrary, SLFN11-deficient cells reliant on the ATR/CHK1 pathway re-enter the cell cycle, slowly progress through the S-phase, and following DNA repair can survive (A). SLFN11 expression can be reactivated by the inhibitors of epigenetic modulators, such as DNA methyltransferase (DNMT), histone deacetylase (HDAC), or EZH2 inhibitors. Resistance of SLFN11-deficient cells can be overcome by combination with ATR/CHK1/WEE1 inhibitors.

4. Clinical Evaluation of SLFN11 Status

Initially, quantification of SLFN11 expression either in cancer cell lines or patient-derived xenografts (PDX) was performed by transcript analyses using Western blotting [10,11,18,24,43]. Subsequently, protein assessment in tumor tissue by immunohistochemistry (IHC) was proven as an acceptable method in various types of cancer [21,26–28].

According to the study by Lok et al. on PDX models, SLFN11 IHC scoring seemed to be a stronger predictor of PARPi efficacy than both SLFN11 gene expression and protein expression by Western blot [27]. Subsequently, Takashima et al. demonstrated a substantial discrepancy between SLFN11 expression in tumor samples assessed by IHC and RNA-seq performed in non-microdissected tissue samples from The Cancer Genome Atlas (TCGA) datasets. Levels measured by RNA-seq reflected not only SLFN11 positivity in the cancer cell, but also in the surrounding stromal or inflammatory cells. On the other hand, immunohistochemistry enabled distinctions between positivity in cancer and non-

cancer cells. These results indicate a potential of IHC to be of key importance for the precise identification of SLFN11-negative tumors that can be non-responsive to the DNA-damaging agents [29]. Therefore immunohistochemistry, the well-established and widely accepted pathological method, seems to be optimal for the evaluation of SLFN11 expression in patient samples. Undoubtedly the feasibility of immunohistochemical testing for SLFN11 could facilitate the rapid implementation of SLFN11 assessments into clinical practice.

One of the important studies aiming to provide a practical resource for the utility of SLFN11 in clinical practice was published by Takashima et al. They performed a comprehensive analysis of SLFN11 expression in malignant and the adjacent non-tumor tissues across 16 human organs. They compared three commercially available antibodies and proved the mouse D-2 (#sc-515071, Santa Cruz) had the best specificity and sensitivity ratio. They also established a rigid step-by-step protocol and scoring system for evaluating SLFN11 expression by IHC. According to the average values of the ratio of positivity, SLFN11 immunohistochemical scores were considered 1+ (1–10%), 2+ (11–50%), or 3+ (51–100%). Their results demonstrated a broad diversity of SLFN11 expression among organs. They also showed SLFN11 expression to be highly dynamic and very different in non-tumor and tumor tissues. While in some organs, such as colon and prostate, tumor and non-tumor tissues were consistently negative, in other organs there was a tendency for SLFN11 positivity to be higher (breast, uterine corpus, ovary) or lower (lung, glioblastoma, papillary renal cell carcinoma) in tumors compared to non-tumor tissues [29].

As far as experiences with immunohistochemical testing for SLFN11 in ovarian cancer are concerned, in addition to Takashima et al., the results of four other studies have been published so far. Firstly, Velone presented at the SLFN11 monothematic workshop in 2017 the analysis of 75 cases of high-grade serous carcinoma (HGSC). As there was no commercial kit available for SLFN11 immunohistochemical testing at that time, they adopted two kits originally commercialized for Western Blot. According to their findings, IHC appeared clean and specific in samples of HGSC. For the evaluation of SLFN11 levels by IHC, they used the histological score (H-score; HS) with values 0–9 calculated based on an evaluation of the staining intensity score (IS) and the distribution score of stained cells (DS). Cases were then considered as “SLFN11 negative” (HS = 0), “SLFN11 low” (HS = 1, 2), “SLFN11 intermediate” (HS = 3, 4), or “SLFN11 high” (HS = 6, 9), see Table 2 [12].

Table 2. Summary of methodologies used for the immunohistochemical analysis of SLFN11 expression in different studies.

Tumor Origin (n)	Tissue	Antibody	Evaluation	Author [Reference]
CRC (261)	FFPE	Abcam; ab121731	H-score; value 0–6 ¹ >4.5—high	Deng [26]
HGSC (75)	N/A	N/A	H-score; value 0–9 ² 0—negative 1, 2—low 3, 4—intermediate 6, 9—high	Ballestrero [12]
SCLC (12)	PDX	Sigma-Aldrich; HPA023030	H-score; value 0–300 ³	Stewart [11]
SCLC (7)	PDX	Sigma-Aldrich; HPA023030	H-score; value 0–300 ³ low v. high	Lok [27]
SCLC (48)	FFPE	Sigma-Aldrich; HPA023030	H-score; value 0–300 ³ >1—positive	Pietanza [28]
HCC (182/110)	FFPE	Sigma-Aldrich; HPA023030	H-score 0/+—low ++/+++—high	Zhou [47]

Table 2. Cont.

Tumor Origin (<i>n</i>)	Tissue	Antibody	Evaluation	Author [Reference]
TNBC (40)	PDX	Sigma-Aldrich; HPA023030	H-score; value 0–300 ³ 0—negative 1–60—low >60—high	Coussy [21]
ESCC (73)	FFPE	Santa Cruz; #sc-515071	H-score; value 0–300 ³ ≥51—high	Kagami [48]
16 human adult organs; malignant and adjacent non-tumor tissue (~ 700)	FFPE	1. Sigma-Aldrich; #H117570 2. Santa Cruz; #sc-374339 3. Santa Cruz; #sc-515071	IHC scoring system 1+ (1–10%) 2+ (11–50%) 3+ (51–100%)	Takashima [29]
Various cancer types	PDX	Abcam; ab121731	H-score; value 0–300 ³ ≥31—high	Winkler [46]
HGSC (28)	FFPE	Abcam; ab121731	H-score; value 0–300 ³ ≥60—high	Winkler [49]
Pediatric sarcoma (220)	FFPE	Sigma-Aldrich; HPA023030	H-score; value 0–300 ³ 0—negative ≥1—positive	Gartrell [50]
Gastric (169)	FFPE	Santa Cruz; #sc-515071	IHC scoring system >30%—positive	Takashima [23]
Bladder (120)	FFPE	Santa Cruz; #sc-515071	IHC scoring system >5%—positive	Taniyama [51]
Non-tumor tissue (86) SCLC (124) HGSC (151)	TMA FFPE	Merck; MABF248 Abcam; ab121731 Novus; NBP2-57084	H-score; value 0–300 ³ >122—high >30—high	Willis [52]

Abbreviations: *n* = number of patients/samples, CRC = colorectal cancer, OC = ovarian cancer, HGSC = high-grade serous carcinoma, SCLC = small cell lung cancer, TNBC = triple-negative breast cancer, ESCC = esophageal squamous cell carcinoma, DX = patient-derived xenograft, FFPE = Formalin-fixed paraffin-embedded blocks, TMA = tissue microarray. ¹ HS = intensity (0... none; 1... weak; 2... moderate; 3... strong) + proportion (0... <25% positive cells; 1... 25–50%; 2... 50–75%; 3... >75%). ² HS = intensity score (0... no stain; 1+... weak; 2+... moderate; 3+... intense) × distribution scores (0... no stained cells; 1+... <10%; 2+... 10–40%; 3+... >40%). ³ HS = (% of cells 1+) + (% of cells 2+) × 2 + (% of cells 1+) × 3.

Subsequently, two studies by Winkler et al. were published in 2021, both using the same rabbit polyclonal anti-SLFN11 antibody (ab121731; Abcam, Cambridge, MA, USA) and H-score calculated using an identical methodology (Table 2). In the first study aiming to provide a comprehensive analysis of the clinical significance of SLFN11 as a predictive biomarker to DDA on a wide range of cancer models, including ovarian cancer, the cutoff of 31 H-score showed a good predictive power [46]. On the other hand, in the second study focused on SLFN11 assessment in cohorts of platinum-sensitive (PS; *n* = 15) and platinum-resistant (PR; *n* = 13) ovarian cancer, a H-score cutoff of 60 obtained maximized accuracy in classifying cohorts according to the response to platinum-based chemotherapy. Notably, in this study, SLFN11 transcript levels by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and protein levels in formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue by IHC showed a strongly significant correlation (*p* = 0.0051) [49].

The authors of the study with the largest number of samples were focused on the correlation of SLFN11 tumor levels with the clinical outcomes of patients treated with standard chemotherapy or olaparib maintenance. The whole evaluated cohort of HGSC samples (*n* = 151) consisted of platinum-resistant resection specimens (*n* = 7) obtained from Asterand, samples in a tissue microarray (TMA) format from patients (*n* = 110) treated with olaparib or placebo maintenance in the Study 19 [53], and samples from patients (*n* = 34) with different responses to first-line paclitaxel-carboplatin (PAC/CBDCA) chemotherapy [17]. To divide samples into the ‘SLFN high’ or ‘SLFN-low’ group, an H-

score cutoff of 30 was developed based on expression distribution. Interestingly, that value was substantially different from the cohort of patients with small-cell lung cancer in the same study with a H-score cutoff of 122 [52].

Taken together, when assessing the available data about the immunohistochemical analysis of SLFN11 in tumor tissue, including ovarian cancer, the following important facts have to be pointed out. Different types of antibodies, distinct methodologies for evaluating immunohistochemical staining, and most importantly, different cutoffs for SLFN11 positivity have been used in the studies published so far (see Table 2).

The promising method for allowing SLFN11 expression to be tracked longitudinally in a non-invasive manner during the course of the disease seems to be an assessment on circulating tumor cells, as has been described recently in small cell lung cancer [54,55]. However, the potential use of circulating tumor cells in ovarian cancer for this purpose is still unclear. Since the intraperitoneal spread is considered to be the primary way of metastasis in ovarian cancer, circulating tumor cell research has not been too extensive so far in this field. Moreover, their isolation and detection methods affect the use of circulating tumor cells in ovarian cancer [56,57].

5. Prevalence of SLFN11 in Ovarian Cancer

According to the findings from preclinical studies, approximately 50% of cancer cell lines do not express SLFN11, making its expression bimodal [35,36]. Besides, the quantification of SLFN11 either by transcript levels or immunohistochemical assessment revealed a broad range of SLFN11 expression in various tumor types, including ovarian cancer [26,29,48,50,52]. These findings indicate potential for the successful use of SLFN11 as a biomarker.

Already in the first study describing the discovery of significant correlation of SLFN11 with the response of cancer cells to DNA-damaging agents, microarray data obtained from patients affected by ovarian carcinoma ($n = 38$) and from corresponding healthy tissues ($n = 8$) available from The Cancer Genome Atlas database were also analyzed. Tumor samples showed a greater than fivefold SLFN11 expression range compared to healthy tissues, with several cancer samples having a higher or lower SLFN11 expression than the interquartile range for its expression in normal tissues (p -value < 0.05) [24].

In agreement with preclinical findings, in studies retrospectively evaluating SLFN11 status in samples of patients with ovarian cancer (mainly serous carcinoma) either by IHC or methylation-specific PCR, the proportion of samples with an SLFN11-negative (i.e., IHC 0+; H-score value 0–10) or methylated status counted consistently around 40% [12,25,49,52].

In the comprehensive study by Takashima et al. (see also above in part 4), the evaluated cohort of ovarian cancer and adjacent non-tumor tissue consisted of serous carcinoma ($n = 18$), clear cell carcinoma ($n = 7$), endometrioid carcinoma ($n = 3$), mucinous carcinoma ($n = 9$), and non-tumor Fallopian tube ($n = 15$). Unlike the 100% SLFN11 positivity in non-tumor tissue, a total of 14 cancer samples (38%) were evaluated as SLFN11-negative. A substantial percentage of SLFN11-negative tumors was observed in mucinous carcinoma (77%), while the other histological types showed no SLFN11 expression in 14–33% [29].

Consistent with the findings of Takashima et al., in the retrospective study by Willis et al. evaluating three different cohorts of ovarian cancer samples (see above part 4), the SLFN11 expression was generally low in serous carcinoma with a median H-score of 20. This study described a subset of tumors with sub-clonal SLFN11 expression based on immunohistochemical analysis, where spatially distinct high and low SLFN11 expressing sub-clones were identified within the same patient sample. Sub-clonality was found in 6/34 FFPE blocks of high-grade serous carcinoma from patients with extremely good or poor responses to first-line platinum (P)-based chemotherapy. Still, it was rarely observed in tissue microarrays (TMAs) from the Study 19 cohort due to the small core size. Other SLFN11 protein and RNA detection methods were not suitable for the assessment of sub-clonality [52].

6. SLFN11 as a Predictive Biomarker for DDA or PARPi Response in Ovarian Cancer Patients

As mentioned above, the presence of SLFN11 was found to be associated with sensitivity to DDA and PARPi across a variety of cancer cell lines and patient-derived xenografts, including small cell lung cancer, colorectal cancer, sarcoma, gastric cancer, mesothelioma, and ovarian cancer. On the other hand, the low or absent expression of SLFN11 has been associated with resistance [30,35]. Remarkably, sensitivity to PARPi seemed to be independent of BRCA1/2 mutations or HR deficiency in preclinical studies [11,45]. Furthermore, the predictive strength of SLFN11 positivity may depend on the degree of PARP trapping that varies among PARPi, with talazoparib being the strongest and veliparib the weakest [30,45].

Based on promising findings from preclinical studies, the predictive role of SLFN11 is being assessed across different cancer types in a clinical setting. There is increasing evidence that patients with SLFN11-positive solid tumors, such as small cell lung cancer or Ewing sarcoma, respond better to DDA and/or PARPi [28,58,59].

Regarding the predictive role of SLFN11 in ovarian cancer, three studies have been published so far, two of them mainly exploratory in nature (see Table 3). Shee et al. analyzed the correlation between tumor SLFN11 mRNA levels and treatment outcomes in the datasets of 75 ovarian cancer patients treated with primary platinum-based chemotherapy. Patients were stratified based on disease-free survival (DFS) as highly sensitive (defined as DFS > 732 days) or non-highly sensitive (non-HS; DFS ≤ 732 days). While statistically limited by the sample size, they demonstrated a trend towards higher levels of SLFN11 expression in highly sensitive vs. non-HS ($p = 0.057$) [20].

Table 3. Summary of studies evaluating the prognostic or predictive role of SLFN11 in ovarian cancer patients treated with platinum (P)-based chemotherapy or olaparib.

Type	Regime	<i>n</i>	Method	Results	Author [Reference]
cystadenocarcinoma	P-based	110	IB	high SLFN11 expression independently predicts better OS	Zoppoli [24]
serous OC	P-based	41	M	SLFN11 hypermethylation was significantly associated with shorter OS and PFS	Nogales [25]
OC	P-based	110 (OS) 75 (DFS)	RNA-seq	- high SLFN11 expression was associated with longer OS - trend towards higher levels of SLFN11 expression in patients with DFS > 2y	Shee [20]
HGSC	P-based	28 (PFI) 221 (OS)	IHC	- overall H-score in cancer and non-cancer cells was strongly associated with longer PFI - SLFN11 is independently prognostic in the TCGA HGSC dataset	Winkler [49]
HGSC	- P/T - O maint	34 110	IHC	- no significant link between SLFN11 levels and sensitivity to P/T - trend towards longer PFS and OS in SLFN11-high patients - high levels of SLFN11 associated with improved clinical outcome to olaparib	Willis [52]

Abbreviations: OC = ovarian cancer, HGSC = high-grade serous carcinoma, P = platinum, P/T = platinum-paclitaxel, O maint = olaparib maintenance, *n* = number of patients, OS = overall survival, DFS = disease-free survival, PFI = progression-free interval, IB = immunoblotting, M = methylation-specific PCR, IHC = immunohistochemistry, y = years, TCGA = The Cancer Genome Atlas.

In the study by Winkler et al., the internal cohort of 28 patients with advanced stage HGSC was selected based on platinum resistance ($n = 13$; defined as progressing within 6 months from the last dose of platinum-based CT) or sensitivity ($n = 15$) in order to evaluate the predictive value of SLFN11 assessed by IHC. They also evaluated the SLFN11 H-score in cancer cells and in non-cancer stromal cells and overall (i.e., together in cancer and non-cancer cells). While the SLFN11 H-score assessed in cancer cells showed only a borderline significant association (HR = 0.62, 95% confident interval (CI) = 0.38–1.02, $p = 0.0620$), overall and non-cancer higher SLFN11 H-scores were strongly associated with longer progression-free interval (PFI) by univariable analysis (HR = 0.50, 95% CI = 0.33–0.75, $p = 0.0009$; and HR = 0.54, 95% CI = 0.36–0.81, $p = 0.0028$, respectively). Overall SLFN11 protein levels retained their independent prognostic value (adjusted HR = 0.56, 95% CI = 0.37–0.85, $p = 0.0073$), together with age and stage, in the multivariable Cox's regression model. As the authors concluded, the results suggest that SLFN11 levels in both cancer and non-cancer cells may play a role in response to platinum-containing regimens in HGSC. The statistically significant association of SLFN11 with PFI (HR = 0.68, 95% CI = 0.49–0.95, $p = 0.0233$) was subsequently validated in the TCGA dataset of patients with advanced stage HGSC ($n = 221$; 157 progressive events) [49].

Finally, analyses of another cohort of HGSC patients with extremely good or poor responses to first-line PAC/CBDCA ($n = 34$) published in 2021 by Willis et al. (see also part 4) failed to reveal a significant link between immunohistochemical SLFN11 levels and sensitivity to PAC/CBDCA ($p = 0.487$). Consequently, the differences between median PFI in SLFN11-high patients (14 months) and SLFN11-low patients (6 months) did not reach statistical significance ($p = 0.0705$). The same trend was observed for overall survival (OS) with a median of 103 months in the SLFN11-high group compared to 42 months in the SLFN11-low group ($p = 0.2475$). Remarkably, sub-clonality expression was not associated with clinical outcomes, but patient numbers were limited. Conversely, in the same study, they highlighted a trend of high SLFN11 expression and better clinical outcomes to olaparib in the cohort of patients with platinum-sensitive relapsed HGSC treated with olaparib or a placebo and evaluable for SLFN11 status ($n = 110$). The progression-free survival (PFS) hazard ratio (HR) was lower in the SLFN11-high group (>30 H-score), 0.28 HR [0.09, 0.74 95% CI], compared to the SLFN11-low group, HR 0.49 [0.26, 0.91 95% CI]. In the multivariate analysis with adjustment for BRCA status, median PFS was longest in the SLFN11-high groups treated with olaparib (12.4 months BRCAm and 10 months BRCAwt), compared to the SLFN11-low groups (8.3 months BRCAm and 5.5 months BRCAwt) [52].

7. SLFN11 as a Prognostic Biomarker in Ovarian Cancer

The prognostic value of SLFN11 expression has been confirmed in lung [25,52], colorectal [26,60], esophageal [48], gastric [23], bladder cancer [51], and hepatocellular carcinoma [47]. Aside from the studies listed above in part 6, the correlation between SLFN11 expression and prognosis in ovarian cancer has been addressed in two other studies only (see Table 3).

Zoppoli et al. evaluated the expression of SLFN11 by immunoblotting in randomly chosen microarray data obtained from 110 patients affected by ovarian cystadenocarcinoma and treated with a cisplatin-containing regime available from the TCGA database. In the univariate analysis for overall survival, the patients with SLFN11 greater than the mean expression reached a median OS of 80 months [95% CI = 55–105] vs. 49 months [95% CI 38–60] for patients with low SLFN11 expression ($p = 0.016$). SLFN11 retained the significance for OS prediction in a multivariate model together with optimal surgery at diagnosis [24].

Similarly, in the study by Nogales et al. evaluating a cohort of 41 patients with serous ovarian carcinoma treated with platinum compounds, SLFN11 hypermethylation was significantly associated with shorter OS (log-rank test, $p = 0.006$; HR = 3.45; 95% CI = 1.35–8.80). For the patients with PFS information available ($n = 40$), those with SLFN11 hypermethylation showed significantly shorter PFS ($p = 0.003$; HR = 2.99; 95% CI = 1.40–6.40). Moreover, according to the Cox regression multivariate test, SLFN11 was an independent prognostic

factor of OS ($p = 0.02$; HR = 2.91; 95% CI = 1.14–7.41) and PFS ($p = 0.005$; HR = 3.35; 95% CI = 1.75–6.42) [25].

In the context of the proven significance of the immune-infiltrating milieu for modulating ovarian cancer prognosis [61,62], the study by Winkler et al. assessed the correlation between not only SLFN11, but also tumor-infiltrating lymphocytes (TILs; evaluated by CD3 and CD8 staining) with outcome in their HGSC patients' cohort. They found both TILs and SLFN11 to be associated with a better prognosis. As mentioned above in part 6, they assessed not only SLFN11 protein levels in cancer cells but also in different cells of tumor stroma. They yielded exciting evidence of an independent association between SLFN11 density in both the neoplastic and microenvironmental components with a favorable outcome. Taken together, the authors concluded that there is a link between SLFN11 and immune activation in HGSC [49].

8. Conclusions and Perspectives

The discovery of biomarkers predicting responses to systemic anticancer treatment remains an unmet clinical need, not only regarding ovarian cancer. SLFN11 plays a vital role in an irreversible cell cycle arrest upon replication stress. It therefore is causally associated with a response to a wide range of DNA-damaging agents, including platinum compounds or PARPi. The data from both preclinical and clinical studies suggest the significant predictive and prognostic value of SLFN11 expression across various cancer types. As SLFN11 expression tends to be very different among organs and tumors or non-tumor tissue, the focus on which organ of origin would be studied seems to be of substantial clinical significance. Although immunohistochemistry seems to be a feasible and most appropriate method for evaluating SLFN11 status in patient samples, there are still ambiguous data regarding the optimal methodology for immunohistochemical assessment, especially in terms of an optimal cut-off for SLFN11 positivity to predict responses to DNA-damaging agents. The proportion of SLFN11-negative tumors in ovarian cancer seems to vary between 15 and 40% based on histotype and used assay. Current evidence from the studies published so far exploring the prognostic and predictive role of SLFN11 in ovarian cancer patients is unclear, mainly due to the statistical limitations caused by the small sample size. Data show the association of SLFN11 expression in ovarian cancer cells and stromal cancer cells with a better prognosis of patients treated with platinum-containing regimens. These findings indicate the potential role of SLFN11 as a dual biomarker capturing both immunological and cancer dispositions for the sensitivity to DNA-damaging agents.

Further investigation is needed to obtain consistent and validated data by analyses of large ovarian cancer patient cohorts from real clinical praxis. This should form the basis for establishing a unified algorithm for SLFN11 assays and clarifying the role of SLFN status in the stratification of ovarian cancer patients treated with DNA-damaging agents. Based on proven dynamic changes of SLFN11 expression during tumorigenesis and systemic therapy, the timing of tissue sampling for the predictive purpose as close as possible to the start of treatment or even serial monitoring of SLFN11 in case of subsequent lines of treatment seems to be crucial. Furthermore, prospective studies will be warranted to determine the actual clinical significance of SLFN11 in ovarian cancer. Another promising approach for future studies would be using SLFN11 as a therapeutic target for enhancing sensitivity to anticancer therapy.

Author Contributions: Conceptualization, M.B., J.H. and V.W.; methodology, M.B.; resources, M.B., L.E., E.G. and K.M.; writing—original draft preparation, M.B.; writing—review and editing, V.W., J.H. and L.M.; visualization, M.B.; supervision, V.W.; project administration and funding acquisition, V.W. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Ministry of Health of the Czech Republic (MHCR), grant number NU21-03-00306 (date of approval 18 March 2021), and MHCR- Development of Research Organization (FNBr, 65269705, date of approval 28 April 2020).

Acknowledgments: The authors would like to thank Michal Bohm from the Stracathro Hospital, United Kingdom National Health Service, for language editing and proofreading.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R.L.; Laversanne, M.; Soerjomataram, I.; Jemal, A.; Bray, F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA. Cancer J. Clin.* **2021**, *71*, 209–249. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Cannistra, S.A. Cancer of the Ovary. *N. Engl. J. Med.* **2004**, *351*, 2519–2529. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Colombo, N.; Sessa, C.; du Bois, A.; Ledermann, J.; McCluggage, W.G.; McNeish, I.; Morice, P.; Pignata, S.; Ray-Coquard, I.; Vergote, I.; et al. ESMO-ESGO Consensus Conference Recommendations on Ovarian Cancer: Pathology and Molecular Biology, Early and Advanced Stages, Borderline Tumours and Recurrent Disease†. *Ann. Oncol.* **2019**, *30*, 672–705. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Wilson, M.K.; Pujade-Lauraine, E.; Aoki, D.; Mirza, M.R.; Lorusso, D.; Oza, A.M.; du Bois, A.; Vergote, I.; Reuss, A.; Bacon, M.; et al. Fifth Ovarian Cancer Consensus Conference of the Gynecologic Cancer InterGroup: Recurrent Disease. *Ann. Oncol.* **2017**, *28*, 727–732. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Pujade-Lauraine, E.; Hilpert, F.; Weber, B.; Reuss, A.; Poveda, A.; Kristensen, G.; Sorio, R.; Vergote, I.; Witteveen, P.; Bamias, A.; et al. Bevacizumab Combined With Chemotherapy for Platinum-Resistant Recurrent Ovarian Cancer: The AURELIA Open-Label Randomized Phase III Trial. *J. Clin. Oncol.* **2014**, *32*, 1302–1308. [\[CrossRef\]](#)
6. Burger, R.A.; Brady, M.F.; Bookman, M.A.; Fleming, G.F.; Monk, B.J.; Huang, H.; Mannel, R.S.; Homesley, H.D.; Fowler, J.; Greer, B.E.; et al. Incorporation of Bevacizumab in the Primary Treatment of Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2011**, *365*, 2473–2483. [\[CrossRef\]](#)
7. Oza, A.M.; Cook, A.D.; Pfisterer, J.; Embleton, A.; Ledermann, J.A.; Pujade-Lauraine, E.; Kristensen, G.; Carey, M.S.; Beale, P.; Cervantes, A.; et al. Standard Chemotherapy with or without Bevacizumab for Women with Newly Diagnosed Ovarian Cancer (ICON7): Overall Survival Results of a Phase 3 Randomised Trial. *Lancet Oncol.* **2015**, *16*, 928–936. [\[CrossRef\]](#)
8. Aghajanian, C.; Blank, S.V.; Goff, B.A.; Judson, P.L.; Teneriello, M.G.; Husain, A.; Sovak, M.A.; Yi, J.; Nycum, L.R. OCEANS: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Trial of Chemotherapy With or Without Bevacizumab in Patients With Platinum-Sensitive Recurrent Epithelial Ovarian, Primary Peritoneal, or Fallopian Tube Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2012**, *30*, 2039–2045. [\[CrossRef\]](#)
9. Colombo, I.; Kurnit, K.C.; Westin, S.N.; Oza, A.M. Moving from Mutation to Actionability. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book* **2018**, *38*, 495–503. [\[CrossRef\]](#)
10. Barretina, J.; Caponigro, G.; Stransky, N.; Venkatesan, K.; Margolin, A.A.; Kim, S.; Wilson, C.J.; Lehár, J.; Kryukov, G.V.; Sonkin, D.; et al. The Cancer Cell Line Encyclopedia Enables Predictive Modelling of Anticancer Drug Sensitivity. *Nature* **2012**, *483*, 603–607. [\[CrossRef\]](#)
11. Stewart, C.A.; Tong, P.; Cardnell, R.J.; Sen, T.; Li, L.; Gay, C.M.; Masrorpour, F.; Fan, Y.; Bara, R.O.; Feng, Y.; et al. Dynamic Variations in Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT), ATM, and SLFN11 Govern Response to PARP Inhibitors and Cisplatin in Small Cell Lung Cancer. *Oncotarget* **2017**, *8*, 28575–28587. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Ballestrero, A.; Bedognetti, D.; Ferraioli, D.; Franceschelli, P.; Labidi-Galy, S.I.; Leo, E.; Murai, J.; Pommier, Y.; Tsantoulis, P.; Vellone, V.G.; et al. Report on the First SLFN11 Monothematic Workshop: From Function to Role as a Biomarker in Cancer. *J. Transl. Med.* **2017**, *15*, 199. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Colombo, P.-E.; Fabbro, M.; Theillet, C.; Bibeau, F.; Rouanet, P.; Ray-Coquard, I. Sensitivity and Resistance to Treatment in the Primary Management of Epithelial Ovarian Cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2014**, *89*, 207–216. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. McMullen, M.; Madariaga, A.; Lheureux, S. New Approaches for Targeting Platinum-Resistant Ovarian Cancer. *Semin. Cancer Biol.* **2021**, *77*, 167–181. [\[CrossRef\]](#)
15. The Australian Ovarian Cancer Study Group; Patch, A.-M.; Christie, E.L.; Etemadmoghadam, D.; Garsed, D.W.; George, J.; Fereday, S.; Nones, K.; Cowin, P.; Alsop, K.; et al. Whole-Genome Characterization of Chemoresistant Ovarian Cancer. *Nature* **2015**, *521*, 489–494. [\[CrossRef\]](#)
16. Lloyd, K.L.; Cree, I.A.; Savage, R.S. Prediction of Resistance to Chemotherapy in Ovarian Cancer: A Systematic Review. *BMC Cancer* **2015**, *15*, 117. [\[CrossRef\]](#)
17. Weberpals, J.I.; Pugh, T.J.; Marco-Casanova, P.; Goss, G.D.; Andrews Wright, N.; Rath, P.; Torchia, J.; Fortuna, A.; Jones, G.N.; Roudier, M.P.; et al. Tumor Genomic, Transcriptomic, and Immune Profiling Characterizes Differential Response to First-line Platinum Chemotherapy in High Grade Serous Ovarian Cancer. *Cancer Med.* **2021**, *10*, 3045–3058. [\[CrossRef\]](#)
18. Tian, L.; Song, S.; Liu, X.; Wang, Y.; Xu, X.; Hu, Y.; Xu, J. Schlafen-11 Sensitizes Colorectal Carcinoma Cells to Irinotecan. *Anticancer Drugs* **2014**, *25*, 1175–1181. [\[CrossRef\]](#)
19. Kang, M.H.; Wang, J.; Makena, M.R.; Lee, J.-S.; Paz, N.; Hall, C.P.; Song, M.M.; Calderon, R.I.; Cruz, R.E.; Hindle, A.; et al. Activity of MM-398, Nanoliposomal Irinotecan (Nal-IRI), in Ewing’s Family Tumor Xenografts Is Associated with High Exposure of Tumor to Drug and High *SLFN11* Expression. *Clin. Cancer Res.* **2015**, *21*, 1139–1150. [\[CrossRef\]](#)

20. Shee, K.; Wells, J.D.; Jiang, A.; Miller, T.W. Integrated Pan-Cancer Gene Expression and Drug Sensitivity Analysis Reveals SLFN11 mRNA as a Solid Tumor Biomarker Predictive of Sensitivity to DNA-Damaging Chemotherapy. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0224267. [\[CrossRef\]](#)
21. Coussy, F.; El-Botty, R.; Château-Joubert, S.; Dahmani, A.; Montaudon, E.; Leboucher, S.; Morisset, L.; Painsec, P.; Sourd, L.; Huguet, L.; et al. BRCAness, SLFN11, and RB1 Loss Predict Response to Topoisomerase I Inhibitors in Triple-Negative Breast Cancers. *Sci. Transl. Med.* **2020**, *12*, eaax2625. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Rathkey, D.; Khanal, M.; Murai, J.; Zhang, J.; Sengupta, M.; Jiang, Q.; Morrow, B.; Evans, C.N.; Chari, R.; Fetsch, P.; et al. Sensitivity of Mesothelioma Cells to PARP Inhibitors Is Not Dependent on BAP1 but Is Enhanced by Temozolomide in Cells with High-Schlafen 11 and Low-O6-Methylguanine-DNA Methyltransferase Expression. *J. Thorac. Oncol.* **2020**, *15*, 843–859. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Takashima, T.; Taniyama, D.; Sakamoto, N.; Yasumoto, M.; Asai, R.; Hattori, T.; Honma, R.; Thang, P.Q.; Ukai, S.; Maruyama, R.; et al. Schlafen 11 Predicts Response to Platinum-Based Chemotherapy in Gastric Cancers. *Br. J. Cancer* **2021**, *125*, 65–77. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Zoppoli, G.; Regairaz, M.; Leo, E.; Reinhold, W.C.; Varma, S.; Ballestrero, A.; Doroshow, J.H.; Pommier, Y. Putative DNA/RNA Helicase Schlafen-11 (SLFN11) Sensitizes Cancer Cells to DNA-Damaging Agents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 15030–15035. [\[CrossRef\]](#)
25. Nogales, V.; Reinhold, W.C.; Varma, S.; Martinez-Cardus, A.; Moutinho, C.; Moran, S.; Heyn, H.; Sebio, A.; Barnadas, A.; Pommier, Y.; et al. Epigenetic Inactivation of the Putative DNA/RNA Helicase SLFN11 in Human Cancer Confers Resistance to Platinum Drugs. *Oncotarget* **2016**, *7*, 3084–3097. [\[CrossRef\]](#)
26. Deng, Y.; Cai, Y.; Huang, Y.; Yang, Z.; Bai, Y.; Liu, Y.; Deng, X.; Wang, J. High SLFN11 Expression Predicts Better Survival for Patients with KRAS Exon 2 Wild Type Colorectal Cancer after Treated with Adjuvant Oxaliplatin-Based Treatment. *BMC Cancer* **2015**, *15*, 833. [\[CrossRef\]](#)
27. Lok, B.H.; Gardner, E.E.; Schneeberger, V.E.; Ni, A.; Desmeules, P.; Rekhtman, N.; de Stanchina, E.; Teicher, B.A.; Riaz, N.; Powell, S.N.; et al. PARP Inhibitor Activity Correlates with SLFN11 Expression and Demonstrates Synergy with Temozolomide in Small Cell Lung Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2017**, *23*, 523–535. [\[CrossRef\]](#)
28. Pietanza, M.C.; Waqar, S.N.; Krug, L.M.; Dowlati, A.; Hann, C.L.; Chiappori, A.; Owonikoko, T.K.; Woo, K.M.; Cardnell, R.J.; Fujimoto, J.; et al. Randomized, Double-Blind, Phase II Study of Temozolomide in Combination with Either Veliparib or Placebo in Patients with Relapsed-Sensitive or Refractory Small-Cell Lung Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2018**, *36*, 2386–2394. [\[CrossRef\]](#)
29. Takashima, T.; Sakamoto, N.; Murai, J.; Taniyama, D.; Honma, R.; Ukai, S.; Maruyama, R.; Kuraoka, K.; Rajapakse, V.N.; Pommier, Y.; et al. Immunohistochemical Analysis of SLFN11 Expression Uncovers Potential Non-Responders to DNA-Damaging Agents Overlooked by Tissue RNA-Seq. *Virchows Arch.* **2021**, *478*, 569–579. [\[CrossRef\]](#)
30. Zhang, B.; Ramkumar, K.; Cardnell, R.J.; Gay, C.M.; Stewart, C.A.; Wang, W.-L.; Fujimoto, J.; Wistuba, I.I.; Byers, L.A. A Wake-up Call for Cancer DNA Damage: The Role of Schlafen 11 (SLFN11) across Multiple Cancers. *Br. J. Cancer* **2021**, *125*, 1333–1340. [\[CrossRef\]](#)
31. Aladjem, M.I.; Redon, C.E. Order from Clutter: Selective Interactions at Mammalian Replication Origins. *Nat. Rev. Genet.* **2017**, *18*, 101–116. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Murai, J.; Tang, S.-W.; Leo, E.; Baechler, S.A.; Redon, C.E.; Zhang, H.; Al Abo, M.; Rajapakse, V.N.; Nakamura, E.; Jenkins, L.M.M.; et al. SLFN11 Blocks Stressed Replication Forks Independently of ATR. *Mol. Cell* **2018**, *69*, 371–384. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Mu, Y.; Lou, J.; Srivastava, M.; Zhao, B.; Feng, X.-H.; Liu, T.; Chen, J.; Huang, J. SLFN11 Inhibits Checkpoint Maintenance and Homologous Recombination Repair. *EMBO Rep.* **2016**, *17*, 94–109. [\[CrossRef\]](#)
34. Jo, U.; Murai, Y.; Chakka, S.; Chen, L.; Cheng, K.; Murai, J.; Saha, L.K.; Miller Jenkins, L.M.; Pommier, Y. SLFN11 Promotes CDT1 Degradation by CUL4 in Response to Replicative DNA Damage, While Its Absence Leads to Synthetic Lethality with ATR/CHK1 Inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2021**, *118*, e2015654118. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Jo, U.; Murai, Y.; Takebe, N.; Thomas, A.; Pommier, Y. Precision Oncology with Drugs Targeting the Replication Stress, ATR, and Schlafen 11. *Cancers* **2021**, *13*, 4601. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Murai, J.; Thomas, A.; Miettinen, M.; Pommier, Y. Schlafen 11 (SLFN11), a Restriction Factor for Replicative Stress Induced by DNA-Targeting Anti-Cancer Therapies. *Pharmacol. Ther.* **2019**, *201*, 94–102. [\[CrossRef\]](#)
37. Forment, J.V.; O'Connor, M.J. Targeting the Replication Stress Response in Cancer. *Pharmacol. Ther.* **2018**, *188*, 155–167. [\[CrossRef\]](#)
38. Rajapakse, V.N.; Luna, A.; Yamade, M.; Loman, L.; Varma, S.; Sunshine, M.; Iorio, F.; Sousa, F.G.; Elloumi, F.; Aladjem, M.I.; et al. CellMinerCDB for Integrative Cross-Database Genomics and Pharmacogenomics Analyses of Cancer Cell Lines. *iScience* **2018**, *10*, 247–264. [\[CrossRef\]](#)
39. Moribe, F.; Nishikori, M.; Takashima, T.; Taniyama, D.; Onishi, N.; Arima, H.; Sasanuma, H.; Akagawa, R.; Elloumi, F.; Takeda, S.; et al. Epigenetic Suppression of SLFN11 in Germinal Center B-Cells during B-Cell Development. *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0237554. [\[CrossRef\]](#)
40. Reinhold, W.C.; Thomas, A.; Pommier, Y. DNA-Targeted Precision Medicine; Have We Been Caught Sleeping? *Trends Cancer* **2017**, *3*, 2–6. [\[CrossRef\]](#)
41. Reinhold, W.C.; Varma, S.; Sunshine, M.; Rajapakse, V.; Luna, A.; Kohn, K.W.; Stevenson, H.; Wang, Y.; Heyn, H.; Nogales, V.; et al. The NCI-60 Methylome and Its Integration into CellMiner. *Cancer Res.* **2017**, *77*, 601–612. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

42. Tang, S.-W.; Thomas, A.; Murai, J.; Trepel, J.B.; Bates, S.E.; Rajapakse, V.N.; Pommier, Y. Overcoming Resistance to DNA-Targeted Agents by Epigenetic Activation of Schlafen 11 (*SLFN11*) Expression with Class I Histone Deacetylase Inhibitors. *Clin. Cancer Res.* **2018**, *24*, 1944–1953. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Gardner, E.E.; Lok, B.H.; Schneeberger, V.E.; Desmeules, P.; Miles, L.A.; Arnold, P.K.; Ni, A.; Khodos, I.; de Stanchina, E.; Nguyen, T.; et al. Chemosensitive Relapse in Small Cell Lung Cancer Proceeds through an EZH2-SLFN11 Axis. *Cancer Cell* **2017**, *31*, 286–299. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Lheureux, S.; Oaknin, A.; Garg, S.; Bruce, J.P.; Madariaga, A.; Dhani, N.C.; Bowering, V.; White, J.; Accardi, S.; Tan, Q.; et al. EVOLVE: A Multicenter Open-Label Single-Arm Clinical and Translational Phase II Trial of Cediranib Plus Olaparib for Ovarian Cancer after PARP Inhibition Progression. *Clin. Cancer Res.* **2020**, *26*, 4206–4215. [\[CrossRef\]](#)
45. Murai, J.; Feng, Y.; Yu, G.K.; Ru, Y.; Tang, S.-W.; Shen, Y.; Pommier, Y. Resistance to PARP Inhibitors by SLFN11 Inactivation Can Be Overcome by ATR Inhibition. *Oncotarget* **2016**, *7*, 76534–76550. [\[CrossRef\]](#)
46. Winkler, C.; Armenia, J.; Jones, G.N.; Tobalina, L.; Sale, M.J.; Petreus, T.; Baird, T.; Serra, V.; Wang, A.T.; Lau, A.; et al. SLFN11 Informs on Standard of Care and Novel Treatments in a Wide Range of Cancer Models. *Br. J. Cancer* **2021**, *124*, 951–962. [\[CrossRef\]](#)
47. Zhou, C.; Liu, C.; Liu, W.; Chen, W.; Yin, Y.; Li, C.-W.; Hsu, J.L.; Sun, J.; Zhou, Q.; Li, H.; et al. SLFN11 Inhibits Hepatocellular Carcinoma Tumorigenesis and Metastasis by Targeting RPS4X via MTOR Pathway. *Theranostics* **2020**, *10*, 4627–4643. [\[CrossRef\]](#)
48. Kagami, T.; Yamade, M.; Suzuki, T.; Uotani, T.; Tani, S.; Hamaya, Y.; Iwaizumi, M.; Osawa, S.; Sugimoto, K.; Miyajima, H.; et al. The First Evidence for SLFN11 Expression as an Independent Prognostic Factor for Patients with Esophageal Cancer after Chemoradiotherapy. *BMC Cancer* **2020**, *20*, 1123. [\[CrossRef\]](#)
49. Winkler, C.; King, M.; Berthe, J.; Ferraioli, D.; Garuti, A.; Grillo, F.; Rodriguez-Canales, J.; Ferrando, L.; Chopin, N.; Ray-Coquard, I.; et al. SLFN11 Captures Cancer-Immunity Interactions Associated with Platinum Sensitivity in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *JCI Insight* **2021**, *6*, e146098. [\[CrossRef\]](#)
50. Gartrell, J.; Mellado-Largarde, M.; Clay, M.R.; Bahrami, A.; Sahr, N.A.; Sykes, A.; Blankenship, K.; Hoffmann, L.; Xie, J.; Cho, H.P.; et al. SLFN11 Is Widely Expressed in Pediatric Sarcoma and Induces Variable Sensitization to Replicative Stress Caused by DNA-Damaging Agents. *Mol. Cancer Ther.* **2021**, *20*, 2151–2165. [\[CrossRef\]](#)
51. Taniyama, D.; Sakamoto, N.; Takashima, T.; Takeda, M.; Pham, Q.T.; Ukai, S.; Maruyama, R.; Harada, K.; Babasaki, T.; Sekino, Y.; et al. Prognostic Impact of Schlafen 11 in Bladder Cancer Patients Treated with Platinum-based Chemotherapy. *Cancer Sci.* **2022**, *113*, 784–795. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
52. Willis, S.E.; Winkler, C.; Roudier, M.P.; Baird, T.; Marco-Casanova, P.; Jones, E.V.; Rowe, P.; Rodriguez-Canales, J.; Angell, H.K.; Ng, F.S.L.; et al. Retrospective Analysis of Schlafen11 (SLFN11) to Predict the Outcomes to Therapies Affecting the DNA Damage Response. *Br. J. Cancer* **2021**, *125*, 1666–1676. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
53. Ledermann, J.; Harter, P.; Gourley, C.; Friedlander, M.; Vergote, I.; Rustin, G.; Scott, C.; Meier, W.; Shapira-Frommer, R.; Safra, T.; et al. Olaparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive Relapsed Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2012**, *366*, 1382–1392. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
54. Byers, L.A.; Stewart, A.; Gay, C.; Heymach, J.; Fernandez, L.; Lu, D.; Rich, R.; Chu, L.; Wang, Y.; Dittamore, R. Abstract 2215: SLFN11 and EZH2 Protein Expression and Localization in Circulating Tumor Cells to Predict Response or Resistance to DNA Damaging Therapies in Small Cell Lung Cancer. *Cancer Res.* **2019**, *79*, 2215.
55. Zhang, B.; Stewart, C.A.; Gay, C.M.; Wang, Q.; Cardnell, R.; Fujimoto, J.; Fernandez, L.; Jendrisak, A.; Gilbertson, C.; Schonhoft, J.; et al. Abstract 384: Detection of DNA Replication Blocker SLFN11 in Tumor Tissue and Circulating Tumor Cells to Predict Platinum Response in Small Cell Lung Cancer. *Cancer Res.* **2021**, *81*, 384. [\[CrossRef\]](#)
56. Van Berckelaer, C.; Brouwers, A.J.; Peeters, D.J.E.; Tjalma, W.; Trinh, X.B.; van Dam, P.A. Current and Future Role of Circulating Tumor Cells in Patients with Epithelial Ovarian Cancer. *Eur. J. Surg. Oncol. EJSO* **2016**, *42*, 1772–1779. [\[CrossRef\]](#)
57. Holcakova, J.; Bartosik, M.; Anton, M.; Minar, L.; Hausnerova, J.; Bednarikova, M.; Weinberger, V.; Hrstka, R. New Trends in the Detection of Gynecological Precancerous Lesions and Early-Stage Cancers. *Cancers* **2021**, *13*, 6339. [\[CrossRef\]](#)
58. Federico, S.M.; Pappo, A.S.; Sahr, N.; Sykes, A.; Campagne, O.; Stewart, C.F.; Clay, M.R.; Bahrami, A.; McCarville, M.B.; Kaste, S.C.; et al. A Phase I Trial of Talazoparib and Irinotecan with and without Temozolomide in Children and Young Adults with Recurrent or Refractory Solid Malignancies. *Eur. J. Cancer* **2020**, *137*, 204–213. [\[CrossRef\]](#)
59. Byers, L.A.; Bentsion, D.; Gans, S.; Penkov, K.; Son, C.; Sibille, A.; Owonikoko, T.K.; Groen, H.J.M.; Gay, C.M.; Fujimoto, J.; et al. Veliparib in Combination with Carboplatin and Etoposide in Patients with Treatment-Naïve Extensive-Stage Small Cell Lung Cancer: A Phase 2 Randomized Study. *Clin. Cancer Res.* **2021**, *27*, 3884–3895. [\[CrossRef\]](#)
60. He, T.; Zhang, M.; Zheng, R.; Zheng, S.; Linghu, E.; Herman, J.G.; Guo, M. Methylation of *SLFN11* Is a Marker of Poor Prognosis and Cisplatin Resistance in Colorectal Cancer. *Epigenomics* **2017**, *9*, 849–862. [\[CrossRef\]](#)
61. Hwang, W.-T.; Adams, S.F.; Tahirovic, E.; Hagemann, I.S.; Coukos, G. Prognostic Significance of Tumor-Infiltrating T Cells in Ovarian Cancer: A Meta-Analysis. *Gynecol. Oncol.* **2012**, *124*, 192–198. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
62. Li, J.; Wang, J.; Chen, R.; Bai, Y.; Lu, X. The Prognostic Value of Tumor-Infiltrating T Lymphocytes in Ovarian Cancer. *Oncotarget* **2017**, *8*, 15621–15631. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

Příloha 7: Význam nového prediktivního markeru Schlafen 11 u pacientek s karcinomem ovaria léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu – výsledky pilotní analýzy

HAUSNEROVÁ, J., L. EHRLICHOVÁ, P. OVESNÁ, K. MATULOVÁ, J. CHLUBNOVÁ, V. WEINBERGER and **Markéta BEDNAŘÍKOVÁ** **(corresponding author)**.

Klinicka Onkologie [online]. 2023, 36, S127 - S130. ISSN 0862-495X. Available at: doi:10.48095/ccko2023S127

Category: Oncology – SJR Q4

Typ příspěvku: původní práce.

Vlastní přínos autorky: návrh studie, klinická charakteristika kohorty pacientek, spolupráce na statistickém vyhodnocení, interpretace výsledků, spolupráce na přípravě manuskriptu, komunikace s redakcí.

Význam nového prediktivního markeru Schlafen 11 u pacientek s karcinomem ovaria léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu – výsledky pilotní analýzy

The role of Schlafen 11 as a predictive biomarker in ovarian cancer patients treated with platinum-based chemotherapy – results of the pilot analysis

Hausnerová J.¹, Ehrlichová L.², Ovesná P.³, Matulová K.¹, Chlubnová J.², Weinberger V.⁴, Bednaříková M.²

¹ Ústav patologie LF MU a FN Brno

² Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

³ Institut biostatistiky a analýz, MU Brno

⁴ Gynekologicko-porodnická klinika LF MU a FN Brno

Souhrn

Východiska: Schlafen 11 (SLFN11) je nedávno objevený nukleární protein, který má podle dosud publikovaných dat potenciál stát se markerem umožňujícím predikovat odpověď na léčbu preparáty, jejichž terapeutickým cílem je poškození DNA. Zde prezentujeme výsledky pilotní analýzy imunohistochemické (IHC) exprese SLFN11 u pacientek s ovariálním karcinomem (OC) léčených chemoterapií založenou na platinovém derivátu (P-CHT). **Materiál a metody:** Z klinické databáze pacientek léčených ve FN Brno pro OC v letech 2010–2021 byla identifikována kohorta celkem 61 pacientek léčených P-CHT v rámci primární systémové léčby. U všech pacientek byla na vzorcích tumoru odebraných před zahájením P-CHT provedena IHC analýza protilátkou SLFN11 (D-2), sc-515071 (Santa Cruz Biotechnology, Texas, USA). Míra exprese SLFN11 v nádorových buňkách byla vyhodnocena jak podle H-skóre (celková hodnota = 1× slabá pozitivita + 2× střední pozitivita + 3× silná pozitivita), tak i celkovým procentuálním vyjádřením positivity jakékoli intenzity. **Výsledky:** Z celkového počtu 61 pacientek mělo celkem 30 pacientek P-rezistentní onemocnění, medián doby bez progresu onemocnění (platinum treatment free interval – TFIp) byl 5 měsíců, mezikvartilové rozpětí (interquartile range – IQR) bylo 2–10 a 31 pacientek mělo P-senzitivní onemocnění (TFIp 43 měsíce; IQR 26–81). V obou kohortách bylo rovnoměrné zastoupení pacientek podle histologického typu, stadia v době diagnózy i rozsahu cytoredukce v rámci primární léčby. Exprese SLFN11 byla vyhodnocena celkem u 60 pacientek, u jedné pacientky s P-senzitivním onemocněním byl vzorek nehodnotitelný. V rámci celého souboru byla míra exprese SLFN11 nízká (H-skóre 10; 10% pozitivita). Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v H-skóre ani v celkové procentuální pozitivitě exprese SLFN11 mezi kohortami pacientek s P-senzitivním a P-rezistentním onemocněním. Podobně nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi expresí SLFN11 a hlavními prognostickými parametry (stadium v době diagnózy, objektivní odpověď po primární léčbě, TFIp, čas do úmrtí). **Závěr:** V rámci pilotní analýzy jsme při zvolené metodice neprokázali zásadní prediktivní ani prognostický význam imunohistochemického stanovení exprese markeru SLFN11 u pacientek s ovariálním karcinomem léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu.

Klíčová slova

karcinom ovaria – SLFN11 – prediktivní marker – imunohistochemie

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Markéta Bednaříková, Ph.D.
Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: bednarikova.marketa@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 1. 8. 2023

Přijato/Accepted: 4. 10. 2023

doi: 10.48095/ccko2023S127

Summary

Background: Schlafen 11 (SLFN11), a recently discovered nuclear protein, has been identified as a promising biomarker capable to predict the response to DNA damage-inducing agents across various cancer types. In this article, we present the results of the pilot SLFN11 immunohistochemical (IHC) analyses in ovarian cancer (OC) patients treated with platinum-based chemotherapy (P-CHT). **Materials and methods:** The retrospective cohort of 61 ovarian cancer patients treated with primary P-CHT at University Hospital Brno in 2010–2021 was identified from the clinical database based on predefined criteria. The IHC analyses of SLFN11 expression were performed on tumor samples collected before P-CHT initiation using monoclonal antibody SLFN11 (D-2), sc-515071 (Santa Cruz Biotechnology, Texas, USA). The slides were evaluated for SLFN11 expression in tumor cells by H-score (total score = $1 \times \text{weak} + 2 \times \text{mean} + 3 \times \text{strong positivity}$) and as a percentage of positivity of any intensity. **Results:** From the whole cohort of 61 patients, a total of 30 patients had P-resistant disease with a median platinum-free interval (TfIp) of 5 months; the interquartile range (IQR) was 2–10 and 31 patients had P-sensitive disease with median TfIp 43 months (IQR 26–81). The stage at diagnosis, histological type, and extent of surgical cytoreduction were equally distributed in both cohorts. Except for one patient in the P-sensitive cohort, all tumor samples were evaluable for IHC SLFN11 analyses. SLFN11 expression was generally low in the entire cohort (H-score 10, 10% positivity). Neither statistically significant differences in SLFN11 expression between P-resistant and P-sensitive disease, nor the correlation with main prognostic factors (stage at diagnosis, objective response to primary treatment, TfIp, overall survival) were observed. **Conclusion:** With the methodology used in this pilot study, we failed to demonstrate any predictive or prognostic significance of the immunohistochemical SLFN11 evaluation in ovarian cancer patients treated with platinum-based chemotherapy.

Key words

ovarian cancer – SLFN11 – predictive marker – immunohistochemistry

Úvod

Přes rozšiřující se možnosti molekulárně cílené biologické léčby zůstává základem primární systémové léčby ovariálního karcinomu chemoterapie založená na kombinaci platinového derivátu a taxanu. Senzitivita, respektive rezistence k léčbě platinou patří navíc spolu se stadiem v době diagnózy a možnostmi kompletní chirurgické cytoredukce k základním prognostickým faktorům úspěšnosti primární léčby. Ačkoliv je známá asociace některých genetických alterací s rezistencí k chemoterapii založené na platinovém derivátu (P-CHT), dosud nebyl validován žádný prediktivní marker pro využití v klinické praxi. Senzitivita nebo rezistence k léčbě platinou je tak hodnocena až retrospektivně, a to na základě časového intervalu mezi datem poslední aplikace P-CHT a datem stanovení progresu onemocnění (platinum-free interval – TfIp).

Schlafen 11 (SLFN11) je jaderný protein řadící se mezi DNA/RNA helikázy, jehož jednou z hlavních funkcí je indukce buněčné smrti v případě replikačního stresu navozeného poškozením DNA např. vlivem protinádorové léčby. Řada preklinických modelů i klinických studií z nedávné doby demonstrovala korelaci mezi mírou exprese SLFN11 a odpovědí na léčbu cytostatiky, jejichž terapeutickým cílem je poškození DNA (vč. platinových derivátů), a to na přích různými typy nádorů [1–7].

Dosud publikovaná data o potenciálním prediktivním významu SLFN11 u pacientek s ovariálním karcinodem léčených P-CHT nejsou jednoznačná, interpretace výsledků je navíc limitována malou velikostí hodnocených souborů a rozdílnou metodikou stanovování exprese SLFN11. Zatímco tři preklinické studie využívající pro hodnocení exprese SLFN11 metodiku založenou na polymerázové řetězové reakci prokazovaly celkem shodně jednoznačnou asociaci mezi expresí SLFN11 a celkovým přežitím u pacientek s karcinomem ovaria léčených P-CHT, výsledky dvou dosud publikovaných studií využívajících imunohistochemické stanovení byly rozporuplné. V jedné ze studií při imunohistochemickém hodnocení exprese SLFN11 pouze v nádorových buňkách ovariálního karcinomu nebyla prokázána statisticky významná korelace se senzitivitou k P-CHT, naopak ve druhé studii hodnotící expresi SLFN11 jak v buňkách karcinomu ovaria, tak i v okolních nenádorových buňkách byla nalezena významná asociace mezi hodnotou celkového H-skóre a senzitivitou k P-CHT [2,4,8–10].

Problémem pro potenciální využití v klinické praxi je tedy nepochybně také skutečnost, že zatím neexistuje jednotná metodika pro hodnocení imunohistochemické exprese SLFN11, a to jak ve smyslu typu protilátky, tak i způsobu hodnocení. V rámci grantového projektu,

jehož cílem je identifikace prediktivních biomarkerů na základě kombinovaného genomického a imunohistochemického profilování u pacientek s karcinomem ovaria léčených P-CHT, jsme se proto kromě jiného zaměřili na imunohistochemickou analýzu exprese SLFN11.

Materiál a metody

Na základě souhlasu Etické komise FN Brno byla z klinické databáze pacientek léčených ve FN Brno pro karcinom ovaria v letech 2010–2021 identifikována kohorta celkem 61 pacientek léčených P-CHT v rámci primární systémové léčby se srovnatelnými hlavními prognostickými parametry (histologický typ, stadium v době diagnózy, rozsah primární cytoredukce), lišící se pouze odpovědí na léčbu P-CHT. Kritéria pro platina-senzitivitu (PS) a platina-rezistenci (PR) byla stanovena klinicky, a to na základě TfIp (časového intervalu mezi datem poslední aplikace P-CHT a datem stanovení progresu onemocnění). Z archivu Ústavu patologie FN Brno byly následně vybrány reprezentativní vzorky tumoru odebrané pacientkám před zahájením systémové léčby, fixované formalinem a zalité v parafínu. Pro imunohistochemické analýzy byl použit manuální protokol podle Takashimy et al. s využitím protilátky SLFN11 (D-2), sc-515071 (Santa Cruz Biotechnology, Texas, USA) [11]. Míra exprese SLFN11 byla vyhodnocena v nádorových buňkách jednak podle H-skóre (celková hodnota = $1 \times \text{slabá po-}$

Tab. 1. Charakteristiky pacientek dle odpovědi na primární léčbu.

	n	Celkem n = 61	P-rezistentní n = 30	P-senzitivní n = 31	p-hodnota ²
Věk (roky)	61	65 (55–71)	66 (61–72)	62 (50–68)	0,142
Histologie	61				> 0,999
HGSC		54 (88,5 %)	27 (90,0 %)	27 (87,1 %)	
non-HGSC		7 (11,5 %)	3 (10,0 %)	4 (12,9 %)	
Stadium	61				> 0,999
časná stadia (I + II)		2 (3,3 %)	1 (3,3 %)	1 (3,2 %)	
pozdní stadia (III + IV)		59 (96,7 %)	29 (96,7 %)	30 (96,8 %)	
Prognostická skupina v době dg dle stadia a rozsahu cytoredukce	61				0,8
časná stadia		2 (3,3 %)	1 (3,3 %)	1 (3,2 %)	
pozdní stadium s kompletní cytoredukcí		29 (47,5 %)	13 (43,3 %)	16 (51,6 %)	
pozdní stadium s makroskopickým reziduem nebo bez cytoredukce		30 (49,2 %)	16 (53,3 %)	14 (45,2 %)	
Počet cyklů P-based CHT v rámci primární léčby	61	6 (6–6)	6 (4,25–6)	6 (6–6)	0,024
Objektivní odpověď po 1. linii CHT	61				< 0,001
CR + PR		43 (70,5 %)	12 (40,0 %)	31 (100,0 %)	
SD + PD		18 (29,5 %)	18 (60,0 %)	0 (0,0 %)	
Doba bez progresu po primární léčbě (měsíce, bez cenzorování)	53	12 (5–40)	5 (2–10)	43 (26–81)	< 0,001
Čas do úmrtí (měsíce, bez cenzorování)	48	30 (12–83)	17 (6–28)	93 (52–138)	< 0,001

¹ Medián (mezikvartilové rozpětí – IQR), n (%), ² Wilcoxonův „rank sum“ test, Fisherův exaktní test, CHT – chemoterapie, CR – kompletní odpověď, HGSC – high grade serózní karcinom, P – platina, PR – částečná odpověď, SD – stabilní onemocnění

Tab. 2. Imunohistochemické stanovení SLFN11 v nádorových buňkách u pacientek s ovariálním karcinomem léčených chemoterapií založenou na platinovém derivátu.

	n	Celkem, n = 61	P-rezistentní, n = 30	P-senzitivní, n = 31	p-hodnota ¹
H skóre	60				0,598
medián (IQR)		10 (0–30)	11 (0–34)	9 (0–25)	
průměr (SD)		27 (39)	33 (45)	21 (32)	
% pozitivita jakékoliv intenzity	60				0,598
medián (IQR)		10 (0–26)	10 (0–34)	9 (0–24)	
průměr (SD)		20 (27)	24 (30)	17 (24)	

¹ Wilcoxonův „rank sum“ test, IQR – mezikvartilové rozpětí, P – platina, SD – směrodatná odchylka

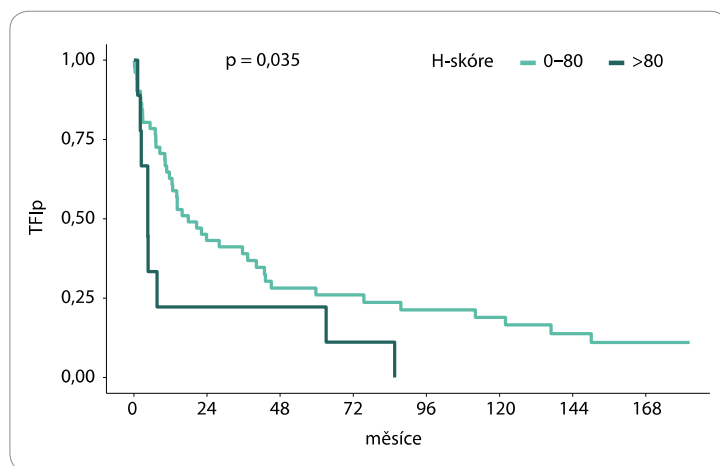
zitivita + 2× střední pozitivita + 3× silná pozitivita), tak i celkovým procentuálním vyjádřením positivity nádorových buněk jakékoli intenzity.

Výsledky

Z celkového počtu 61 pacientek mělo celkem 30 pacientek P-rezistentní one-

mocnění (medián TFIp 5 měsíců; IQR 2–10) a 31 pacientek mělo P-senzitivní onemocnění (TFIp 43 měsíce; IQR 26–81). V obou kohortách bylo rovnoměrné zastoupení pacientek podle histologického typu, stadia v době diagnózy i rozsahu cytoredukce v rámci primární léčby (tab. 1). Expres SLFN11 byla vy-

hodnocena celkem u 60 pacientek, u jedné pacientky s P-senzitivním onemocněním byl vzorek nehodnotitelný. V rámci celého souboru byla míra exprese SLFN11 nízká (H-skóre 10; 10% pozitivita). Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl exprese SLFN11 mezi kohortami pacientek s P-rezistentním



Graf 1. Závislost TFlp na čase.

TFlp – platinum treatment free interval

a P-senzitivním onemocněním hodnocený ať již pomocí H-skóre (medián H-skóre 11 (IQR 0–34), resp. 9 (IQR 0–25); p-hodnota 0,598) nebo celkovou procentuální pozitivitou nádorových buněk (medián positivity 10 (IQR 0–34), resp. 9 (IQR 0–24); p-hodnota 0,598) (tab. 2). Podobně nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi expresí SLFN11 v nádorových buňkách a hlavními prognostickými parametry (stadium v době diagnózy, objektivní odpověď po primární léčbě, TFlp, čas do úmrtí). Jako nejlepší cut-off H-skóre pro odlišení P-senzitivity a P-rezistence byla vyčíslena hodnota 80 (graf 1).

Závěr

Při zvolené metodice imunohistochemických analýz jsme v rámci pilotní studie neprokázali zásadní prediktivní ani prognostický význam stanovení exprese markeru SLFN11 v nádorových buňkách u pacientek s ovariálním karcinomem léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu.

Dedikace

Projekt byl podpořen Ministerstvem zdravotnictví ČR, grant č. NU21-03-00306.

Literatura

1. Ballestrero A, Bedognetti D, Ferraioli D, et al. Report on the first SLFN11 monothematic workshop: from function

to role as a biomarker in cancer. *J Transl Med* 2017; 15(1): 1–99. doi: 10.1186/s12967-017-1296-3.

2. Shee K, Wells JD, Jiang A, Miller TW. Integrated pan-cancer gene expression and drug sensitivity analysis reveals SLFN11 mRNA as a solid tumor biomarker predictive of sensitivity to DNA-damaging chemotherapy. *Christie E, ed. PLoS ONE* 2019; 14(11): e0224267. doi: 10.1371/journal.pone.0224267.

3. Zhang B, Ramkumar K, Cardnell RJ et al. A wake-up call for cancer DNA damage: the role of Schlafen 11 (SLFN11) across multiple cancers. *Br J Cancer* 2021; 125(10): 1333–1340. doi: 10.1038/s41416-021-01476-w.

4. Zoppoli G, Regairaz M, Leo E, et al. Putative DNA/RNA helicase Schlafen-11 (SLFN11) sensitizes cancer cells to DNA-damaging agents. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109(37): 15030–15035. doi: 10.1073/pnas.1205943109.

5. Barretina J, Caponigro G, Stransky N et al. The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. *Nature* 2012; 483(7391): 603–607. doi: 10.1038/nature11003.

6. Takashima T, Taniyama D, Sakamoto N, et al. Schlafen 11 predicts response to platinum-based chemotherapy in gastric cancers. *Br J Cancer* 2021; 125(1): 65–77. doi: 10.1038/s41416-021-01364-3.

7. Taniyama D, Sakamoto N, Takashima T et al. Prognostic impact of Schlafen 11 in bladder cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Cancer Sci* 2021; 113(2): 784–795. doi: 10.1111/cas.15207.

8. Nogales V, Reinhold WC, Varma S et al. Epigenetic inactivation of the putative DNA/RNA helicase SLFN11 in human cancer confers resistance to platinum drugs. *Oncotarget* 2016; 7(3): 3084–3097. doi: 10.18632/oncotarget.6413.

9. Winkler C, King M, Berthe J et al. SLFN11 captures cancer-immunity interactions associated with platinum sensitivity in high-grade serous ovarian cancer. *JCI Insight* 2021; 6(18): e146098. doi: 10.1172/jci.insight.146098.

10. Willis SE, Winkler C, Roudier MP et al. Retrospective analysis of Schlafen11 (SLFN11) to predict the outcomes to therapies affecting the DNA damage response. *Br J Cancer* 2021; 125(12): 1666–1676. doi: 10.1038/s41416-021-01560-1.

11. Takashima T, Sakamoto N, Murai J et al. Immunohistochemical analysis of SLFN11 expression uncovers potential non-responders to DNA-damaging agents overlooked by tissue RNA-seq. *Virchows Arch* 2021; 478(3): 569–579. doi: 10.1007/s00428-020-02840-6.

3.4 Imunitní mikroprostředí a exprese PD-L1 u karcinomu ovaria

Vedle molekulárních charakteristik nádorových buněk ovlivňuje prognózu onemocnění a odpověď na systémovou léčbu také nádorové imunitní mikroprostředí, reprezentované mimo jiné přítomností tumor infiltrujících lymfocytů a expresí ligandu 1 pro receptor programované buněčné smrti (programmed death-ligand 1, PD-L1). Pro karcinom ovaria je charakteristické komplexní a imunosupresivní nádorové mikroprostředí, které se během léčby dynamicky mění. Experimentální i klinické studie ukázaly, že platinová chemoterapie může kromě přímého cytotoxického účinku indukovat také imunogenní buněčnou smrt a modulovat interakce mezi nádorem a imunitním systémem [65].

PD-L1 představuje jeden z klíčových regulátorů protinádorové imunitní odpovědi. Vazbou na receptor PD-1 exprimovaný na aktivovaných T-lymfocytech dochází k útlumu efektorových funkcí imunitního systému, což umožňuje nádorovým buňkám uniknout imunitnímu dohledu. Osa PD-1/PD-L1 se proto stala jedním z nejvýznamnějších terapeutických cílů moderní imunoonkologie a stanovení exprese PD-L1 je dnes součástí rutinní klinické praxe u řady solidních nádorů [66].

Navzdory intenzivnímu výzkumu zůstává biologický i klinický význam PD-L1 u karcinomu ovaria nejednoznačný. Publikované práce přinesly rozporné výsledky jak z hlediska prevalence exprese PD-L1, tak jejího vztahu k prognóze onemocnění, odpovědi na platinovou chemoterapii i potenciálnímu prediktivnímu významu pro imunoterapii. Mezi hlavní příčiny patří značná biologická heterogenita karcinomů ovaria, rozdíly mezi jednotlivými histologickými typy a absence standardizované metodiky pro hodnocení PD-L1. V dosud publikovaných studiích byly používány různé klony protilátek, rozdílné skórovací systémy i odlišné prahové hodnoty positivity.

Vzhledem k potenciální souvislosti mezi nádorovým mikroprostředím, citlivostí k platinové chemoterapii a dlouhodobou prognózou pacientek představuje PD-L1 zajímavý kandidátní biomarker, jehož klinický význam u karcinomu ovaria dosud nebyl jednoznačně definován. Aktuálnost této problematiky dále podtrhují výsledky studie Keynote-B96/ENGOT-ov65, která prokázala klinický přínos imunoterapie v kombinaci s chemoterapií u pacientek s recidivujícím platina-rezistentním karcinomem ovaria a současně naznačila význam exprese PD-L1 při identifikaci pacientek s vyšší pravděpodobností léčebného benefitu [67].

3.4.1 Vlastní přínos k problematice

Problematice nádorového imunitního mikroprostředí a exprese PD-L1 u karcinomu ovaria byla věnována pilotní studie hodnotící imunohistochemickou expresi PD-L1 u pacientek léčených primární platinovou chemoterapií. Práce vycházela z předpokladu, že vedle molekulárních charakteristik nádorových buněk mohou odpověď na léčbu a prognózu pacientek významně ovlivňovat také charakteristiky nádorového mikroprostředí, včetně exprese PD-L1.

Studie retrospektivně analyzovala kohortu 50 pacientek s epiteliálním karcinomem ovaria léčených minimálně šesti cykly platinové chemoterapie v rámci primární systémové léčby. Soubor tvořilo 25 pacientek s platina-rezistentním a 25 pacientek s platina-senzitivním onemocněním, přičemž obě kohorty byly srovnatelné z hlediska histologického typu, stadia onemocnění i rozsahu primární cytoredukce. Exprese PD-L1

byla hodnocena imunohistochemicky pomocí klonu 22C3 na vzorcích nádoru odebraných před zahájením systémové léčby. Hodnocení bylo provedeno jak pomocí skóre positivity nádorových buněk (tumor proportion score, TPS), tak kombinovaného pozitivního skóre (combined positive score, CPS).

Výsledky ukázaly velmi nízkou prevalenci exprese PD-L1 v nádorových buňkách při hodnocení pomocí TPS, zatímco při použití CPS byla pozitivita častěji zachycena díky expresi PD-L1 v buňkách nádorového mikroprostředí. Ve skupině pacientek s platina-senzitivním onemocněním byl pozorován trend k vyšším hodnotám CPS ve srovnání s kohortou platina-rezistentních pacientek, nicméně vzhledem k omezenému počtu zařazených nemocných nebylo možné učinit jednoznačné závěry o prognostickém nebo prediktivním významu PD-L1.

Přínosem práce bylo především ověření proveditelnosti imunohistochemického hodnocení PD-L1 v podmínkách rutinní patologické praxe, upozornění na význam volby metodiky hodnocení (TPS vs. CPS) a potvrzení výrazné heterogenity exprese PD-L1 u karcinomu ovaria. Studie současně vytvořila základ pro následnou validační analýzu na rozsáhlejším souboru pacientek, jejíž výsledky jsou v době dokončování habilitační práce předmětem recenzního řízení.

Příloha 8: Pilotní analýza exprese PD-L1 u pacientek s ovariálním karcinomem léčených chemoterapií na bázi platiny

HAUSNEROVÁ, J., L. EHRLICHOVÁ, P. OVESNÁ, E. GAZÁRKOVÁ, J. CHLUBNOVÁ, K. MATULOVÁ, L. MINÁŘ, V. WEINBERGER and **M. BEDNAŘÍKOVÁ** **(corresponding author)**. *Klinická Onkologie*. 2022, 35, S135 - S137. ISSN 0862-495X.

Category: Oncology – SJR Q4

Typ příspěvku: původní práce.

Vlastní přínos autorky: návrh studie, definice klinických kohort, spolupráce na statistickém zpracování, interpretace výsledků, spolupráce na přípravě manuskriptu, komunikace s redakcí.

Pilotní analýza exprese PD-L1 u patientek s ovariálním karcinomem léčených chemoterapií na bázi platiny

Pilot analysis of the PD-L1 expression in ovarian cancer patients treated with platinum-based chemotherapy

Hausnerová J.¹, Ehrlichová L.², Ovesná P.³, Gazárková E.⁴, Chlubnová J.², Matulová K.¹, Minář L.⁴, Weinberger V.⁴, Bednaříková M.²

¹ Ústav patologie, LF MU a FN Brno

² Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

³ Institut biostatistiky a analýz, MU Brno

⁴ Gynekologická a porodnická klinika LF MU a FN Brno

Souhrn

Východiska: V současnosti nejsou k dispozici jednoznačná data o prevalenci a významu imunohistochemického (IHC) stanovení ligandu 1 receptoru programované buněčné smrti (programmed death ligand-1 – PD-L1) u ovariálního karcinomu (ovarian cancer – OC). V rámci našeho projektu komplexního profilování patientek s OC léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu (P-CHT) jsme se proto zaměřili kromě jiného i na analýzu IHC exprese PD-L1. **Materiál a metody:** Z klinické databáze patientek léčených ve FN Brno pro OC v letech 2010–2020 byla dle předem definovaných kritérií identifikována retrospektivní kohorta celkem 50 patientek léčených minimálně šesti cykly chemoterapie na bázi platiny (P-CHT) v rámci primární systémové léčby. U všech patientek byla provedena IHC analýza PD-L1 (klon 22C3, Agilent) na vzorcích tumoru odebraných před zahájením P-CHT a byla vyhodnocena míra PD-L1 exprese dle TPS (% pozitivních nádorových elementů) a CPS (kombinované pozitivní skóre hodnocené jako počet všech pozitivních nádorových buněk, lymfocytů a makrofágů dělený počtem vitálních nádorových buněk a násobený číslem 100). **Výsledky:** Z celkového počtu 50 patientek mělo 25 patientek P-rezistentní onemocnění (medián doby bez progresu onemocnění (platinum treatment free interval – TFIp) 1 měsíc a celkového přežití (overall survival – OS) 10 měsíců) a 25 patientek P-senzitivní onemocnění (zprogredovalo 15 (60 %) patientek s TFIp 14 měsíců, OS 51 měsíců). V obou kohortách bylo rovnoměrné zastoupení patientek podle histotypu, stadia v době diagnózy a rozsahu cytoredukce v rámci primární léčby. V P-rezistentní kohortě byly výsledky následující: TPS negativní u 24 (96 %), TPS pozitivní u jedné (4 %), CPS < 1 u 13 (52 %), CPS 1–10 u devíti (36 %) a CPS 10–100 u tří (12 %) patientek. V P-senzitivní kohortě mělo TPS negativní 23 patientek (92 %), TPS pozitivní byly dvě patientky (8 %), CPS < 1 mělo 12 (48 %) patientek, CPS 1–10 celkem sedm (28 %) patientek a šest (24 %) patientek mělo hodnotu CPS v rozmezí 10–100. **Závěr:** Na konferenci budou prezentovány výsledky rozšířených analýz korelace PD-L1 exprese se základními klinicko-patologickými charakteristikami patientek.

Klíčová slova

karcinom ovaria – protilátka anti-PD-L1 – imunohistochemie

Projekt byl podpořen Ministerstvem zdravotnictví ČR, grant č. NU21-03-00306.

This research was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic: grant number NU21-03-00306.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Markéta Bednaříková
Interní hematologická
a onkologická klinika
FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail:
bednarikova.marketa@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 14. 7. 2022
Přijato/Accepted: 5. 9. 2022

Summary

Background: At present, there is no relevant data considering the prevalence and clinical significance of immunohistochemical (IHC) assessment of programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in ovarian cancer (OC). Therefore, as a part of our research project of comprehensive profiling of OC, we aimed to analyze PDL1 IHC expression in OC patients treated with platinum-based chemotherapy (P-CT). **Materials and methods:** The retrospective cohort of 50 patients treated with at least by 6 cycles of primary systemic P-CT at University Hospital Brno in the years 2010–2020 was identified from the clinical database based on predefined criteria. The tumor samples of all involved patients collected before P-CT initiation were IHC analyzed for PD-L1 expression using monoclonal antibody (clone 22C3, Agilent). The slides were scored for TPS (percentage of positive tumor cells) and CPS (combined positive score defined as the number of all positive tumor cells, lymphocytes and macrophages divided by the number of vital tumor cells and multiplied by 100). **Results:** A total of 25 patients had P-resistant disease (with median platinum-free interval (TfIp) 1 month and overall survival (OS) 10 months) and 25 patients had P-sensitive disease (with TfIp 14 months and OS 51 months in 15 (60 %) patients with recurrence). The stage at diagnosis, histological type and extent of cytoreduction were equally distributed in both cohorts. In the P-resistant cohort, the IHC PD-L1 expression results were as follows: TPS negative in 24 (96%) patients, TPS positive in 1 (4%), CPS < 1 in 13 (52%), CPS 1–10 in 9 (36%) a CPS 10–100 in 3 (12%) patients. The results in the P-sensitive cohort showed negative TPS in 23 (92%), TPS positive in 2 (8%), CPS < 1 in 12 (48%), CPS 1–10 in 7 (28%) and 10–100 in 6 (24%) patients. **Conclusion:** The results of the extended analyses of the correlation between PD-L1 expression and clinicopathological characteristics will be presented at the conference.

Key words

ovarian cancer – anti-PD-L1 antibody – immunohistochemistry

Úvod

Navzdory relativně vysoké procentuální úspěšnosti primární léčby spočívající v radikálním chirurgickém výkonu a v systémové léčbě zůstává prognóza karcinomu ovaria (ovarian carcinoma – OC) velmi nepříznivá, celkové 5leté přežití pacientek nedosahuje 50 % [1]. Hlavní příčina spočívá v primární nebo dříve či později získané chemorezistenci podmiňující neúčinnost standardní systémové léčby. Zásadní vliv na prognózu onemocnění i odpověď na léčbu má vedle molekulárních charakteristik tumoru také schopnost imunitního systému reagovat na přítomnost nádoru. Mezi hlavní determinanty nádorového mikroprostředí, které charakterizují stupeň aktivity imunitního systému hostitele, patří přítomnost, nebo absence tumor-infiltrujících lymfocytů (TILs) a ligandu 1 receptoru programované buněčné smrti (programmed death ligand-1 – PD-L1) [2]. PD-L1 (exprimovaný mj. na povrchu nádorových buněk) tvoří spolu s proteinem PD-1 (nacházejícím se na povrchu efektorových buněk imunitního systému) součást jednoho z klíčových imunoregulačních mechanismů, který umožňuje nádorovým buňkám v případě overexpresy PD-L1 uniknout z dohledu imunitního systému [3]. Dosud publikovaná data o prevalenci a prognostickém významu PD-L1 u OC ale nejsou jednoznačná. Podle výsledků některých studií je přítomnost

PD-L1 spojena s horší prognózou, jiné studie naopak dokladují asociaci s lepší prognózou a podle dalších studií nebyla mezi expresí PD-L1 a prognózou žádná významná souvislost statisticky prokázána [4–9]. Mezi hlavní příčiny dosud nekonkluzivních dat patří vedle heterogenity PD-L1 exprese v nádorové tkáni především absence jednoznačné shody na metodice imunohistochemického (IHC) hodnocení PD-L1 u OC, ať již ve výběru optimální protilátky, nebo kritérií pro pozitivitu [10].

V rámci výzkumného projektu, jehož cílem je identifikace prediktivních biomarkerů na základě komplexního genomického a imunohistochemického profilování u pacientek s OC léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu (P-CHT), jsme se proto kromě jiného zaměřili na analýzu exprese PD-L1.

Materiál a metody

Na základě souhlasu Etické komise FN Brno byly z klinické databáze FN Brno identifikovány všechny pacientky léčené P-CHT v rámci primární systémové léčby pro OC v letech 2010–2020. Do finálního výběru retrospektivní kohorty celkem 50 pacientek byly vybrány pacientky se srovnatelnými hlavními prognostickými parametry (histologický typ, stadium v době diagnózy, rozsah primární cytoredukce), lišící se pouze odpovědí na léčbu P-CHT. Kritéria pro platina-senzitivitu (PS) a platina-rezistenci (PR) byla

stanovena klinicky, a to na základě časového intervalu mezi datem poslední aplikace P-CHT a datem stanovení progresy, resp. poslední kontroly (platinum therapy free interval – TfIp). Z archivu Ústavu patologie FN Brno byly následně vybrány reprezentativní vzorky tumoru odebrané pacientkám před zahájením systémové léčby, fixované formalinem a zalité v parafínu. Pro IHC analýzy byla použita anti-PD-L1 protilátka klon 22C3 (Agilent). Míra exprese PD-L1 byla vyhodnocena stanovením skóre positivity nádorových buněk (TPS; % pozitivních nádorových elementů) a kombinovaného skóre positivity (CPS; počet všech pozitivních nádorových buněk, lymfocytů a makrofágů dělený počtem vitálních nádorových buněk a násobený číslem 100).

Výsledky

Z celkového počtu 50 pacientek mělo 25 pacientek PR onemocnění (medián TfIp 1 měsíc a medián celkového přežití (overall survival – OS) 10 měsíců) a 25 pacientek PS onemocnění (bez progresy po dobu min. 2 let od P-CHT celkem 10 pacientek (40 %), s progresí 15 (60 %) pacientek s mediánem TfIp 14 měsíců, OS 51 měsíců). V obou kohortách bylo rovnoměrné zastoupení pacientek podle histologického typu, stadia v době diagnózy a rozsahu cytoredukce v rámci primární léčby (tab. 1). V celém souboru bez ohledu na dpo-

věd' na léčbu P-CHT byly výsledky exprese PD-L1 následující: TPS pozitivní u 3 (6 %) a negativní u 47 (94 %) pacientek; CPS < 1 u 25 (50 %) pacientek, CPS v rozmezí 1–10 u 16 (32 %) pacientek a v rozmezí 10–100 u 9 (18 %) pacientek. V PR kohortě bylo TPS negativní u 24 (96 %) pacientek, TPS pozitivní u 1 (4 %) pacientky, CPS < 1 u 13 (52 %) pacientek, CPS v rozmezí 1–10 u 9 (36 %) pacientek a v rozmezí 10–100 u 3 (12 %) pacientek. V PS kohortě mělo TPS negativní 23 (92 %) pacientek, TPS pozitivní byla prokázána u 2 (8 %) pacientek, CPS < 1 mělo 12 (48 %) pacientek, CPS v rozmezí 1–10 u celkem 7 (28 %) pacientek a 6 (24 %) pacientek mělo hodnotu CPS v rozmezí 10–100 (tab. 2).

Závěr

Přizvolené metodice imunohistochemických analýz exprese PD-L1 u pacientek s ovariálním karcinomem bylo ve všech případech dosaženo hodnotitelných výsledků. Exprese PD-L1 vykazovala výraznou heterogenitu, byla pozorována na různých buněčných elementech s variabilní intenzitou. Pověšně byla častěji patrná pozitivita imunitních buněk v porovnání s nádorovými buňkami. Na konferenci budou prezentovány výsledky rozšířených analýz korelace PD-L1 exprese se základními klinicko-patologickými charakteristikami pacientek.

Literatura

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA A Cancer J Clin* 2021; 71(3): 209–249. doi: 10.3322/caac.21660.
2. Teng MW, Ngiew SF, Ribas A et al. Classifying cancers based on T-cell infiltration and PD-L1. *Cancer Res* 2015; 75(11): 2139–2145. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0255.
3. Marincola FM, Jaffee EM, Hicklin DJ et al. Escape of human solid tumors from T-cell recognition: molecular mechanisms and functional significance. *Adv Immunol* 1999; 74: 181–273. doi: 10.1016/S0065-2776(08)60911-6.
4. Hwang WT, Adams SF, Tahirovic E et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating T cells in ovarian cancer: a meta-analysis. *Gynecol Oncol* 2012; 124(2): 192–198. doi: 10.1016/j.jgyno.2011.09.039.
5. Gottlieb CE, Mills AM, Cross JV et al. Tumor-associated macrophage expression of PD-L1 in implants of high grade serous ovarian carcinoma: a comparison of matched primary and metastatic tumors. *Gynecol Oncol* 2017; 144(3): 607–612. doi: 10.1016/j.jgyno.2016.12.021.
6. Chen H, Molberg K, Strickland AL et al. PD-L1 expression and CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes in different types of tubo-ovarian carcinoma and their prognostic value in high-grade serous carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2020; 44(8): 1050–1060. doi: 10.1097/PAS.0000000000001503.

Tab. 1. Klinické charakteristiky retrospektivní kohorty pacientek (n = 50).

	P-rezistentní	P-senzitivní
Celkem zařazeno	25	25
počet s progresí	25 (100 %)	15 (60 %)
medián TFlp (měsíce)	1 (0–7)	14 (6–60)*
medián OS (měsíce)	10 (2–54)	51 (20–143)
Histologie		
HGSC	22	22
non-HGSC	3	3
Stadium		
I–II	1	1
III–IV + R0	11	11
III–IV + R1/inop	13	13
HRR/BRCA status		
neznámý	16	15
bez mutace	6	9
MUT BRCA1/2	2	0
MUT HRR (non-BRCA)	1	1

*pro pacientky s progresí/recidivou, HGSC – high-grade serózní karcinom, MUT BRCA1/2 – mutace v genu BRCA1 nebo BRCA2, MUT HRR (non-BRCA) – mutace v genu systému oprav poškozené DNA homologní rekombinací (mimo BRCA1/2), non-HGSC – non high-grade serózní karcinom, OS – celkové přežití (od data diagnózy k datu úmrtí/poslední kontroly 31. 5. 2022), P – platina, R0 – nulové makroskopické reziduum, R1/inop (nenulové makroskopické reziduum/bez cytoredukce), TFlp – doba bez progresu onemocnění po ukončení chemoterapie na bázi platiny (časový interval mezi datem poslední aplikace CHT s platinou a datem stanovení progresu, resp. poslední kontroly (31. 5. 2022)

Tab. 2. Výsledky imunohistochemických analýz exprese PD-L1.

		Počet pacientek (%)		
		Celý soubor (n = 50)	PS-kohorta (n = 25)	PR-kohorta (n = 25)
TPS	negativní	3 (6 %)	2 (8 %)	1 (4 %)
	pozitivní	47 (94 %)	23 (92 %)	24 (96 %)
CPS	< 1	25 (50 %)	12 (48 %)	13 (52 %)
	1–10	16 (32 %)	7 (28 %)	9 (36 %)
	10–100	9 (18 %)	6 (24 %)	3 (12 %)

CPS – kombinované skóre pozitivita, n – počet, PS – platina-senzitivní, PD-L1 – ligand 1 receptoru programované buněčné smrti, PR – platina-rezistentní, TPS – skóre pozitivita nádorových buněk

7. Xue C, Xu Y, Ye W et al. Expression of PD-L1 in ovarian cancer and its synergistic antitumor effect with PARP inhibitor. *Gynecol Oncol* 2020; 157(1): 222–233. doi: 10.1016/j.jgyno.2019.12.012.
8. Eymerit-Morin C, Ilanko A, Gaillard T et al. PD-L1 expression with QR1 and E1L3N antibodies according to histological ovarian cancer subtype: a series of 232 cases. *Eur J Histochem* 2021; 65(1): 3185. doi: 10.4081/ejh.2021.3185.

9. Buderath P, Mairinger F, Mairinger E et al. Prognostic significance of PD-1 and PD-L1 positive tumor-infiltrating immune cells in ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2019; 29(9): 1389–1395. doi: 10.1136/ijgc-2019-000609.
10. Yu J, Wang X, Teng F et al. PD-L1 expression in human cancers and its association with clinical outcomes. *OTT* 2016; 9: 5023–5039. doi: 10.2147/OTT.S105862.

3.5 Klinický význam alterací *SMARCA4* u karcinomu ovaria

Gen *SMARCA4* kóduje protein BRG1, jednu z katalytických podjednotek komplexu SWI/SNF, který patří mezi klíčové regulátory remodelace chromatinu a transkripční aktivity genomu. Prostřednictvím ATP-dependentní přestavby nukleozomů se komplex SWI/SNF podílí na regulaci genové exprese, buněčné diferenciaci, udržování buněčné identity a odpovědi na poškození DNA. Alterace genů kódujících jednotlivé složky SWI/SNF komplexu jsou přítomny přibližně u čtvrtiny lidských malignit a představují jednu z nejčastějších skupin epigenetických alterací v nádorových buňkách.

Na rozdíl od řady jiných molekulárních alterací běžně studovaných v gynekologické onkologii, jako například alterace genů *TP53*, *BRCA* nebo MMR systému, představuje deficit *SMARCA4* relativně nedávno rozpoznanou biologickou jednotku. K zásadnímu rozšíření poznatků o biologickém a klinickém významu došlo teprve v posledním desetiletí, kdy byla identifikována bialelická inaktivace *SMARCA4* jako charakteristický molekulární znak vybraných vysoce agresivních nádorů. Ztráta funkce genu *SMARCA4* byla původně popsána především u rhabdoidních nádorů a malobuněčného karcinomu ovaria hyperkalcemického typu, postupně však byla identifikována také u dalších vysoce agresivních dediferencovaných a nediferencovaných karcinomů. Současné poznatky naznačují, že biologické důsledky ztráty funkce *SMARCA4* souvisejí zejména s poruchou regulačních mechanismů buněčné diferenciaci a buněčné identity, což vede ke vzniku nádorů s vysoce agresivním klinickým chováním. Přestože je biologický význam ztráty funkce *SMARCA4* již dobře doložen, její prognostické a terapeutické implikace zůstávají předmětem intenzivního výzkumu [68, 69].

Nádory se ztrátou funkce SWI/SNF komplexu jsou často charakterizovány omezenou citlivostí ke konvenční cytotoxické léčbě, což se promítá do nepříznivé prognózy této skupiny malignit. Současně však narůstají důkazy o existenci specifických terapeutických vulnerabilit těchto nádorů. Experimentální i časná klinická data naznačují potenciální citlivost *SMARCA4*-deficientních nádorů např. k inhibitorům EZH2, ATR a PARP, stejně jako možnost využití konceptu syntetické letality založeného na závislosti *SMARCA4*-deficientních nádorů na funkci příbuzného proteinu *SMARCA2*, který může představovat nový terapeutický cíl.

Pozornost je v posledních letech věnována rovněž vztahu mezi alteracemi SWI/SNF komplexu a protinádorovou imunitní odpovědí. Deficit *SMARCA4* může být spojen se změnami nádorového mikroprostředí, vyšší imunogenicitou nádoru a zvýšenou citlivostí k imunoterapii. Přestože dostupná klinická data zůstávají omezená, byly popsány dlouhodobé léčebné odpovědi na inhibitory PD-1/PD-L1 u vybraných pacientů s nádory deficientními v *SMARCA4*. Imunoterapie je proto vedle cíleného ovlivnění SWI/SNF komplexu považována za jednu z nejslibnějších terapeutických strategií u nádorů s deficitem *SMARCA4* [70].

3.5.1 Vlastní přínos k problematice

Problematice klinického významu alterací *SMARCA4* u karcinomu ovaria byla věnována kazuistika publikovaná v roce 2025 v časopise *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. Práce prezentuje případ pacientky s dediferencovaným karcinomem ovaria, který byl primárně diagnostikován jako časná stadium high-grade endometroidního

karcinomu ovaria, avšak navzdory kompletnímu chirurgickému stagingu a zahájení adjuvantní platinové chemoterapie došlo k fulminantní progresi onemocnění s úmrtím pacientky během čtyř měsíců od stanovení diagnózy. Retrospektivní molekulární analýza nádoru vedla k identifikaci bialelické inaktivace genu SMARCA4 a následné revizi původní histopatologické diagnózy na dediferencovaný karcinom ovaria.

Přínosem práce bylo zdokumentování mimořádně agresivního klinického průběhu tohoto vzácného nádoru a současně demonstrace významu komplexní molekulární diagnostiky pro správnou klasifikaci dediferencovaných karcinomů ovaria. Součástí analýzy bylo vedle sekvenování nové generace také imunohistochemické hodnocení exprese SLFN11, PD-L1 a kvantifikace nádor infiltrujících lymfocytů. Negativní exprese SLFN11 korelovala s extrémní rezistencí k platinové chemoterapii, zatímco vysoká exprese PD-L1 a výrazná lymfocytární infiltrace naznačovaly potenciální citlivost k imunoterapii.

Práce současně diskutuje možnosti využití precizní onkologie u této skupiny nádorů. Molekulární profilace identifikovala vedle bialelické ztráty SMARCA4 také patogenní alterace genů ARID1A, PIK3CA a PTEN, které představují potenciálně terapeuticky využitelné cíle. Kazuistika tak ilustruje současný posun od čistě morfologické klasifikace nádorů k integrovanému molekulárnímu přístupu a upozorňuje na potřebu individualizovaných léčebných strategií u vzácných agresivních malignit ovaria.

Příloha 9: SMARCA4-deficient dedifferentiated ovarian carcinoma with rapid progression during adjuvant platinum-based chemotherapy: a case report and implications for molecular-driven treatment strategies

BEDNARIKOVA, Marketa, Jitka HAUSNEROVA, Petra POKORNA, Michal FELSINGER, Svatopluk RICHTER, Lucie EHRLICHOVA, Jana ORLICKOVA, Lubos MINAR, Ondrej SLABY and Vit WEINBERGER. *Therapeutic Advances In Medical Oncology* [online]. 2025, 17(17588359251376858, Article 17588359251376858). ISSN 1758-8359. Available at: doi:10.1177/17588359251376858

in 2024 IF = 4,200; median IF ONCOLOGY – 2,800; according to IF ONCOLOGY Q2; according to AIS ONCOLOGY Q2

Typ příspěvku: původní práce

Vlastní přínos autorky: iniciace tématu, identifikace unikátního případu, návrh konceptu práce, klinická analýza případu, interpretace molekulárně patologických nálezů v klinickém kontextu, formulace hlavních odborných závěrů a příprava rukopisu.

SMARCA4-deficient dedifferentiated ovarian carcinoma with rapid progression during adjuvant platinum-based chemotherapy: a case report and implications for molecular-driven treatment strategies

Markéta Bednaříková^{ID}, Jitka Hausnerová, Petra Pokorná, Michal Felsinger, Svatopluk Richter, Lucie Ehrlichová, Jana Orličková, Luboš Minář, Ondřej Slabý and Vít Weinberger^{ID}

Abstract: Dedifferentiated ovarian carcinomas (DDOC) are rare and aggressive malignancies characterized by a mixture of differentiated and undifferentiated tumor components, often associated with poor prognosis. This case report describes a 55-year-old woman initially diagnosed with early-stage high-grade endometrioid ovarian carcinoma who experienced rapid disease progression during adjuvant platinum-based chemotherapy, culminating in death within 4 months. Retrospective molecular analyses revealed pathogenic variants in the *SMARCA4* gene, leading to a revised diagnosis of DDOC. The tumor exhibited resistance to conventional chemotherapy, highlighting the challenges associated with managing this aggressive tumor subtype. In our case, molecular profiling identified two potentially targetable alterations: biallelic *SMARCA4* loss and a pathogenic *PIK3CA* mutation, both of which may inform future therapeutic strategies. This case underscores the importance of integrating molecular diagnostics into routine practice for accurate classification and highlights the urgent need for personalized treatment strategies, including targeted and immunotherapy options, for this formidable tumor subtype.

Keywords: case report, dedifferentiated ovarian carcinoma, personalized treatment, SLFN11, *SMARCA4*, SWI/SNF chromatin remodeling complex

Received: 3 June 2025; revised manuscript accepted: 10 August 2025.

Introduction

Dedifferentiated ovarian carcinomas (DDOC) are uncommon malignancies characterized by the presence of both undifferentiated and differentiated carcinoma components. These tumors exhibit aggressive biological behavior and are often diagnosed at later stages.¹ Due to their rarity, limited data exist regarding their optimal management and response to conventional therapies. For patients diagnosed in the early stages,

the standard of care does not differ from other aggressive ovarian carcinoma subtypes. It typically involves staging surgical procedures followed by adjuvant platinum-based chemotherapy (P-CHT). However, this treatment appears to be ineffective for this specific tumor subtype.² A case report details the experience of a 55-year-old woman initially diagnosed with early-stage high-grade endometrioid carcinoma. Despite undergoing P-CHT, she exhibited rapid progression,

Ther Adv Med Oncol

2025, Vol. 17: 1–8

DOI: 10.1177/
17588359251376858

© The Author(s), 2025.
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-
permissions

Correspondence to:

Vít Weinberger

Department of Obstetrics
and Gynecology, University
Hospital Brno and Faculty
of Medicine, Masaryk
University, Jihlavská
20, Brno 625 00, Czech
Republic

Weinberger.Vit@fnbrno.cz

Markéta Bednaříková

Lucie Ehrlichová

Department of Internal
Medicine, Hematology
and Oncology, University
Hospital Brno and Faculty
of Medicine, Masaryk
University, Brno, Czech
Republic

Jitka Hausnerová

Department of Pathology,
University Hospital Brno
and Faculty of Medicine,
Masaryk University,
Brno, Czech Republic

Petra Pokorná

Ondřej Slabý

Department of Biology,
Faculty of Medicine,
Central European Institute
of Technology, Masaryk
University, Brno, Czech
Republic

Center for Precision
Medicine, University
Hospital, Brno, Czech
Republic

Michal Felsinger

Luboš Minář

Department of Obstetrics
and Gynecology, University
Hospital Brno and Faculty
of Medicine, Masaryk
University, Brno, Czech
Republic

Svatopluk Richter

Department of Radiology
and Nuclear Medicine,
University Hospital Brno
and Faculty of Medicine,
Masaryk University,
Brno, Czech Republic

Jana Orličková

Central European Institute
of Technology, Masaryk
University, Brno, Czech
Republic

journals.sagepub.com/home/tam



Creative Commons Non Commercial CC BY-NC: This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits non-commercial use, reproduction and distribution of the work without further permission provided the original work is attributed as specified on the Sage and Open Access pages (<https://us.sagepub.com/en-us/nam/open-access-at-sage>).

1

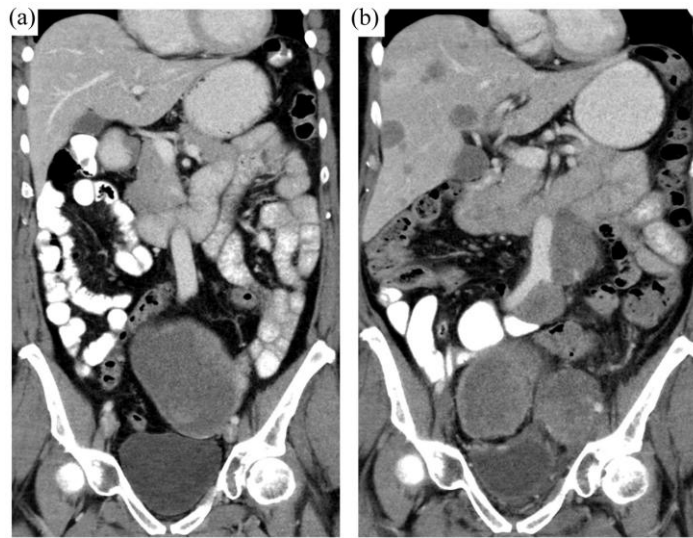


Figure 1. Overview of coronal CT images of the abdomen and pelvis obtained after intravenous contrast administration in the portal venous phase. On the left (a), the staging examination reveals a large, predominantly cystic mass arising from the left adnexa, located superior to the urinary bladder. On the right (b), the follow-up examination during early recurrence of ovarian carcinoma demonstrates heterogeneously enhancing lesions in the pelvis, adjacent to the aortic bifurcation, and in the liver, consistent with multifocal metastatic spread.

leading to death 4 months after her diagnosis. Retrospective molecular analyses, which included the detection of pathogenic variants in the *SMARCA4* gene, prompted a second expert pathological review that ultimately changed her diagnosis to DDOC. The presented case emphasizes the importance of integrating molecular analyses into diagnostic procedures. It highlights the urgent clinical need for more individualized treatment strategies reflecting the unique molecular landscape of this rare tumor. This case report conforms to CARE guidelines³ (see Supplemental Material 1).

Case description

Clinical information

A 55-year-old woman was referred to our institution for abnormal vaginal bleeding and lower abdominal pain. An ultrasound examination revealed a unilocular-solid anechoic pelvic mass measuring $140 \times 100 \times 100$ mm, with a thicker, vascularized wall, and a solid component measuring $28 \times 22 \times 25$ mm that exhibited a color Doppler scale of 3. A CT scan confirmed

significant enlargement of the left adnexa and indicated no distant abdominal or chest metastases (see Figure 1(a)). Based on the results of the perioperative histopathological examination, which indicated a malignant tumor likely representing serous carcinoma, the patient underwent complete staging surgical procedures, including pelvic and paraaortic lymphadenectomy. The final histopathological report confirmed the diagnosis of invasive high-grade endometrioid carcinoma of the left ovary, classified as stage IA according to the FIGO system. Due to the high-grade tumor, six cycles of adjuvant P-CHT were recommended and initiated after surgery. During the third cycle of P-CHT, an abdominal ultrasound was performed due to the worsening of her overall condition. This examination revealed multiple hyperechoic lesions in the liver as well as a solid, semi-fixed mass in the pelvis measuring 80×60 mm, located on the vaginal stump. CT scans confirmed the presence of multiple liver lesions ranging from a few millimeters to 40 mm, as well as various pelvic expansions, with the largest measuring 100×120 mm above the bladder (see Figure 1(b)). Histological examination of a pelvic biopsy confirmed infiltration by high-grade

Table 1. Summary of the key results of the DDOC somatic analyses: results of the next-generation sequencing (undifferentiated component).

Gene	Transcript	HGVSc	HGVSp	VAF (%)
<i>ARID1A</i>	NM_006015.6	c.3156T>G	p.Tyr1052Ter	32.3
<i>ARID1A</i>	NM_006015.6	c.2989-7_2994del	p.?	19.9
<i>SMARCA4</i>	NM_001128849.3	c.2632_2633del	p.Met878AspfsTer66	38.2
<i>SMARCA4</i>	NM_001128849.3	c.3575G>A	p.Arg1192His	32.7
<i>PIK3CA</i>	NM_006218.4	c.3140A>G	p.His1047Arg	31.8
<i>PTEN</i>	NM_000314.8	c.161dup	p.Arg55LysfsTer8	29.8
<i>PTEN</i>	NM_000314.8	c.377C>A	p.Ala126Asp	32.9
<i>CTCF</i>	NM_006565.4	c.1342C>T	p.Arg448Ter	32.5

DDOC, dedifferentiated ovarian carcinomas; HGVSc, human genome variation society; VAF, variant allele frequency.

carcinoma identical to the initial histology. The patient's overall condition rapidly deteriorated, ultimately resulting in her death 4 months after the initial diagnosis.

and stromal tumor components. However, the expression of Schlafen-11 (SLFN-11), measured immunohistochemically by *H*-score, showed entirely negative results (see Table 2 for details).

Next-generation sequencing and immunohistochemical profiling results

As part of a research project focused on comprehensive molecular analyses of ovarian carcinomas with varying responses to P-CHT, a tumor sample of this case was retrospectively analyzed using next-generation sequencing (NGS) and immunohistochemistry (IHC). The NGS analysis of the undifferentiated component identified two likely oncogenic variants in the *SMARCA4* gene, which are predicted to lead to a loss of normal protein function, specifically NM_001128849.3:c.2632_2633del (p.Met878AspfsTer66) and NM_001128849.3:c.3575G>A (p.Arg1192His). In addition, oncogenic or likely oncogenic variants were detected in the *ARID1A*, *PTEN*, *PIK3CA*, and *CTCF* genes. The undifferentiated component of the tumor exhibited microsatellite stability (1.64%) and a low tumor mutation burden (6.29 mutations/Mb), consistent with proficiency in the mismatch-repair (MMR) protein, as measured by IHC (see Table 1 for details). Further immunohistochemical analysis of the undifferentiated component assessed the expression of programmed cell death ligand 1 and revealed the value of a combined positive score 30 (CPS PD-L1). The density of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) was high in both intraepithelial

Second expert pathological review

Based on the results of retrospective NGS analyses, the expert pathological review revised the initial diagnosis to dedifferentiated carcinoma of the ovary, which included a minor undifferentiated component that constituted 10% of the tumor. This undifferentiated component showed a loss of PAX8 expression and exhibited negative expression for both estrogen (ER) and progesterone receptors (PR). By contrast, the major differentiated component of the tumor, comprising 90%, consisted of endometrioid adenocarcinoma structures that displayed squamous differentiation. This component preserved the expression of ER, PR, and PAX8, and presented a p53 wild-type pattern with patchy p16 expression and WT1-negative status (see Figure 2).

Discussion

Dedifferentiated carcinomas generally have a poor prognosis due to their aggressive nature, regardless of their site of origin. In the female genital tract, these tumors are well described in the endometrium (dedifferentiated endometrial carcinoma, DDEC), where they were first reported in 2006.⁴ However, data regarding clinical manifestations and treatment outcomes of

Table 2. Summary of the key results of the DDOC somatic analyses: results of immunohistochemical analyses.

Marker	LG endometrioid adenocarcinoma (90%)	Undifferentiated component (10%)	
p53	No aberrant expression ("wild-type" pattern)	No aberrant expression ("wild-type" pattern)	
WT-1	Negative	Negative	
PAX-8	Positive	Negative	
ER	100%	0%	
PR	80%	0%	
Ki-67	30%	50%	
MMR	NA	Proficient	
PD-L1 (CPS)	NA	30	
SLFN-11	NA	Negative (H-score 0)	
TILs (No/mm ²)		Intratumorally	Stromal
CD3+	NA	401,055409	3270,27785
CD8+	NA	352,6993099	2080,13597
CD4+	NA	226,920686	1493,23684
CD164+	NA	771,1132071	2079,84286
Morphology ^a	NA	10	25
^a The average percentage of area infiltrated by mononuclear inflammatory cells is relative to the intratumoral intraepithelial and stromal areas, respectively. DDOC, dedifferentiated ovarian carcinomas; ER, estrogen receptors; LG, low-grade; MMR, mismatch repair system proteins; No/mm ² , number per square millimeter; PD-L1 (CPS), combined positive score for programmed cell death ligand 1; PR, progesterone receptors; SLFN11, Schlafen 11; TILs, tumor-infiltrating lymphocytes; NA, not applicable.			

DDOC remain scarce, mainly due to their rarity and potential for misdiagnosis.

Establishing an accurate histopathological diagnosis is not always straightforward. Specifically, distinguishing between the undifferentiated and poorly differentiated components of endometrioid adenocarcinoma can be challenging in some cases. Consequently, DDOC is most commonly misdiagnosed as high-grade endometrioid carcinoma, although high-grade serous carcinomas or neuroendocrine tumors may also appear in the differential diagnosis.^{5,6} The undifferentiated components, usually responsible for aggressive biological behavior irrespective of their size,^{2,7} frequently exhibit specific molecular features. These characteristics include loss of function in SWI/

SNF complex units, particularly based on *SMARCA4*, *SMARCB1*, or concurrent *ARID1A/ARID1B* inactivation.^{6,8,9} However, markers indicating a potential SWI/SNF complex function loss might not be routinely examined. In our case, the discovery of two pathogenic variants in the *SMARCA4* gene resulted in a retrospective diagnosis change to DDOC.

Fulminant progression during adjuvant P-CHT, as observed in our case, is exceptionally rare. The recommendation of adjuvant P-CHT—regardless of a FIGO stage IA and after the complete surgical staging—was based on treatment guidelines for high-grade epithelial ovarian carcinoma aimed at reducing the risk of recurrence.^{10,11} It remains questionable whether knowing the correct

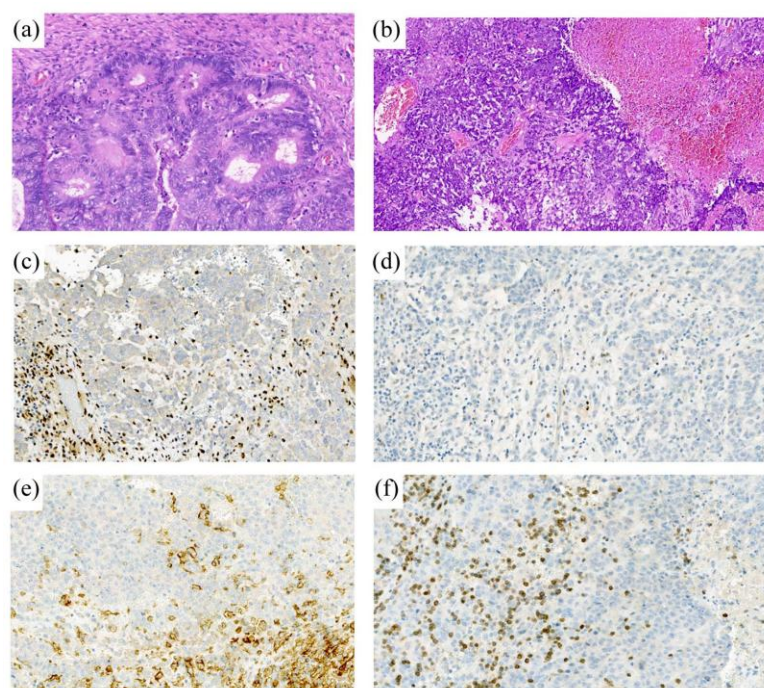


Figure 2. Representative histopathological images of dedifferentiated ovarian carcinoma (100× magnification). The representative images of histopathological findings are demonstrated (100× magnification). The tumor contained differentiated (a) and undifferentiated (b) components. The undifferentiated component showed a negative SLFN-11 expression (c), the complete loss of estrogen receptors (d), the combined positive score for PD-L1 value of 30 (e), and a high density of CD3+ tumor-infiltrating lymphocytes (f). PD-L1, programmed cell death ligand 1.

diagnosis of DDOC would alter the decision regarding adjuvant therapy. Since DDOC is often diagnosed at advanced stages, data on the outcomes of the adjuvant treatment in early stages are limited. To our knowledge, fewer than 10 DDOC cases diagnosed in FIGO stage I, with available treatment and follow-up data, have been reported. In the largest series of 23 DDOC patients, 5 were diagnosed with FIGO stage I, and 4 succumbed to recurrent disease within 2 years. Similar to our case, all patients who received adjuvant chemotherapy experienced disease progression during chemotherapy, with two dying within 4 months.² Thus, despite their high growth potential, the standard P-CHT appears ineffective in DDOC.

In our case, the observed resistance to P-CHT correlated with completely negative IHC results for SLFN-11 expression in the undifferentiated

component (see Table 2 and Figure 2(d) for details). The nuclear protein SLFN11 has been recently discovered as the causal and dominant genomic determinant of response to replication stress caused, for example, by anticancer agents damaging DNA, including platinum compounds.¹² The absence of the SLFN-11 expression has been associated with resistance to DNA-damaging agents, making it a promising predictive biomarker.¹³ Although SLFN-11 and the SWI/SNF complex, both deficient in our case, play important roles in regulating DNA damage response and transcription, a direct link between SLFN11 and the SWI/SNF complex has not yet been described or unequivocally established.

Given the P-CHT's inefficiency, the strategy for the systemic treatment of DDOC requires modifications. One promising approach involves incorporating immunotherapy through checkpoint

inhibitors (CPi), based on the biological similarities with DDECs, which exhibit MMR deficiency in up to two-thirds of cases.¹⁴ Despite strong evidence suggesting that MMR deficiency serves as a predictive marker for CPi across various solid tumors, other factors can also indicate a positive response to immunotherapy, including high expression of PD-L1—a known immunosuppressive checkpoint protein—and intense T-cell infiltration.¹⁵ Although DDOCs appear to be less frequently MMR-deficient than DDECs (6 out of 23 cases in Tessier et al.), additional markers may suggest a beneficial role for CPi in treatment strategies. As shown in Table 2, IHC results in our case revealed not only MMR proficiency, but also positive PD-L1 expression measured by combined positive score (CPS-PDL1), alongside a high proportion of both intratumoral and stromal TILs in the undifferentiated component (see Figure 2(e) and (f)). These findings support the assumption that incorporating CPi into systemic treatment may enhance efficacy. Another approach to improve treatment outcomes is to target the altered SWI/SNF complex through developing molecular targeted therapies.¹⁶

Given the rarity of DDOC, expecting data from large randomized prospective clinical trials to alter established treatment standards is unrealistic. Therefore, a precision oncology treatment approach—developing an individual treatment plan based on detailed tumor analyses searching for alterations with already existing targeting treatment—seems most appropriate. In addition to IHC results, the NGS analysis revealed several potentially targetable alterations. Inactivating variants in *SMARCA4* and *ARID1A*, both core components of distinct SWI/SNF chromatin remodeling complex subunits, suggest epigenetic dysregulation that could be therapeutically utilized using EZH2 inhibitors. EZH2 inhibitors have already been approved for treating epithelioid sarcoma, which is characterized by inactivation of *SMARCB1*, another member of the SWI/SNF complex. Based on a similar rationale of exploiting the synthetic lethal interaction between SWI/SNF deficiency and PRC2 complex activity, several clinical trials are currently evaluating EZH2 inhibition in tumors with *ARID1A* or *SMARCA4* loss. Notably, the GY014 phase II trial (NCT03348631) is evaluating tazemetostat in patients with recurrent ovarian or endometrial cancer harboring *ARID1A* alterations. In parallel, variants identified in *PIK3CA* and *PTEN* suggest activation of the PI3K/Akt/mTOR pathway,

which might be targeted with either PI3K or mTOR inhibitors. Recently published data demonstrated that the PI3K α -specific inhibitor alpelisib achieved an objective response rate of 28% and a disease control rate of 61% in patients with *PIK3CA*-mutated recurrent gynecologic cancers, including ovarian carcinoma, supporting biomarker-driven use of PI3K blockade.¹⁷ Altogether, the molecular data not only refined the tumor classification but could also offer a biologically informed basis for exploring non-standard, targeted therapeutic strategies in this rare and aggressive entity in an upfront testing setting.

Conclusion

We present a rare case of *SMARCA4*-deficient DDOC that was initially diagnosed as high-grade endometrioid carcinoma. This case followed a highly unfavorable clinical course, with fulminant progression during adjuvant P-CHT, ultimately resulting in death 4 months after initial diagnosis, despite the disease being detected at an early stage. Retrospective molecular profiling allowed us to refine the initial morphological diagnosis and underscored the clinical need for more effective systemic treatment for this rare malignancy. NGS analysis revealed the SWI/SNF complex alteration as well as PI3K/Akt/mTOR pathway activation, both of which are linked to already existing therapeutic options. Immunohistochemical analysis demonstrated a loss of SLFN-11 expression in the undifferentiated component, correlating with the real-life resistance to P-CHT. Conversely, positive PDL1-CPS values and a high density of TILs support the potential effectiveness of immunotherapy using CPi. Future research should focus on elucidating the molecular mechanisms underlying P-based chemotherapy resistance in patients with this formidable diagnosis. In addition, establishing new systemic treatment strategies that integrate immunotherapy or molecularly targeted treatments, with or without chemotherapy, is essential. In our case, a precise oncologic approach consisting of detailed somatic tumor profiling would have facilitated the development of a more individualized treatment plan had it been employed at the time of diagnosis.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

The retrospective molecular analyses were provided as a part of the study conducted in

accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of University Hospital Brno (No 26-100620/EK). All participants provided written informed consent prior to participating in the study.

Consent for publication

Written informed consent was obtained from the patient's daughter for publication of this case report and accompanying images.

Author contributions

Markéta Bednaříková: Conceptualization; Investigation; Visualization; Writing – original draft.

Jitka Hausnerová: Investigation; Visualization; Writing – review & editing.

Petra Pokorná: Data curation; Formal analysis; Investigation; Writing – review & editing.

Michal Felsinger: Investigation; Visualization; Writing – review & editing.

Svatopluk Richter: Investigation; Visualization; Writing – review & editing.

Lucie Ehrlichová: Investigation; Writing – review & editing.

Jana Orličková: Investigation; Writing – review & editing.

Luboš Minář: Investigation; Supervision; Writing – review & editing.

Ondřej Slabý: Conceptualization; Funding acquisition; Supervision; Writing – review & editing.

Vít Weinberger: Conceptualization; Funding acquisition; Supervision; Writing – review & editing.

Acknowledgements

None.

Funding

The authors disclosed receipt of the following financial support for the research, authorship, and/or publication of this article: This research was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic: grant number NU21-03-00306. Supported by the project National Institute for Cancer Research (Programme EXCELES, ID

Project No. LX22NPO5102)—Funded by the European Union—Next Generation EU.

Competing interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Availability of data and materials

Not applicable.

ORCID iDs

Markéta Bednaříková  <https://orcid.org/0000-0003-3189-7028>

Vít Weinberger  <https://orcid.org/0000-0003-4858-1951>

Supplemental material

Supplemental material for this article is available online.

References

1. Palacios JC, Ramalingam P and Lee CH. Undifferentiated and dedifferentiated carcinomas of the ovary. In: Centre International de Recherche sur le Cancer (ed.) *WHO classification of tumours: female genital tumours*. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2020.
2. Tessier-Cloutier B, Kommos FKF, Kolin DL, et al. Dedifferentiated and undifferentiated ovarian carcinoma: an aggressive and molecularly distinct ovarian tumor characterized by frequent SWI/SNF complex inactivation. *Mod Pathol* 2024; 37: 100374.
3. Gagnier JJ, Kienle G, Altman DG, et al. The CARE guidelines: consensus-based clinical case reporting guideline development. *Glob Adv Health Med* 2013; 2: 38–43.
4. Silva EG, Deavers MT, Bodurka DC, et al. Association of low-grade endometrioid carcinoma of the uterus and ovary with undifferentiated carcinoma: a new type of dedifferentiated carcinoma? *Int J Gynecol Pathol* 2006; 25: 52–58.
5. Němejcová K, Rosmusová J, Bártů M, et al. Dedifferentiated carcinoma of the ovary. A case report. *Cesk Patol* 2018; 54: 33–36.
6. Kamal M, Atwi D, Pang H, et al. Dedifferentiated ovarian carcinoma with ARID1A

- and ARID1B mutations: a clinicopathological report and literature review. *Int J Surg Pathol* 2023; 31: 1526–1531.
7. Chen L, Pang S, Shen Y, et al. Low-grade endometrioid carcinoma of the ovary associated with undifferentiated carcinoma: case report and review of the literature. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 4422–4427.
8. Coatham M, Li X, Karnezis AN, et al. Concurrent ARID1A and ARID1B inactivation in endometrial and ovarian dedifferentiated carcinomas. *Mod Pathol* 2016; 29: 1586–1593.
9. Tan A, Mohan GR and Stewart CJR. BRG1-deficient dedifferentiated endometrioid adenocarcinoma of the ovary. *Pathology* 2016; 48: 82–83.
10. National Comprehensive Cancer Network. Ovarian cancer (Version 1.2019), https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/ovarian.pdf (accessed July 2019).
11. Česká Onkologická Společnost. *Diagnosticko-terapeutické postupy u maligních nádorů v České republice—Modrá kniha*. Praha: Česká Onkologická Společnost ČLS JEP, 2019.
12. Ballestrero A, Bedognetti D, Ferraioli D, et al. Report on the first SLFN11 monothematic workshop: from function to role as a biomarker in cancer. *J Transl Med* 2017; 15: 199.
13. Zhang B, Ramkumar K, Cardnell RJ, et al. A wake-up call for cancer DNA damage: the role of Schlafen 11 (SLFN11) across multiple cancers. *Br J Cancer* 2021; 125: 1333–1340.
14. Tessier-Cloutier B, Coatham M, Carey M, et al. SWI/SNF-deficiency defines highly aggressive undifferentiated endometrial carcinoma. *J Pathol Clin Res* 2021; 7: 144–153.
15. Fukumoto T, Magno E and Zhang R. SWI/SNF complexes in ovarian cancer: mechanistic insights and therapeutic implications. *Mol Cancer Res* 2018; 16: 1819–1825.
16. Centore RC, Sandoval GJ, Soares LMM, et al. Mammalian SWI/SNF chromatin remodeling complexes: emerging mechanisms and therapeutic strategies. *Trends Genet* 2020; 36: 936–950.
17. Passarelli A, Carbone V, Pignata S, et al. Alpelisib for PIK3CA-mutated advanced gynecological cancers: first clues of clinical activity. *Gynecol Oncol* 2024; 183: 61–67.

3.6 Komplexní genomové profilování a individualizace léčby karcinomu ovaria

Rozvoj molekulární biologie a implementace moderních diagnostických technologií zásadně změnil pohled na biologii nádorových onemocnění. Tradiční klasifikace zhoubných nádorů založená především na anatomickém původu a histopatologických charakteristikách je postupně doplňována molekulární charakterizací, která umožňuje identifikaci genetických a epigenetických alterací odpovědných za vznik, progresi a odpověď nádoru na léčbu.

Na tomto principu vznikl koncept precizní onkologie, jehož cílem je přizpůsobit léčbu individuálním molekulárním charakteristikám nádoru u konkrétního pacienta. Namísto výběru léčby pouze podle histologického typu nádoru využívá precizní onkologie identifikaci terapeuticky cílitelných molekulárních alterací, které mohou sloužit jako prediktivní biomarkery účinnosti cílené léčby nebo imunoterapie. Klíčovým nástrojem precizní onkologie se stalo komplexní genomové profilování nádorů pomocí sekvenování nové generace (NGS), které umožňuje současnou detekci bodových mutací, inzercí a delecí, změn počtu kopií genů, genových přestaveb i dalších molekulárních změn [71].

Významným milníkem v rozvoji precizní onkologie byly tzv. basket studie, které zařazují pacienty do léčebných ramen na základě přítomnosti specifických molekulárních alterací bez ohledu na orgánový původ nádoru. Tento přístup potvrdil proveditelnost molekulárně řízené léčby napříč různými nádorovými diagnózami a položil základy současné éry tkáňově agnostických terapeutických indikací.

Gynekologické nádory představují heterogenní skupinu onemocnění s výrazně odlišným molekulárním profilem jednotlivých histologických podtypů. Komplexní genomické analýzy, zejména projekty TCGA, ukázaly, že nádory ovaria, endometria i děložního hrdla jsou charakterizovány specifickými soubory genetických alterací, které mohou mít prognostický i terapeutický význam [72].

U karcinomů ovaria měla nejvýznamnější klinický dopad identifikace poruchy homologní rekombinace, nejčastěji v souvislosti s mutacemi genů *BRCA1* a *BRCA2*, vyskytující se až u poloviny high-grade serózních karcinomů. Objevení principu syntetické letality u takto alterovaných nádorů a zavedení inhibitorů PARP do klinické praxe představují jeden z nejúspěšnějších příkladů biomarkerem řízené léčby v gynekologické onkologii.

Další potenciálně terapeuticky využitelné alterace byly u karcinomu ovaria popsány například v genech *PIK3CA*, *KRAS*, *ARID1A*, *PTEN*, *ERBB2* nebo v signálních drahách PI3K/AKT/mTOR a RAS/MAPK. Přestože řada těchto molekulárních cílů zatím není součástí standardní léčby, představuje perspektivní oblast klinického výzkumu a základ pro další rozvoj individualizované terapie [73].

Přes nesporný pokrok však zůstává implementace precizní onkologie v gynekologických malignitách spojena s řadou limitací. Mezi nejvýznamnější patří intratumorová heterogenita, časová evoluce nádorového genomu a skutečnost, že identifikace molekulární alterace automaticky neznamená klinickou účinnost odpovídající cílené léčby. Opakované molekulární hodnocení nádoru v průběhu onemocnění a integrace genomických dat do klinického rozhodování proto představují jeden z klíčových předpokladů pro další rozvoj individualizované léčby v gynekologické onkologii.

3.6.1 Vlastní přínos k problematice

V návaznosti na rozvoj konceptu precizní onkologie a rostoucí význam komplexního molekulárního profilování nádorů jsme se zaměřili na využití genomového profilování u pacientek s karcinomem ovaria. Cílem bylo identifikovat terapeuticky využitelné molekulární alterace nad rámec rutinně vyšetřovaných genů *BRCA1/2*, charakterizovat genomickou heterogenitu nádoru a zhodnotit změny molekulárního profilu v průběhu léčby a při recidivě onemocnění.

Do retrospektivní analýzy bylo zařazeno 42 pacientek s high-grade serózním karcinomem ovaria, rozdělených podle odpovědi na platinovou chemoterapii na skupinu s platina-senzitivním a platina-rezistentním onemocněním. Na vzorcích nádorů odebraných před zahájením platinové chemoterapie bylo provedeno komplexní genomové profilování pomocí NGS panelu zahrnujícího 523 genů asociovaných s nádorovými onemocněními. U části pacientek byly současně analyzovány párové vzorky získané při recidivě onemocnění nebo po neoadjuvantní chemoterapii s cílem zachytit genomovou evoluci nádoru v průběhu léčby.

Práce potvrdila výraznou genomickou heterogenitu high-grade serózního karcinomu a amplifikaci genu *CCNE1* jako alteraci významně častější u primárně platina-rezistentních nádorů. Současně ukázala, že terapeuticky využitelné molekulární alterace klasifikované podle systému ESCAT (ESMO Scale for Clinical Actionability of Molecular Targets) byly přítomny přibližně u poloviny pacientek bez ohledu na citlivost k platinovým derivátům. Vedle alterací genů *BRCA1/2* byly identifikovány také potenciálně cílitelné změny v genech *ERBB2*, *KRAS*, *NF1*, *ATR*, *RAD51C*, *BRIP1* nebo *FANCA*, které by mohly v budoucnu rozšířit možnosti individualizované léčby této skupiny pacientek.

Významnou součástí studie bylo hodnocení párových nádorových vzorků odebraných v různých fázích onemocnění. Analýza prokázala dynamický charakter genomového vývoje high-grade serózního karcinomu a ukázala, že u významné části pacientek dochází během léčby ke změnám molekulárního profilu, které mohou ovlivnit terapeutickou využitelnost identifikovaných biomarkerů. Výsledky studie tak podpořily koncept opakovaného molekulárního hodnocení nádoru v průběhu onemocnění a zdůraznily význam komplexního genomového profilování jako nástroje precizní onkologie v gynekologických malignitách.

Příloha 10: Genomic complexity and evolution of high-grade serous ovarian cancer treated with platinum-based chemotherapy: advancing precision oncology beyond BRCA1/BRCA2

POKORNA, Petra, Jana ORLICKOVA, Tana MACHACKOVA, Jitka HAUSNEROVA, Lucie EHRLICHOVA, Robin JUGAS, Eliska HLOUSKOVA, Alena HOMOLOVA, Sara VILMANOVA, Julia BOHOSOVA, Kamila SOUCKOVA, Marek SVOBODA, Vit WEINBERGER, Ondrej SLABY and **Marketa BEDNARIKOVA** **(corresponding author)**. *Journal Of Ovarian Research* [online]. 2025, 19(1, Article 3). ISSN 1757-2215. Available at: doi:10.1186/s13048-025-01911-z

in 2024 IF = 4,200; median IF REPRODUCTIVE BIOLOGY – 2,400; according to IF REPRODUCTIVE BIOLOGY Q1; according to AIS REPRODUCTIVE BIOLOGY Q2

Typ příspěvku: původní práce.

Vlastní přínos autorky: iniciace a koncepce studie, návrh klinické části projektu, výběr a klinická charakteristika kohorty pacientek, interpretace výsledků komplexního genomového

profilování v kontextu léčby karcinomu ovaria, odborná supervize projektu a role korespondenční autorky rukkopisu.

RESEARCH

Open Access



Genomic complexity and evolution of high-grade serous ovarian cancer treated with platinum-based chemotherapy: advancing precision oncology beyond *BRCA1/BRCA2*

Petra Pokorna^{1,2,3}, Jana Orlickova^{1,4}, Tana Machackova¹, Jitka Hausnerova³, Lucie Ehrlichova⁵, Robin Jugas¹, Eliska Hlouskova¹, Alena Homolova³, Sara Vilmanova³, Julia Bohosova¹, Kamila Souckova¹, Marek Svoboda⁶, Vit Weinberger⁷, Ondrej Slaby^{1,2,3} and Marketa Bednarikova^{5*}

Abstract

Background High-grade serous ovarian carcinoma (HGSOC) remains one of the most lethal gynecologic malignancies due to its aggressive nature, frequent late-stage diagnosis, and the development of treatment resistance. Although platinum-based chemotherapy remains the cornerstone of therapy, the underlying genomic heterogeneity complicates the prediction of treatment response and the development of effective therapies.

Results We performed comprehensive genomic profiling of 523 cancer-associated genes using the TruSight Oncology 500 HT panel in a retrospective cohort of 42 HGSOC patients, including 22 platinum-sensitive (Pt-S) and 20 primary platinum-resistant (Pt-R) cases. In 14 cases, paired tumor samples collected before and after recurrence or neoadjuvant chemotherapy were analyzed to assess the changes in clinically relevant and actionable alterations. Genomic profiling revealed significant heterogeneity in molecular alterations between Pt-S and Pt-R tumors, with *CCNE1* amplification confirmed as more frequent in Pt-R cases. Actionable findings ranked in ESCAT tiers I-III were identified in 54.5% and 55% of Pt-S and Pt-R patients, respectively. A total of 18% and 20% of patients harbored tier III hypothetical targets, highlighting opportunities for future targeted therapies in HGSOC. Analysis of paired samples demonstrated dynamic genomic changes, with 60% of Pt-S and 44% of Pt-R patients exhibiting shifts that could affect therapeutic actionability.

Conclusions Our findings highlight the importance of comprehensive genomic profiling in HGSOC management. While platinum-based chemotherapy remains central to treating newly diagnosed and recurrent disease, its molecular complexity might require more personalized strategies. Beyond established markers such as *BRCA1/2*, additional genomic changes present opportunities to expand therapeutic options. The evolving tumor genomic

*Correspondence:
Marketa Bednarikova
bednarikova.marketa@fnbrno.cz

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2025. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License, which permits any non-commercial use, sharing, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if you modified the licensed material. You do not have permission under this licence to share adapted material derived from this article or parts of it. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>.

landscape further underscores the need for repeated biopsies or alternative methods to assess tumor evolution, enabling more adaptive and individualized treatment approaches.

Keywords Ovarian cancer, High-grade serous ovarian carcinoma, Comprehensive genomic profiling, Targeted treatment

Background

Ovarian cancer remains one of the most lethal gynecologic malignancies, responsible for a significant proportion of cancer-related deaths in women globally [1]. Among its various histological subtypes, high-grade serous ovarian cancer (HGSOC) is the most prevalent, accounting for approximately 70% of all ovarian cancer cases [2]. The clinical management of HGSOC presents considerable challenges, primarily because the majority of patients are diagnosed at an advanced stage, often involving extensive peritoneal spread, which complicates treatment. Standard care includes cytoreductive surgery followed by platinum-based chemotherapy, to which initial responses are typically favorable. However, despite these high response rates, the majority of patients eventually relapse, developing resistance to platinum-based therapies [3]. This acquired resistance, coupled with the inherent aggressive nature of the disease, contributes to the poor long-term prognosis associated with HGSOC.

HGSOC exhibits significant molecular heterogeneity, which plays a fundamental role in both its clinical presentation and response to therapy. The genomic landscape of HGSOC is characterized by the near-universal presence of *TP53* mutations found in over 96% of cases and the frequent occurrence of homologous recombination deficiency (HRD) present in approximately 50% of HGSOC [4]. HRD is predominantly driven by alterations in *BRCA1* and *BRCA2* genes, which render tumor cells more susceptible to DNA-damaging agents like platinum compounds and PARP inhibitors [5]. In addition to *TP53* and *BRCA1/2*, the molecular profile of HGSOC is further characterized by a variety of genomic and transcriptomic alterations, including those involving cell cycle regulators and signaling pathways such as Ras/MAPK and PI3K/Akt/mTOR [6–8]. These alterations contribute to the tumor's phenotypic diversity, treatment resistance, and clinical outcomes [7].

Given this molecular complexity, there is a growing need to deepen our understanding of how the key drivers of HGSOC influence treatment response and resistance. This knowledge is also critical to refining personalized therapeutic strategies that can improve both long-term survival and quality of life for affected women [9]. In this study, we present the results of comprehensive DNA sequencing of 523 cancer-associated genes in a retrospective cohort of Czech patients with HGSOC. Our analysis focuses on characterizing the genomic heterogeneity between platinum-sensitive and primary

platinum-resistant tumors, with an emphasis on the therapeutic implications of identified alterations, as well as analyzing changes in clinically actionable alterations in a subset of paired samples collected before and after recurrence or neoadjuvant chemotherapy.

Methods

Patient cohort

The patient cohort presented in this study consists of 52 patients diagnosed with HGSOC at the Department of Obstetrics and Gynecology of University Hospital Brno between 2010 and 2021. The median age at diagnosis was 66 years in the whole cohort. Applying the 6-month platinum-free interval cut-off, the patients were classified as either platinum-sensitive or platinum-resistant, with 26 patients in each respective group. The clinicopathological characteristics of the two groups are detailed in Table 1. In five platinum-sensitive and nine platinum-resistant patients, follow-up samples obtained at recurrence or after neoadjuvant chemotherapy (NACHT) were collected as well.

DNA sequencing

DNA was extracted from formalin-fixed paraffin-embedded tissue using the QIAmp FFPE Tissue Kit (Qiagen) and repaired using NEBNext FFPE DNA Repair Mix (New England Biolabs). Sequencing libraries were prepared using the TruSight Oncology 500 HT panel (Illumina) as per the manufacturer's instructions. Sequencing libraries were loaded onto NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (300 cycles) and sequenced on the NovaSeq 6000 platform (Illumina) with read lengths of 2×151 bp. Sequencing data were processed through the Velsera software, which enabled variant calling of single-nucleotide variants (SNVs), insertions or deletions (InDels) in 523 cancer-associated genes, copy number aberration (CNAs) calling of 59 genes, tumor mutational burden (TMB) calculation, and microsatellite instability (MSI) status assessment.

Data evaluation

Variants in 523 cancer-associated genes covered by the panel were filtered using a VAF cut-off above 5%. Given the somatic-only sequencing setup, variants with a minor allele frequency above 1%, as per the gnomAD database, were also excluded. The clinical significance of SNVs and InDels was assessed using publicly available databases, including OncoKB, Jackson's Laboratory Clinical

Table 1 Clinicopathological characteristics of platinum-sensitive and platinum-resistant HGSOc patients

	Platinum-sensitive	Platinum-resistant
Number of patients	26	26
Median age (range)	65 (36–86)	66 (52–82)
FIGO stage (2013)		
Early stage (I + II)	1	0
Advanced stage (III + IV)	25	26
Hereditary predisposition		
<i>BRCA1</i>	4	0
<i>BRCA2</i>	1	2
<i>RAD51C</i>	1	0
Negative	10	7
Not tested	10	17
Median initial CA125 (range)	679.9 (19.9–25,000.0)	926.0 (58.7–5,773.0)
NACHT		
Yes	8	15
No	18	11
Type of surgery		
R0 cytoreduction	14	12
R + residuum	7	4
No cytoreduction	5	10
Recurrence		
Yes	19	26
No	7	0
Median PFS in recurrent cases in days (range)	518 (169–1801)	56 (2–171)
Number of paired samples	5	9
Type of paired samples		
After NACHT	3	8
After recurrence	2	1

PFS – progression-free survival, R0 cytoreduction – complete macroscopic tumor resection, R + residuum – macroscopic residual tumor left after surgery

Knowledgebase, ClinVar, and others. Variants noted in clinical databases or literature, as well as unknown truncating variants leading to loss of tumor suppressor function, were deemed clinically significant. For tumor suppressor genes, unknown missense variants occurring simultaneously with a clearly inactivating variant, suggesting a possible second hit mechanism, were also considered potentially significant. Significant CNAs included amplifications of oncogenes (defined as five or more copies of the respective gene), biallelic deletions of tumor suppressors, or single copy losses accompanied by a second inactivating mutation in the same gene. Tumors were classified as TMB-high if they had 10 or more mutations per megabase. MSI-high status was assigned to samples upon exceeding a 20% unstable loci cut-off. For actionability assessment, alterations were classified according to the ESMO scale for clinical actionability of molecular targets (ESCAT) [10].

Results

Out of 52 patients, 10 patients were subsequently excluded from the cohort due to low sample quality, resulting in a subset of 22 platinum-sensitive (Pt-S) and 20 platinum-resistant cases (Pt-R). Detailed clinicopathological characteristics and treatment history of these patients are described in Supplementary Table 1. A summary of clinically relevant genomic findings is depicted in Fig. 1 (for details, see Supplementary Table 2). Alterations with known or potential clinical significance were found in 41 patients. Consistent with previous reports, *TP53* represented the most commonly altered gene with 95% prevalence among patients with clinically relevant findings, followed by *BRCA1/2* alterations collectively present in 37% of tumors. Among patients with *BRCA1/2* alterations, six carried germline (4 Pt-S and 2 Pt-R) and four carried somatic (2 Pt-S and 2 Pt-R) alterations. Germline status was unavailable for five patients, as routine testing had not yet been fully implemented at the time of diagnosis.

Overall, we observed a large heterogeneity of molecular findings irrespective of the platinum response. While most genes were altered in only one or two patients, seven genes, including *TP53*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CCNE1*, *MYC*, *AKT2*, and *KRAS*, were recurrently altered in three or more patients. This limited the feasibility of comparing individual genes between Pt-S and Pt-R subgroups. To address this, we grouped gene alterations into broader molecular pathways or cellular processes. The following gene sets were defined: HRR genes (*ATR*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIPI1*, *RAD51C*), cell cycle regulation (*CCND1*, *CCNE1*, *CDK4*, *CDKN2B*, *MYC*, *MYCL*, *MYCN*, *RBI1*), kinase signaling (*ERBB2*, *ERBB3*, *FGF23*, *FGF3*, *FGF6*, *FGFR1*, *FGFR2*, *NRG1*), Ras/MAPK pathway (*BRAF*, *KRAS*, *NF1*, *NRAS*), and PI3K/Akt/mTOR pathway (*AKT2*, *PIK3CA*, *MTOR*). A comparison of clinically relevant alterations between Pt-S and Pt-R tumors using Fisher's exact test revealed no statistically significant differences overall (see Supplementary Figs. 1A–E). However, on the level of individual genes, *CCNE1* amplification, defined as the absolute copy number of 5 or more copies, showed a statistically significant difference, being more frequent in Pt-R patients (6 Pt-R vs. 1 Pt-S, see Supplementary Fig. 1F). By increasing the threshold to 8 or more copies, *CCNE1*-amplified tumors would be restricted only to the Pt-R cohort. Additionally, selected alterations were observed exclusively in subsets of patients within each subgroup. Specifically, two patients from the Pt-R subgroup harbored an *ERBB2* activating variant co-occurring with *ERBB2* amplification. Additionally, two Pt-R patients had *MDM2* amplifications, which were not found among Pt-S tumors. Meanwhile, *FGFR1/2* amplifications were detected in three Pt-S patients but were absent in Pt-R patients.

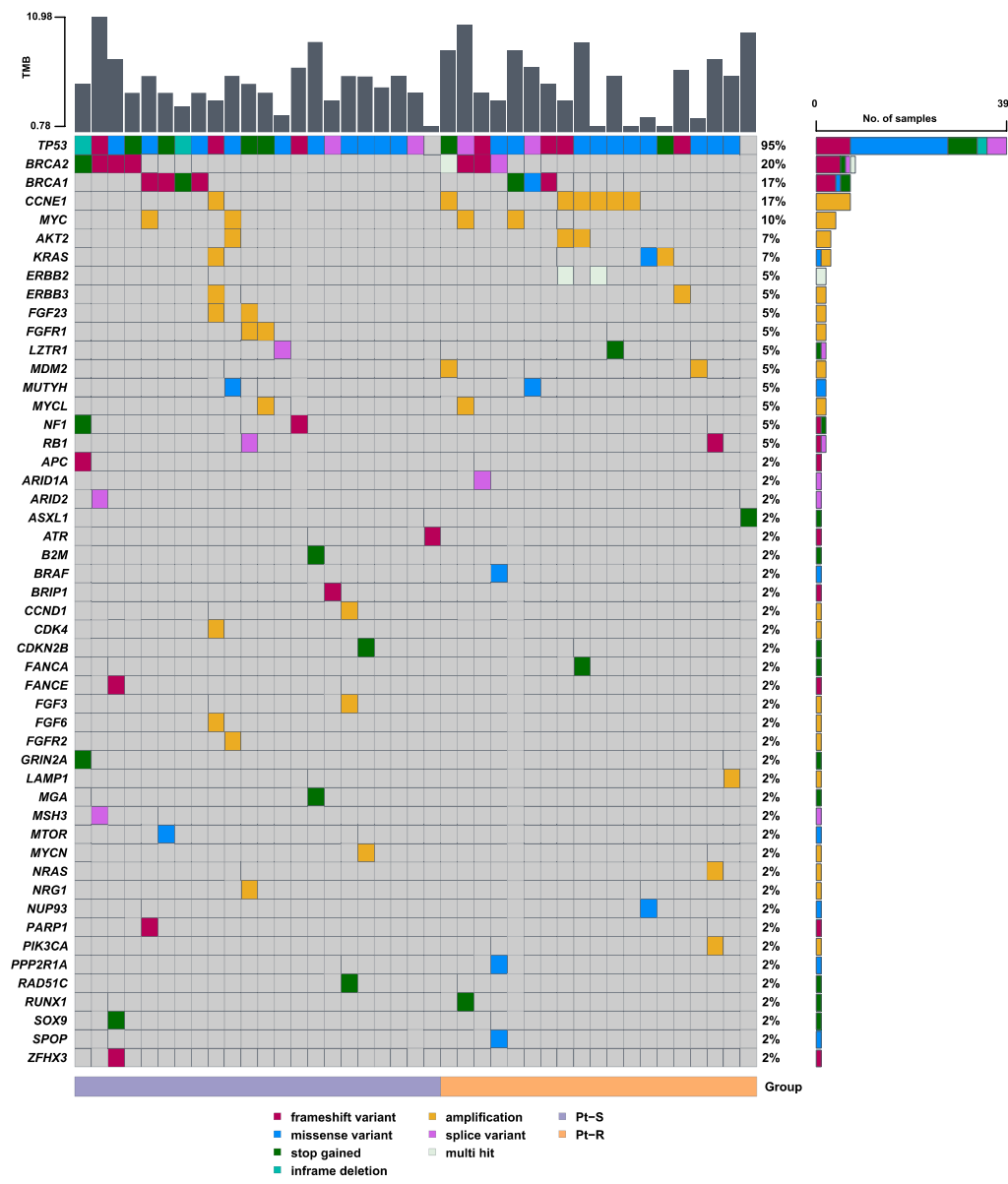


Fig. 1 OncoPrint summarizing genomic findings of the Pt-S and Pt-R groups

The TMB across the entire cohort, regardless of platinum response status, was 4.6 mutations per megabase (mut/Mb), with a range of 0.78 to 10.98 mut/Mb (see Supplementary Table 3). For the individual subgroups, the median TMB was 4.2 mut/Mb for Pt-S patients (range 0.78–10.98 mut/Mb) and 5.1 mut/Mb for Pt-R

patients (range 0.79–10.25 mut/Mb). All tumors were classified as microsatellite stable.

The molecular findings were assessed for their potential impact on subsequent therapeutic decisions. In 12 out of 22 Pt-S patients (54.5%) and 11 out of 20 Pt-R patients (55%), actionable alterations ranked within

ESCAT tiers I–III were identified (see Table 2 and Supplementary Table 4). Tier I alterations, including *BRCA1/2* variants (ESCAT IA) and high TMB (ESCAT IC), were found in 8 (36%) and 7 (35%) patients, respectively. In 3 Pt–S patients and 2 Pt–R patients, the tier IA findings were accompanied by additional lower-tier alterations. The remaining 4 (18%) Pt–S patients and 4 (20%) Pt–R patients exhibited tier III alterations, such as variants in other DNA repair genes (*ATR*, *BRIP1*, *RAD51C*, *FANCA*), members of the Ras/MAPK pathway (*KRAS*, *NF1*), and *ERBB2*.

Next, we compared paired biopsy samples in 5 Pt–S and 9 Pt–R patients. Among the Pt–S patients, three samples were collected post-NACHT, while two were obtained after recurrence. Samples were also collected post-NACHT for all but one Pt–R patient. The paired samples were evaluated for changes in SNVs and InDels, CNAs, and TMB, focusing on the specific alterations within each category to identify potential patterns or differences between the Pt–S and Pt–R subgroups. Then, we assessed all changes collectively, focusing on the changes

affecting the spectrum of clinically relevant alterations as defined in the Methodology section. A particular emphasis was placed on assessing how the changes influenced therapeutic actionability (ESCAT tiers I–III).

SNVs and InDels were assessed qualitatively, comparing only a pre-filtered set of variants (variants showing > 5% VAF and < 1% MAF, see Supplementary Table 5). For each sample pair, the proportion of variants detected in the second biopsy that were also present in the initial biopsy was calculated. Using this approach, 13 out of 14 patients demonstrated a high degree of overlap (78–100%), while the one remaining patient from the Pt–S cohort showed only a 26% overlap (see Fig. 2A). Notably, 64% of patients ($n=9$) showed a decrease in TMB (median −3.14 mut/Mb, range −0.80 to −9.46 mut/Mb), while 21% ($n=3$) exhibited an increase (median +2.78 mut/Mb, range +0.41 to +9.11 mut/Mb). The TMB remained unchanged in the remaining patients (see Fig. 2B, C, and Supplementary Table 6). The spectrum of CNAs showed variability across all tested patients, with changes observed in both the specific altered genes and the copy number levels (see Fig. 2D and Supplementary Table 7). These changes ranged from moderate shifts, such as transitions between 3 and 4 copies, to more significant alterations resulting in new amplifications. However, no consistent or universally detected patterns emerged when comparing CNAs between the Pt–S and Pt–R cohorts.

When translating these findings into changes in clinically relevant or actionable alterations, 40% of Pt–S patients ($n=2$) showed no changes in the spectrum of both clinically relevant and actionable alterations between biopsies (see Fig. 3A and Supplementary Table 8). In the remaining 60% ($n=3$), changes potentially impacting therapeutic actionability were observed. In one case, TMB increased above the 10 mut/Mb threshold compared to the initial biopsy, which already harbored an actionable *BRCA1* variant. Another case revealed a *PTEN* deletion, previously detected as a single-copy loss, presenting a new therapeutic target in addition to an ESCAT IIIB classified inactivating *RAD51C* variant present in both samples. In the third case, an *NF1* inactivating variant present in the initial biopsy was no longer detected in the paired sample.

In the Pt–R subgroup, the results were more heterogeneous (see Fig. 3B and Supplementary Table 8), and an impact on actionability was collectively seen in 44% of cases ($n=4$). In three patients, clinically relevant changes were observed, such as alterations in the copy number status of selected oncogenes. Specifically, genes that were amplified in the initial biopsy showed reduced copy numbers in the subsequent biopsy or vice versa. In one of these patients, the changes affected *CCNE1*, leading to a reduction in absolute copy numbers to below 5; however,

Table 2 The list of predictive biomarkers identified in the cohort, grouped by their ESCAT tier classification

ESCAT tier	Biomarker	Alteration type	Treatment	Number of patients
IA	<i>BRCA1</i>	Frameshift variant	PARP inhibitors	4
		Nonsense variant		2
		Missense variant		1
IA	<i>BRCA2</i>	Frameshift variant	PARP inhibitors	5
		Nonsense variant		2
		Splicing variant		1
IC	TMB	TMB-High	Anti-PD-1	2*
IIIA	<i>ERBB2</i>	Amplification + missense variant	Anti-HER2/HER2 inhibitors	2
IIIA	<i>NF1</i>	Frameshift variant	MEK inhibitors	1
		Nonsense variant		1*
IIIB	<i>ATR</i>	Frameshift variant	PARP inhibitors	1
IIIB	<i>BRAF</i>	Missense variant	MEK inhibitors	1*
IIIB	<i>BRIP1</i>	Frameshift variant	PARP inhibitors	1
IIIB	<i>FANCA</i>	Nonsense variant	PARP inhibitors	1
IIIB	<i>KRAS</i>	Missense variant	MEK inhibitors	1
IIIB	<i>MTOR</i>	Missense variant	mTOR inhibitors	1*
IIIB	<i>RAD51C</i>	Nonsense variant	PARP inhibitors	1

For each biomarker, the associated alteration type and the number of patients in which the alteration was detected are provided for each biomarker. The asterisk indicates that the alteration was found co-occurring with a tier IA *BRCA1/2* alteration

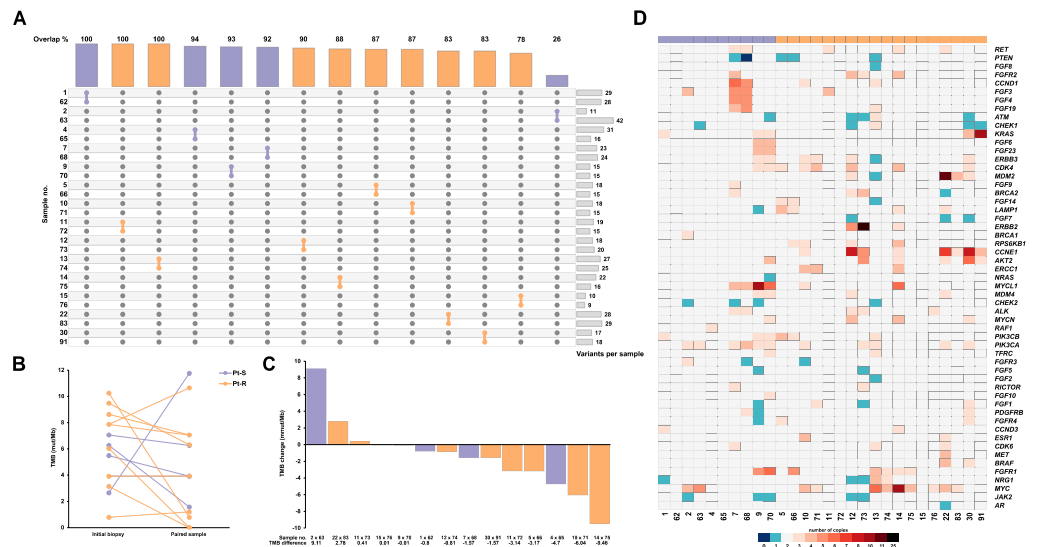


Fig. 2 **A** Overlap of pre-filtered SNVs and InDels (> 5% VAF, < 1% MAF as per the gnomAD database) between initial and paired tumor biopsies across Pt-S (marked in purple) and Pt-R (marked in orange) groups. Horizontal bars represent the total number of filtered variants per sample. Vertical bars indicate the proportion of retained variants from the baseline. **B** Dot plot illustrating changes in tumor mutational burden (TMB) between initial and paired samples. **C** Waterfall plot showing the individual change in TMB (Δ TMB) per patient. **D** Heatmap depicting CNAs in a set of 55 evaluable cancer-associated genes, with color scale indicating copy number status

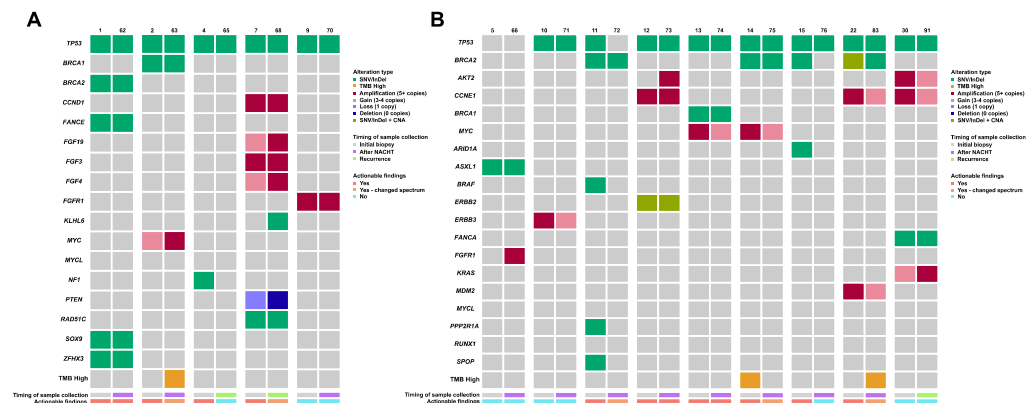


Fig. 3 Comparison of clinically relevant findings in initial and post-NACHT/recurrence samples in the Pt-S (**A**) and Pt-R (**B**) groups

the copy numbers remained elevated compared to normal levels. In one patient, the change in copy number status was accompanied by an increase in TMB above the 10 mut/Mb threshold. In two patients, new oncogene amplifications were detected in the subsequent biopsy despite the absence of CNAs at the corresponding chromosomal loci in the initial biopsy. Additionally, three Pt-R patients exhibited fewer clinically relevant alterations in subsequent biopsies, all of which led to the loss of recognized or hypothetical predictive biomarkers. In the first case,

the loss of a somatic *BRCA2* alteration would potentially impact the eligibility for PARP inhibitor therapy. Another case showed a decrease in TMB, which had initially exceeded the 10 mut/Mb threshold in the first biopsy. The third case involved the loss of an activating *BRAF* variant. However, both the second and third cases retained a *BRCA2* alteration that held higher priority for therapeutic interventions.

Discussion

Platinum-based chemotherapy remains a cornerstone of ovarian cancer management, serving as a primary treatment modality for both initial systemic therapy and subsequent lines if there is a probability of success for re-challenge based on the time interval to progression. Despite its widespread use and efficacy, patients exhibit a wide spectrum of responses, ranging from platinum-sensitive, partially sensitive, and resistant to refractory [11]. This variability underscores the need for reliable predictors of platinum response, which could identify patients likely to benefit from platinum-based regimens and those who may require alternative approaches.

Several studies attempted to characterize the differences in the genomic landscape of Pt-S and Pt-R tumors, resulting in a complex picture of genetic heterogeneity with some recurrent findings. For instance, *CCNE1* amplification has been consistently associated with platinum resistance, overall poor prognosis, and short progression-free survival [12, 13]. In line with these observations, we found a higher prevalence of *CCNE1* amplification within the Pt-R cohort; however, one case in the Pt-S group also exhibited this alteration. The threshold for *CCNE1* amplification in ovarian cancer generally varies by the detection method used. For the purpose of this manuscript, the absolute copy number of 5 or more copies was used as a uniform threshold for defining amplification irrespective of the target gene. Previous studies specifically applied higher cut-off values of 6 to 8 copies for the *CCNE1* gene [14, 15]. In our cohort, applying such a higher threshold strengthened the association of *CCNE1* amplification with primary platinum resistance. Nevertheless, despite being predominantly associated with a poor response to treatment, *CCNE1* amplification is occasionally observed in long-term survivors [16]. This might suggest that the effect of *CCNE1* amplification is more pronounced in specific genetic contexts or subtypes rather than universally across all ovarian cancers or indicate complex interactions in its role in chemotherapy resistance.

Similarly, variants in genes involved in homologous recombination repair, such as *BRCA1/2*, can influence sensitivity, as they impair the ability of tumor cells to repair platinum-induced DNA damage effectively. Although some studies reported an increased prevalence of *BRCA1/2* variants in the Pt-S subgroup [17] or explicitly observed the presence of *BRCA2* variants in good responders to platinum chemotherapy [7], we showed a comparable frequency of *BRCA1/2* variants in both subgroups. To explore whether germline status provided additional explanatory value, we reviewed the availability of genetic testing data for patients with somatic *BRCA1/2* variants. Among patients in whom the germline testing was performed, the observed distribution did not suggest

any clear association between germline status and platinum sensitivity in our cohort.

Despite extensive research, no single genomic predictor has been universally validated as a robust marker of platinum resistance, and the heterogeneity seen within the high-grade serous subtype complicates efforts to define a unified predictive molecular profile. The underlying drivers of treatment response appear to be multifaceted, encompassing genomic, epigenetic, and microenvironmental factors that influence tumor behavior [7, 16]. Our study focused exclusively on genomic alterations in the most recognized cancer-associated genes, which may limit the comprehensiveness of our findings. While we acknowledge that incorporating additional perspectives could offer a more thorough understanding of treatment response, we still believe that our targeted approach provides a strong foundation for identifying key molecular drivers that have the potential to become immediately actionable in clinical settings. Given the complexity and heterogeneity of HGSOC, it becomes clear that a singular focus on predicting platinum resistance may not fully capture the full scope of factors necessary for effective treatment. Therefore, shifting our perspective toward precision oncology, the emphasis moves from solely identifying predictors of resistance to leveraging genomic alterations for individualized therapeutic planning.

While *BRCA1/2* alterations remain the primary focus for targeted treatment due to their established role in predicting response to PARP inhibitors, we identified several actionable alterations apart from HR or other DNA repair pathways that are already utilized in other cancer contexts and fall within ESCAT tier III. Although found in only a subset of cases, their identification highlights the potential to diversify targeted therapeutic strategies beyond PARP inhibitors and antiangiogenic agents. In three out of seven such cases, the additional targets were co-occurring with *BRCA1/2* variants. The remaining four cases harbored alterations in either the Ras/MAPK pathway or an *ERBB2* gene amplification accompanied by an activating *ERBB2* variant as the sole hypothetical predictive markers.

Ras/MAPK pathway mutations are predominantly associated with low-grade serous ovarian carcinomas, for which targeting this pathway has shown clinical benefit. The Phase II/III GOG 281/LOGS trial demonstrated that the MEK inhibitor trametinib significantly prolonged progression-free survival compared to standard chemotherapy in patients with recurrent disease [18]. In contrast, clinical evidence supporting the efficacy of MEK inhibitors in HGSOC is limited. However, preclinical studies have shown promising results. For instance, MEK inhibitors have exhibited synergistic effects with carboplatin in HGSOC cell lines, suggesting a potential combination approach to enhance chemosensitivity [19].

Similarly, *ERBB2* gene alterations could potentially be targeted by HER2-directed therapies such as trastuzumab or pertuzumab. Case studies have reported durable responses in ovarian cancer patients with *ERBB2* amplifications when treated with HER2 antibodies, indicating a viable therapeutic option for this subset of patients [20, 21]. Further supporting this treatment recommendation, trastuzumab deruxtecan has recently been granted accelerated approval for adult patients with unresectable or metastatic HER2-positive solid tumors who have received prior systemic treatment and who have no satisfactory alternative treatment options, based on the findings of the DESTINY-PanTumor02 trial [22], in which the HER2 positivity was determined using IHC status. While this new approval might justify classifying our findings as ESCAT tier IC, we maintained the originally set classification as ESCAT tier IIA for this manuscript due to the absence of IHC staining data in our analysis.

Moreover, several new treatment options with promising preliminary results from prospective early-phase trials are emerging for more recurrently found alterations, such as *CCNE1* amplification and *TP53* variants. For *CCNE1* amplification, different means of treatment are being explored, such as CDK2 inhibitors [23] and WEE1 kinase inhibitors. Specifically, WEE1 kinase inhibitor adavosertib showed a 36% objective response rate in a recent phase II trial [24]. Among *TP53* variants, specifically the *TP53* p.Tyr220Cys substitution is a promising target for a selective p53 reactivator rezatapopt, which recently demonstrated efficacy in heavily pretreated patients with advanced ovarian cancer harboring this particular mutation [25].

Regardless of the chosen therapeutic strategy, it is important to consider the evolving nature of tumors over time. Our data show that while there's a high degree of overlap between initial and subsequent biopsies in most patients, translating the subtle changes into clinically informative data can significantly impact subsequent therapeutic planning. Considering standard-of-care therapeutics, most strikingly, one patient lost a somatic *BRCA2* mutation, which could impact the effectiveness of PARP inhibitor therapy. The standard approach to ovarian cancer treatment often relies on the initial molecular profile of the tumor to guide therapy in *BRCA1/2* mutated or HRD cases [2]. However, the detection of *BRCA1/2* alterations does not guarantee sustained sensitivity, as resistant clones may emerge due to secondary or reversion mutations that restore *BRCA* function [26]. Beyond alterations in HRR genes, longitudinal changes in broader genomic parameters, such as TMB, further illustrate the dynamic evolution of tumor genomes. Notably, several patients showed a decrease over time, which in one case would have shifted the therapeutic perspective, as the initial TMB exceeded the threshold for potential

immunotherapy consideration, whereas the subsequent biopsy fell below this threshold. All analyzed specimens were reviewed by a pathologist and confirmed to contain at least 20% tumor content, which should generally allow reliable TMB estimation in dominant clones. However, the observed reduction may still partly reflect technical variability, especially the differences in tumor purity.

Beyond *BRCA*-related changes, other genomic alterations, although not immediately actionable within the current standard-of-care framework, offer valuable insights for future precision medicine strategies. For instance, one patient acquired a *PTEN* deletion in the later biopsy, presenting a new therapeutic target that could be exploited with PI3K/Akt/mTOR pathway inhibitors, as seen in other cancer types [27]. Repeated biopsies, therefore, provide a critical opportunity to reassess the tumor's evolving genomic landscape, ensuring that subsequent therapies are optimally aligned with the tumor's current molecular profile. Given the invasive nature of repeated tissue biopsies, however, future advancements may involve the integration of liquid biopsy approaches, such as circulating tumor DNA analysis, to facilitate real-time, non-invasive monitoring of tumor evolution [28].

Conclusion

In summary, our findings highlight the importance of comprehensive genomic profiling for ovarian cancer management. While platinum-based chemotherapy remains integral for treating both newly diagnosed and recurrent disease, the molecular complexity of HGSOC underscores the need for more personalized strategies. Established markers, such as *BRCA1/2* alterations, are critical for guiding targeted therapies using PARP inhibitors, but additional genomic changes also present opportunities to expand therapeutic options for this challenging malignancy. Moreover, the tumor's genomic landscape can evolve significantly over time, emphasizing the value of repeated biopsies or other means of tumor evolution assessment when transitioning from previous lines of treatment.

By applying a comprehensive DNA sequencing approach, this study provides real-world insight into tumor evolution and therapeutic actionability beyond *BRCA1/2* alterations. Nevertheless, the retrospective single-center design, limited cohort size, and lack of complementary multi-omic data represent inherent limitations to our study. In particular, continued integration of multi-omic data will be essential to characterize the biological complexity of HGSOC and guide the development of better-tailored treatment approaches.

Abbreviations

CNA	Copy Number Aberration
ESCAT	ESMO Scale for Clinical Actionability of Molecular Targets
HGSOC	High-grade Serous Ovarian Cancer

HRD	Homologous Recombination Deficiency
InDel	Insertion or Deletion
Mut/Mb	Mutations per megabase
NAOHT	Neoadjuvant Chemotherapy
FFS	Progression-free Survival
R-R	Ratinum-resistant
R-S	Ratinum-sensitive
SNV	Single-nucleotide Variant
TMB	Tumor Mutational Burden
VAF	Variant Allele Frequency

Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s13048-025-01911-z>.

Supplementary Material 1: Tables with additional supporting data referenced in the main manuscript text, including Selected clinicopathological characteristics of the study cohort (Supplementary Table 1), Summary of DNA sequencing results with focus on known or potentially significant alterations (Supplementary Table 2), Results of TMB and MSI assessment (Supplementary Table 3), Summary of potentially targetable alterations ranked with ESCAT tiers I-III (Supplementary Table 4), Comparison of known or potentially significant alterations in paired samples (Supplementary Table 5), Comparison of TMB and MSI assessment results in paired samples (Supplementary Table 6), Comparison of the absolute number of copies of the 59 evaluable genes in paired samples (Supplementary Table 7), Summary of changes in actionable findings ranked with ESCAT tier III in paired samples (Supplementary Table 8).

Supplementary Material 2: Comparison of clinically relevant alterations within predefined gene sets (A-E) and the frequency of CCNE1 amplification (F) between R-S and R-R tumors using Fisher's exact test.

Acknowledgements

We acknowledge the Core Facility Genomics, supported by the NCMG research infrastructure (LM2023067 funded by MERAQ) of CEITEC Masaryk University, for their support in obtaining the scientific data presented in this paper, and the GeneTICA company for their support in secondary data analysis.

Author's contributions

PP: Methodology, Investigation, Data Curation, Visualization, Writing—Original Draft, JO, TM, EH, JB, KS: Methodology, Investigation, JH, LE: Investigation, Resources, R.E: Formal analysis, Visualization, M.S, VW, O.S: Conceptualization, Supervision, Funding Acquisition, M.B: Investigation, Resources, Conceptualization, Supervision. All authors: Writing, Reviewing, and Editing.

Funding

Supported by the Ministry of Health of the Czech Republic, grant no. NU21-03-00306. All rights reserved. Supported by the project National Institute for Cancer Research (Programme EXCELS, ID Project No. LX22NF05102)—Funded by the European Union—Next Generation EU. Supported by the Ministry of Health, Czech Republic—conceptual development of research organization (FNBr, 65269/05).

Data availability

The dataset generated within this study is available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of University Hospital Brno (reference no. 26-100620/EQ).

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Author details

- ¹Department of Biology, Faculty of Medicine and Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno, Czech Republic
- ²Center for Precision Medicine, University Hospital Brno, Brno, Czech Republic
- ³Department of Pathology, Faculty of Medicine, Masaryk University and University Hospital Brno, Brno, Czech Republic
- ⁴Department of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic
- ⁵Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, Faculty of Medicine, Masaryk University and University Hospital Brno, Jihlavská 20, Brno 602 00, Czech Republic
- ⁶Department of Comprehensive Cancer Care, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic
- ⁷Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Masaryk University and University Hospital Brno, Brno, Czech Republic

Received: 18 August 2025 / Accepted: 18 November 2025

Published online: 29 November 2025

References

- Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Segel RL, Sierjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2024;74(3):229–63.
- González-Martín A, Harter P, Leary A, Lorusso D, Miller RE, Pothuri B, et al. Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian cancer: ESMO clinical practice guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2023;34(10):833–48.
- Matsubara UA, Shod AK, Fallowfield L, Howitt BE, Shouli J, Karlan BY. Ovarian cancer. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2(1):16061.
- Bell D, Barcuck A, Birner M, Chien J, Oram DW, Dao F, et al. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. 2011;474(7353):609–15.
- Alsop K, Fereday S, Meldrum C, deFazio A, Emmanuel C, George J, 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):2654–63.
- Yang SYC, Theureux S, Karakasis K, Burnier JV, Bucci JP, Outhier DL, et al. Landscape of genomic alterations in high-grade serous ovarian cancer from exceptional long- and short-term survivors. *Genome Med*. 2018;10(1):81.
- Wibbergs J, Rugh TJ, Marco-Casanova P, Goss GD, Andrews Wright N, Rath P, et al. Tumor genomic, transcriptomic, and immune profiling characterizes differential response to first-line platinum chemotherapy in high grade serous ovarian cancer. *Cancer Med*. 2021;10(9):3045–58.
- Smith P, Bradley T, Cavarero LM, Coronova T, Ennis DP, Mirza HR, et al. The copy number and mutational landscape of recurrent ovarian high-grade serous carcinoma. *Nat Commun*. 2023;14(1):4387.
- Lapke N, Chen CH, Chang TC, Chao A, Lu YJ, Lai CH, et al. Genetic alterations and their therapeutic implications in epithelial ovarian cancer. *BMC Cancer*. 2021;21(1):499.
- Malco J, Chakravarty D, Dienstmann R, Jazdic S, Gonzalez-Perez A, Lopez-Bigas N, et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO scale for clinical actionability of molecular targets (ESCAT). *Ann Oncol*. 2018;29(9):1895–902.
- Wilson MK, Fajade-Lauraine E, Aoki D, Mirza MR, Lorusso D, Oza AM, et al. Fifth ovarian cancer consensus conference of the Gynecologic Cancer Inter-Group: recurrent disease. *Ann Oncol*. 2017;28(4):727–32.
- Hemadmoghadam D, deFazio A, Baroukhir R, Mermel C, George J, Gatz G, et al. Integrated genome-wide DNA copy number and expression analysis identifies distinct mechanisms of primary chemo-resistance in ovarian carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2009;15(4):1417.
- Da Costa AABA, Do Couto LM, Larsen SJ, Ribeiro AF, Secca CE, Petersen AH, et al. Genomic profiling in ovarian cancer retreated with platinum based chemotherapy presented homologous recombination deficiency and copy number imbalances of CCNE1 and RB1 genes. *BMC Cancer*. 2019;19(1):422.
- Aziz D, Hemadmoghadam D, Calkon CE, Au-Yang G, Deng N, Hutchinson R, et al. 19q12 amplified and non-amplified subsets of high grade serous

- ovarian cancer with overexpression of cyclin E1 differ in their molecular drivers and clinical outcomes. *Gynecol Oncol.* 2018;151(2):327–36.
15. Burdett NL, Willis MO, Alsop K, Hunt AL, Pandey A, Hamilton PT, et al. Multiomic analysis of homologous recombination-deficient end-stage high-grade serous ovarian cancer. *Nat Genet.* 2023;55(3):437–50.
 16. Garsed DW, Pandey A, Fereday S, Kennedy CJ, Takahashi K, Alsop K, et al. The genomic and immune landscape of long-term survivors of high-grade serous ovarian cancer. *Nat Genet.* 2022;54(12):1853–64.
 17. Montemorano L, Shultz ZB, Farooque A, Hyun M, Chappell RJ, Hartenbach EM, et al. TP53 mutations and the association with platinum resistance in high grade serous ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2024;186:26–34.
 18. Gershenson DM, Miller A, Brady WE, Paul J, Carty K, Rodgers W, et al. Trametinib versus standard of care in patients with recurrent low-grade serous ovarian cancer (GOG 281/LOGS): an international, randomised, open-label, multicentre, phase 2/3 trial. *Lancet.* 2022;399(10324):541–53.
 19. Nguyen NT, Raetz A, Montoya D, Schilling V, Tong C, Brooks RA, et al. Targeting RAS-ERK pathway alterations with MEK inhibitors to improve chemosensitivity in high grade serous ovarian cancers. *Gynecol Oncol.* 2023;178:69–79.
 20. Thouvenin L, Charrier M, Clement S, Christinat Y, Tille JC, Frigeri M, et al. Ovarian cancer with high-level focal ERBB2 amplification responds to trastuzumab and pertuzumab. *Gynecol Oncol Rep.* 2021;37:100787.
 21. Neil AJ, Muto MG, Kolin DL, Konstantinopoulos PA. Durable remission in a patient with ERBB2-amplified recurrent mucinous ovarian carcinoma treated with Trastuzumab-Carboplatin-Paclitaxel. *Gynecol Oncol Rep.* 2023;1(48):101237.
 22. Meric-Bernstam F, Makker V, Oaknin A, Oh DY, Banerjee S, González-Martín A, et al. Efficacy and safety of Trastuzumab deruxtecan in patients with HER2-expressing solid tumors: primary results from the DESTINY-PanTumor02 phase II trial. *J Clin Oncol.* 2024;42(1):47–58.
 23. Incyclix Bio. A Phase 1&2, Open-Label Study to Evaluate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, and Efficacy of INX-315 in Patients With Advanced Cancer. *clinicaltrials.gov*; 2025 Sep [cited 2025 Nov 10]. Report No.: NCT05735080. Available from: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05735080>.
 24. Fu S, Yao S, Yuan Y, Previs RA, Elias AD, Carvajal RD, et al. Multicenter phase II trial of the WEE1 inhibitor adavosertib in refractory solid tumors harboring CCNE1 amplification. *J Clin Oncol.* 2023;41(9):1725–34.
 25. Schram AM, Lopes G, El-Khoueiry AB, Fontana E, Karasic TB, Kummar S, et al. 691TIP PYNACLE phase II trial of rezatapopt (PC14586) in solid tumors with a TP53 Y220C mutation. *Ann Oncol.* 2024;35:5535–6.
 26. Patch AM, Christie EL, Etemadmoghadam D, Garsed DW, George J, Fereday S, et al. Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer. *Nature.* 2015;521(7553):489–94.
 27. Turner NC, Oliveira M, Howell SJ, Dalenc F, Cortes J, Gomez Moreno HL, et al. Capivasertib in hormone receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med.* 2023;388(22):2058–70.
 28. Zhu JW, Charkhchi P, Akbari MR. Potential clinical utility of liquid biopsies in ovarian cancer. *Mol Cancer.* 2022;21(1):114.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

4 Syntéza výsledků habilitační práce a související vědecké činnosti

Problematicke gynekologických zhoubných nádorů se autorka začala věnovat od svého příchodu do Fakultní nemocnice Brno v roce 2013. V průběhu tohoto období se podařilo vybudovat intenzivní mezioborovou spolupráci klinických onkologů, onkogynekologů a patologů, která se stala základem nejen pro poskytování komplexní péče pacientkám s gynekologickými malignitami, ale také pro rozvoj výzkumných aktivit zaměřených na lepší pochopení biologického chování těchto nádorů a možnosti individualizace jejich léčby.

Platformou pro rozvoj dalších výzkumných aktivit bylo vytvoření Mezioborové pracovní skupiny pro onkogynekologii FN Brno (MPS OG) pod vedením autorky. Mezi první aktivity patřilo zahájení prospektivního sběru a uchovávání biologických vzorků pacientek s gynekologickými nádory, vytvoření databáze pro sběr souvisejících klinických dat a navázání intenzivní spolupráce se vznikajícím Oddělením studijní a projektové podpory Kliniky gynekologie, porodnictví a neonatologie FN Brno. Tyto kroky tvořily základní infrastrukturu pro realizaci dalších výzkumných projektů.

Od počátku byla činnost MPS OG zaměřena jak na iniciaci vlastních projektů zaměřených na studium prognostických a prediktivních markerů u gynekologických nádorů, tak i na navazování užší spolupráce s dalšími tuzemskými i zahraničními výzkumnými skupinami věnujícími se molekulární charakterizaci nádorových onemocnění a možnostem individualizace protinádorové léčby. Publikace zařazené do habilitační práce představují hlavní výstupy této výzkumné linie, na nichž měla autorka zásadní autorský či spoluautorský podíl. Současně dokumentují proměnu gynekologické onkologie od tradiční klinicko-patologické stratifikace k molekulárně orientovanému přístupu založenému na principech precizní onkologie. Součástí habilitační práce je rovněž syntetický a edukační výstup zaměřený na shrnutí současných poznatků a podporu jejich implementace do klinické praxe.

Předložené práce se zaměřují především na karcinom endometria a karcinom ovaria, tedy dvě nejčastější gynekologické malignity, u nichž v posledních letech dochází k zásadním změnám v diagnostice, prognostické stratifikaci i systémové léčbě. První projekty byly zaměřeny spíše na výzkum jednotlivých vybraných prognostických a prediktivních markerů, které by podle dosud známých dat mohly významným způsobem přispět k lepší individualizaci léčby těchto onemocnění. Ať již ve smyslu zlepšení predikce prognózy onemocnění v době diagnózy (tkáňové markery ER, PR, L1CAM, p53 u karcinomu endometria), monitorace efektu léčby (sérové markery DJ1 a L1CAM u karcinomu endometria) nebo predikce odpovědi na systémovou léčbu (SLFN11 a PDL1 u karcinomu ovaria).

Další směřování výzkumné činnosti bylo ovlivněno rychlým rozvojem molekulární onkologie a postupnou implementací principů precizní medicíny do běžné klinické praxe. Zatímco první projekty byly zaměřeny především na studium jednotlivých prognostických a prediktivních markerů, s narůstajícím poznáním biologické heterogenity gynekologických nádorů se pozornost postupně přesunula ke komplexnějšímu molekulárnímu hodnocení nádorových onemocnění.

Tento trend lze dobře ilustrovat na karcinomu endometria, jehož diagnostika a léčba prošly v posledních letech zásadní proměnou v důsledku zavedení molekulární klasifikace. V souladu s mezinárodními i národními doporučeními bylo ve spolupráci s molekulárními biologi a patologi ve FN Brno bezprostředně po publikaci příslušných doporučení rutinní molekulární testování karcinomu endometria implementováno do klinické praxe. Analýza prvních zkušeností je velmi cennou zpětnou vazbou nejen pro naše pracoviště, ale také pro další centra v České republice zabývající se léčbou gynekologických malignit. Současně zdůrazňuje význam systematické syntézy a sdílení nových poznatků jako důležité součásti jejich implementace do klinické praxe a kontinuálního vzdělávání odborné veřejnosti.

Obdobný vývoj lze pozorovat také u karcinomu ovaria. Výzkumné aktivity se postupně posunuly od hodnocení jednotlivých biomarkerů, jako jsou SLFN11 nebo PD-L1, ke komplexnímu genomovému profilování nádorové tkáně a identifikaci terapeuticky využitelných molekulárních alterací. Tento posun od studia jednotlivých markerů ke komplexní molekulární charakterizaci nádoru odráží obecný vývoj současné onkologie směrem k individualizaci léčby založené na biologických vlastnostech konkrétního nádoru.

Významným impulsem pro další rozvoj této oblasti byla úzká spolupráce s Centrem precizní onkologie FN Brno, které se systematicky věnuje implementaci principů precizní medicíny do klinické praxe. Zapojení do aktivit centra umožnilo rozšířit výzkumné projekty o komplexní genomové profilování a využití molekulárního tumor boardu k identifikaci terapeuticky využitelných alterací s potenciálním dopadem na léčebné rozhodování u pacientek s gynekologickými malignitami.

Vedle výsledků prezentovaných v habilitační práci však vznikla v rámci výzkumné platformy MPS OG také řada dalších publikací a mezinárodních spoluprací, které tematicky rozšiřují diskutovanou problematiku a dokládají širší kontext předkládané vědecké činnosti.

V oblasti karcinomu endometria sem patří především projekty a publikační výstupy související s aktivním členstvím autorky v akademické výzkumné skupině ENITEC (European Network of Individual Treatment in Endometrial Cancer), která pod záštitou Evropské onkogynekologické společnosti (European Society of Gynecological Oncology, ESGO) vytváří platformu pro širší spolupráci odborníků věnujících se problematice klinického a translačního výzkumu karcinomu endometria.

Zapojení do aktivit ENITEC umožnilo účast na mezinárodních projektech zaměřených na implementaci molekulární klasifikace karcinomu endometria do klinické praxe, vývoj prognostických modelů kombinujících klinické, patologické a molekulární charakteristiky nádoru a individualizaci chirurgické i adjuvantní léčby. Výsledkem této spolupráce byla účast na několika mezinárodních publikacích věnovaných mimo jiné validaci molekulárně založených predikčních modelů, hodnocení klinického významu jednotlivých molekulárních podskupin karcinomu endometria a možnostem jejich využití při terapeutickém rozhodování. Tyto aktivity tematicky rozšiřují problematiku diskutovanou v habilitační práci a dokumentují širší mezinárodní kontext současného výzkumu karcinomu endometria. Současně potvrzují trend postupného přechodu od tradiční rizikové stratifikace založené převážně na klinicko-patologických charakteristikách k individualizovanému přístupu využívajícímu molekulární charakterizaci nádoru jako součást běžného klinického rozhodování.

Problematika karcinomu ovaria je současně rozvíjena ve spolupráci s výzkumnou skupinou Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity, zaměřující se na studium maligního ascitu jako unikátní součásti nádorového mikroprostředí karcinomu ovaria. Dosud publikované práce byly věnovány charakterizaci buněčných a nebuněčných komponent ascitu, jejich vzájemné interakci a vlivu na progresi nádoru a vznik chemorezistence. Přestože tyto práce nebyly přímo zaměřeny na hodnocení jednotlivých prognostických a prediktivních markerů, představují důležitý doplněk k výzkumným aktivitám prezentovaným v habilitační práci. Poskytují totiž širší biologický kontext pro interpretaci nádorové heterogenity, mechanismů léčebné rezistence a interakcí mezi nádorovou buňkou a jejím mikroprostředím, které se promítají i do výsledků studií zaměřených na molekulární markery a precizní onkologii.

Hlubší poznání biologie nádorů a jejich molekulární podstaty se v posledních letech promítá také do zásadních změn v systémové léčbě gynekologických malignit. Jak u karcinomu endometria, tak i u karcinomu ovaria jsou do klinické praxe postupně zaváděna nová léčiva zaměřená na specifické biologické mechanismy a molekulární alterace identifikované prostřednictvím profilování nádorů. Inhibitory PARP, antiangiogenní léčba, inhibitory imunitních kontrolních bodů i nově zaváděné konjugáty protilátka–léčivo významně rozšířily terapeutické možnosti a přispěly ke zlepšení léčebných výsledků patientek s gynekologickými nádory.

Výzkumné aktivity autorky se proto postupně rozšířily také směrem k hodnocení klinické implementace těchto nových léčebných přístupů. Vedle analýzy vlastních zkušeností se systémovou léčbou druhé a vyšších linií karcinomu endometria se autorka dlouhodobě podílí na realizaci klinických studií hodnotících nové léčebné strategie u gynekologických malignit. Některé z těchto studií přispěly k zavedení nových standardů léčby a představují významný krok směrem k individualizované terapii založené na biologických charakteristikách nádoru. Součástí těchto aktivit je rovněž zapojení do odborné pracovní skupiny zaměřené na tvorbu a aktualizaci národních doporučení pro systémovou léčbu gynekologických malignit. Tato činnost představuje přirozené propojení výzkumných aktivit s každodenní klinickou praxí a umožňuje přenos nových vědeckých poznatků do diagnosticko-léčebné péče o pacientky.

5 Závěr

Výzkumné aktivity prezentované v habilitační práci byly od počátku vedeny snahou propojit biologické poznatky o gynekologických zhoubných nádorech s klinickou praxí a přispět k individualizaci péče o pacientky s těmito onemocněními. Předložené práce dokumentují vývoj současné gynekologické onkologie od hodnocení jednotlivých prognostických a prediktivních markerů k integraci molekulárních charakteristik nádoru do diagnostického a léčebného rozhodování.

Přestože řada diskutovaných biomarkerů dosud nedosáhla rutinního klinického využití, jejich studium přispělo k hlubšímu pochopení biologické heterogenity nádorů, mechanismů léčebné odpovědi a vzniku rezistence k protinádorové léčbě. Současně ukázalo význam mezioborové spolupráce a nutnost propojení klinického výzkumu s moderními metodami molekulární diagnostiky.

Výzkumné aktivity autorky se postupně rozvinuly z jednotlivých projektů do dlouhodobě fungující sítě spoluprací na národní i mezinárodní úrovni, která dále generuje nové výzkumné otázky, grantové projekty i publikační výstupy. Současný rozvoj molekulární diagnostiky, genomového profilování a principů precizní onkologie vytváří předpoklady pro další využití těchto poznatků v každodenní klinické praxi s cílem zlepšit prognózu, kvalitu života a léčebné výsledky žen s gynekologickými zhoubnými nádory.

Možnost podílet se na tomto vývoji a přenášet nové poznatky do péče o pacientky představuje pro autorku hlavní motivaci k další odborné a vědecké činnosti.

Seznam zkratek

Zkratka	Význam
BRCA	Gen rakoviny prsu (Breast Cancer Gene)
CA125	Nádorový antigen (Cancer Antigen) 125
CHT	Chemoterapie
CPS	Kombinované pozitivní skóre (Combined Positive Score)
DJ1	Onkoprotein známý též jako protein 7 asociovaný s Parkinsonovou chorobou (Parkinsonism Associated Deglycase PARK7)
EIN	Endometroidní intraepiteliální neoplazie (Endometrioid Intraepithelial Neoplasia)
ENITEC	European Network of Individual Treatment in Endometrial Cancer
ER	Estrogenové receptory
ESCAT	ESMO Scale for Clinical Actionability of Molecular Targets
ESGO	European Society of Gynecological Oncology
FIGO	Mezinárodní federace gynekologie a porodnictví (International Federation of Gynecology and Obstetrics)
FRα	Folátový receptor alfa
HAK	Hormonální antikoncepce
HE4	Lidský epididymální protein 4 (Human Epididymis Protein 4)
HER2	Receptor 2 pro epidermální růstový faktor (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2)
HGSC	High-grade serózní karcinom (High-Grade Serous Carcinoma)
HPV	Lidský papilomavirus (Human Papillomavirus)
HRD	Deficit homologní rekombinace (Homologous Recombination Deficiency)
IHC	Imunohistochemie (Immunohistochemistry)
ISH	In situ hybridizace (In Situ Hybridization)
L1CAM	Molekula buněčné adheze L1 (L1 Cell Adhesion Molecule)
LVSI	Lymfovaskulární invaze (Lymphovascular Space Invasion)
MMR	Mechanismus oprav chybného párování bazí DNA (DNA Mismatch Repair System)
MMRd	Mismatch repair deficientní (Mismatch Repair Deficient)
MPS OG	Mezioborová pracovní skupina pro onkogynekologii
MSI-H	Vysoká míra mikrosatelitní instability (Microsatellite Instability-High)

NGS	Sekvenování nové generace (Next-Generation Sequencing)
NSMP	Nespecifický molekulární profil (No Specific Molecular Profile)
OSPP	Oddělení studijní a projektové podpory
PARP	Poly(ADP-ribóza) polymeráza
PD-L1	Ligand receptoru programované buněčné smrti 1 (Programmed Cell Death Ligand 1)
POLE	Gen pro DNA polymerázu epsilon
PR	Progesteronové receptory
R0	Nulové pooperační reziduum
RT	Radioterapie
SCCA	Antigen skvamózního karcinomu (Squamous Cell Carcinoma Antigen)
SIL	Skvamózní intraepiteliální léze (Squamous Intraepithelial Lesion)
SLFN11	Protein Schlafen 11
SMARCA4	Gen SMARCA4 (SWI/SNF-related, Matrix-associated, Actin-dependent Regulator of Chromatin, subfamily A, member 4)
STIC	Serózní tubární intraepiteliální karcinom (Serosus Tubal Intraepithelial Carcinoma)
TFlp	Interval od ukončení platinové chemoterapie do relapsu onemocnění (Platinum Treatment-Free Interval)
TP53	Gen TP53
ZN	Zhoubný nádor

Seznam obrázků

Obr. 1. Incidence a mortalita zhoubných nádorů u žen v České republice podle diagnóz (2023). Data: Národní onkologický registr ČR, Český statistický úřad (korekce dle NOR)...... - 14 -

Obr. 2. Incidence a mortalita gynekologických zhoubných nádorů v kontextu celkové nádorové zátěže žen v České republice (2023). Data: ČSÚ, korekce dle Národního onkologického registru. - 14 -

Obr. 3. Dlouhodobé trendy incidence (A) a mortality (B) gynekologických zhoubných nádorů v České republice v letech 1993–2023 (absolutní počty žen). Data: Národní onkologický registr ČR, Český statistický úřad (korekce dle NOR). - 15 -

Obr. 4. Časový trend prevalence vybraných gynekologických zhoubných nádorů v České republice v období 1990–2023 (absolutní počty žen): A) zhoubné nádory hrdla děložního, B) zhoubné nádory vaječníků, C) zhoubné nádory těla děložního, D) zhoubné nádory zevních rodidel. Data: Národní onkologický registr ČR, Český statistický úřad (korekce dle NOR). - 15 -

Obr. 5. Věková distribuce vybraných gynekologických zhoubných nádorů v době diagnózy u žen v České republice (absolutní počty žen). Data: Národní onkologický registr ČR, Český statistický úřad (korekce dle NOR). - 16 -

Obr. 6. Rozložení klinických stadií v době diagnózy u vybraných gynekologických zhoubných nádorů v České republice (absolutní počty žen). Data: Národní onkologický registr ČR, Český statistický úřad (korekce dle NOR). - 18 -

Obr. 7. Pětileté relativní přežití žen s vybranými gynekologickými zhoubnými nádory v České republice podle stadia v době diagnózy. Data: Národní onkologický registr ČR, Český statistický úřad (korekce dle NOR). - 19 -

Seznam tabulek

Tabulka 1: Přehled vybraných etiologických a rizikových faktorů spojených se vznikem jednotlivých gynekologických zhoubných nádorů. - 17 -

Tabulka 2: Přehled vybraných klinických, patologických a laboratorních prognostických faktorů u gynekologických zhoubných nádorů nad rámec stadia onemocnění..... - 19 -

Tabulka 3: Přehled vybraných molekulárních a biologických prognostických markerů u gynekologických zhoubných nádorů..... - 20 -

Tabulka 4: Přehled prediktivních markerů pro systémovou léčbu gynekologických zhoubných nádorů dostupných v klinické praxi..... - 21 -

Tabulka 5: FIGO 2009 klasifikace pro stanovení klinického stadia u karcinomu endometria používaná před integrací molekulární klasifikace - 26 -

Tabulka 6: Histologické typy karcinomu endometria (upraveno dle WHO Classification of Female Genital Tumours) - 26 -

Tabulka 7: Rozdělení pacientek s karcinomem endometria do rizikových skupin na základě předoperačního stagingu podle evropských doporučení (2015)..... - 27 -

Tabulka 8: Rozdělení pacientek s karcinomem endometria do rizikových skupin na základě definitivního histopatologického vyšetření pro indikaci adjuvantní léčby - 28 -

Tabulka 9: Stratifikace rizika recidivy karcinomu endometria podle doporučení ESGO/ESTRO/ESP 2020 při známé a neznámé molekulární klasifikaci [20]. - 62 -

Tabulka 10: FIGO 2014 klasifikace klinických stadií karcinomu ovaria, tuby a primárního peritoneálního karcinomu [57]..... - 107 -

Tabulka 11: Hlavní molekulární determinanty odpovědi na platinovou chemoterapii u karcinomu ovaria..... - 110 -

Literatura

- [1] DENISA KREJČÍ, JAN MUŽÍK, IVO ŠNÁBL, JAKUB GREGOR KOPTÍKOVÁ, MARTIN KOMENDA, a LADISLAV DUŠEK. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. Portál epidemiologie novotvarů v ČR [online]. [online]. [vid. 2026-02-19]. Dostupné z: <https://www.svod.cz>
- [2] ESMO Clinical Practice Guidelines: Gynaecological Cancers. ESMO Clinical Practice Guidelines: Gynaecological Cancers [online]. [vid. 2026-03-21]. Dostupné z: <https://www.esmo.org/guidelines/esmo-clinical-practice-guidelines-gynaecological-cancers>
- [3] KEHOE, Sean a Neerja BHATLA. FIGO Cancer Report 2021. FIGO Cancer Report 2021 [online]. [vid. 2026-03-21]. Dostupné z: <https://www.figo.org/figo-cancer-report-2021>
- [4] BEREK, Jonathan S., Malte RENZ, Sean KEHOE, Lalit KUMAR a Michael FRIEDLANDER. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum: 2021 update. International Journal of Gynecology & Obstetrics [online]. 2021, 155(S1), 61–85. ISSN 0020-7292, 1879-3479. Dostupné z: [doi:10.1002/ijgo.13878](https://doi.org/10.1002/ijgo.13878)
- [5] KOSKAS, Martin, Frédéric AMANT, Mansoor Raza MIRZA a Carien L. CREUTZBERG. Cancer of the corpus uteri: 2021 update. International Journal of Gynecology & Obstetrics [online]. 2021, 155(S1), 45–60. ISSN 0020-7292, 1879-3479. Dostupné z: [doi:10.1002/ijgo.13866](https://doi.org/10.1002/ijgo.13866)
- [6] BHATLA, Neerja, Daisuke AOKI, Daya Nand SHARMA a Rengaswamy SANKARANARAYANAN. Cancer of the cervix uteri: 2021 update. International Journal of Gynecology & Obstetrics [online]. 2021, 155(S1), 28–44. ISSN 0020-7292, 1879-3479. Dostupné z: [doi:10.1002/ijgo.13865](https://doi.org/10.1002/ijgo.13865)
- [7] ADAMS, Tracey S., Linda J. ROGERS a Mauricio A. CUELLO. Cancer of the vagina: 2021 update. International Journal of Gynecology & Obstetrics [online]. 2021, 155(S1), 19–27. ISSN 0020-7292, 1879-3479. Dostupné z: [doi:10.1002/ijgo.13867](https://doi.org/10.1002/ijgo.13867)
- [8] OLAWAIYE, Alexander B., Mauricio A. CUELLO a Linda J. ROGERS. Cancer of the vulva: 2021 update. International Journal of Gynecology & Obstetrics [online]. 2021, 155(S1), 7–18. ISSN 0020-7292, 1879-3479. Dostupné z: [doi:10.1002/ijgo.13881](https://doi.org/10.1002/ijgo.13881)
- [9] KURMAN, Robert J., INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, a WORLD HEALTH ORGANIZATION, ed. WHO classification of tumours of female reproductive organs. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2014. World Health Organization classification of tumours. ISBN 978-92-832-2435-8.
- [10] CORR, Bradley, Casey COSGROVE, Daniel SPINOSA a Saketh GUNTUPALLI. Endometrial cancer: molecular classification and future treatments. BMJ Medicine [online]. 2022, 1(1), e000152. ISSN 2754-0413. Dostupné z: [doi:10.1136/bmjmed-2022-000152](https://doi.org/10.1136/bmjmed-2022-000152)
- [11] BELL, Sarah, Claire MCKEEVE, Patricia ROXBURGH a C. Simon HERRINGTON. An overview of the molecular pathology of ovarian carcinomas. Diagnostic Histopathology [online]. 2024, 30(9), 477–486. ISSN 17562317. Dostupné z: [doi:10.1016/j.mpdhp.2024.06.001](https://doi.org/10.1016/j.mpdhp.2024.06.001)
- [12] MARTH, C., F. LANDONI, S. MAHNER, M. MCCORMACK, A. GONZALEZ-MARTIN a N. COLOMBO. Cervical cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis,

- treatment and follow-up. *Annals of Oncology* [online]. 2017, 28, iv72–iv83. ISSN 09237534. Dostupné z: doi:10.1093/annonc/mdx220
- [13] CONCIN, Nicole, Xavier MATIAS-GUIU, David CIBULA, Nicoletta COLOMBO, Carien L CREUTZBERG, Jonathan LEDERMANN, Mansoor Raza MIRZA, Ignace VERGOTE, Nadeem R ABU-RUSTUM, Tjalling BOSSE, Cyrus CHARGARI, Sophie ESPENEL, Anna FAGOTTI, Christina FOTOPOULOU, Sonia GATIUS, Antonio GONZÁLEZ-MARTIN, Sigurd LAX, Bar LEVY, Domenica LORUSSO, Gabriella MACCHIA, Christian MARTH, Philippe MORICE, Ana OAKNIN, Maria Rosaria RASPELLINI, Richard SCHWAMEIS, Jalid SEHOULI, Alina STURDZA, Alexandra TAYLOR, Anneke WESTERMANN, Pauline WIMBERGER, François PLANCHAMP a Remi A NOUT. ESGO–ESTRO–ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma: update 2025. *The Lancet Oncology* [online]. 2025, 26(8), e423–e435. ISSN 14702045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(25)00167-6
- [14] LEDERMANN, J. A., X. MATIAS-GUIU, F. AMANT, N. CONCIN, B. DAVIDSON, C. FOTOPOULOU, A. GONZÁLEZ-MARTIN, C. GOURLEY, A. LEARY, D. LORUSSO, S. BANERJEE, L. CHIVA, D. CIBULA, N. COLOMBO, S. CROCE, A. G. ERIKSSON, C. FALANDRY, D. FISCHEROVA, P. HARTE, F. JOLY, C. LAZARO, C. LOK, S. MAHNER, F. MARMÉ, C. MARTH, W. G. MCCLUGGAGE, I. A. MCNEISH, P. MORICE, S. NICUM, A. OAKNIN, J. A. PÉREZ-FIDALGO, S. PIGNATA, P. T. RAMIREZ, I. RAY-COQUARD, I. ROMERO, G. SCAMBIA, J. SEHOULI, R. SHAPIRA-FROMMER, S. SUNDAR, D. S. P. TAN, C. TASKIRAN, W. J. VAN DRIEL, I. VERGOTE, F. PLANCHAMP, C. SESSA a A. FAGOTTI. ESGO–ESMO–ESP consensus conference recommendations on ovarian cancer: pathology and molecular biology and early, advanced and recurrent disease☆. *Annals of Oncology* [online]. 2024, 35(3), 248–266. ISSN 0923-7534. Dostupné z: doi:10.1016/j.annonc.2023.11.015
- [15] VALÍK, D., M. NEKULOVÁ, L. ZDRAŽILOVÁ DUBSKÁ, D. SPRINGER, I. MALBOHAN, T. ZIMA, O. TOPOLČAN, R. FUCHSOVÁ a Š. SVOBODOVÁ. Doporučení k využití nádorových markerů v klinické praxi. *Klinická biochemie a metabolismus*. 2014, 22(1), 22–39.
- [16] BALLMAN, Karla V. Biomarker: Predictive or Prognostic? *Journal of Clinical Oncology* [online]. 2015, 33(33), 3968–3971. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2015.63.3651
- [17] MORICE, Philippe, Alexandra LEARY, Carien CREUTZBERG, Nadeem ABU-RUSTUM a Emile DARAI. Endometrial cancer. *Lancet* [online]. 2016, 387(10023), 1094–1108. ISSN 1474-547X. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(15)00130-0
- [18] CROSBIE, Emma J, Sarah J KITSON, Jessica N MCALPINE, Asima MUKHOPADHYAY, Melanie E POWELL a Naveena SINGH. Endometrial cancer. *The Lancet* [online]. 2022, 399(10333), 1412–1428. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(22)00323-3
- [19] COLOMBO, Nicoletta, Carien CREUTZBERG, Frederic AMANT, Tjalling BOSSE, Antonio GONZÁLEZ-MARTÍN, Jonathan LEDERMANN, Christian MARTH, Remi NOUT, Denis QUERLEU, Mansoor Raza MIRZA a Cristiana SESSA. ESMO–ESGO–ESTRO consensus conference on endometrial cancer: Diagnosis, treatment and follow-up. *Radiotherapy and Oncology* [online]. 2015, 117(3), 559–581. ISSN 01678140. Dostupné z: doi:10.1016/j.radonc.2015.11.013
- [20] CONCIN, Nicole, Xavier MATIAS-GUIU, Ignace VERGOTE, David CIBULA, Mansoor Raza MIRZA, Simone MARNITZ, Jonathan LEDERMANN, Tjalling BOSSE, Cyrus CHARGARI, Anna FAGOTTI, Christina FOTOPOULOU, Antonio GONZALEZ MARTIN, Sigurd LAX, Domenica LORUSSO, Christian MARTH, Philippe MORICE, Remi A

- NOUT, Dearbhaile O'DONNELL, Denis QUERLEU, Maria Rosaria RASPELLINI, Jalid SEHOULI, Alina STURDZA, Alexandra TAYLOR, Anneke WESTERMANN, Pauline WIMBERGER, Nicoletta COLOMBO, François PLANCHAMP a Carien L CREUTZBERG. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *International Journal of Gynecologic Cancer* [online]. 2020, ijgc-2020-002230. ISSN 1048-891X, 1525-1438. Dostupné z: doi:10.1136/ijgc-2020-002230
- [21] Modrá kniha České onkologické společnosti [online]. 2026 [vid. 2026-04-29]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/personalizovana-onkologie/modra-kniha-cos/aktualni-vydani-modre-knihy/>
- [22] CREASMAN, William. Revised FIGO staging for carcinoma of the endometrium. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* [online]. 2009, 105(2), 109–109. ISSN 0020-7292, 1879-3479. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijgo.2009.02.010
- [23] SALVESEN, Helga B, Ingfrid S HALDORSEN a Jone TROVIK. Markers for individualised therapy in endometrial carcinoma. *The Lancet Oncology* [online]. 2012, 13(8), e353–e361. ISSN 14702045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(12)70213-9
- [24] DEDES, Konstantin J., Daniel WETTERSKOG, Alan ASHWORTH, Stan B. KAYE a Jorge S. REIS-FILHO. Emerging therapeutic targets in endometrial cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology* [online]. 2011, 8(5), 261–271. ISSN 1759-4774, 1759-4782. Dostupné z: doi:10.1038/nrclinonc.2010.216
- [25] LEVINE, Arnold J., Jamil MOMAND a Cathy A. FINLAY. The p53 tumour suppressor gene. *Nature* [online]. 1991, 351(6326), 453–456. ISSN 0028-0836, 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/351453a0
- [26] KUERBITZ, S J, B S PLUNKETT, W V WALSH a M B KASTAN. Wild-type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1992, 89(16), 7491–7495. ISSN 0027-8424, 1091-6490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.89.16.7491
- [27] SOONG, R, S KNOWLES, Ke WILLIAMS, Ig HAMMOND, Sj WY SOCKI a Bj IACOPETTA. Overexpression of p53 protein is an independent prognostic indicator in human endometrial carcinoma. *British Journal of Cancer* [online]. 1996, 74(4), 562–567. ISSN 0007-0920, 1532-1827. Dostupné z: doi:10.1038/bjc.1996.401
- [28] ENGELSEN, Ingeborg B., Ingunn STEFANSSON, Lars A. AKSLEN a Helga B. SALVESEN. Pathologic expression of p53 or p16 in preoperative curettage specimens identifies high-risk endometrial carcinomas. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. 2006, 195(4), 979–986. ISSN 0002-9378. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajog.2006.02.045
- [29] MAKKER, Annu a Madhu Mati GOEL. Tumor progression, metastasis, and modulators of epithelial-mesenchymal transition in endometrioid endometrial carcinoma: an update. *Endocrine-Related Cancer* [online]. 2016, 23(2), R85–R111. ISSN 1479-6821. Dostupné z: doi:10.1530/ERC-15-0218
- [30] ZHANG, Yanli, Dong ZHAO, Changguo GONG, Fengmei ZHANG, Jing HE, Wei ZHANG, Yulan ZHAO a Jing SUN. Prognostic role of hormone receptors in endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *World Journal of Surgical Oncology* [online]. 2015, 13(1), 208. ISSN 1477-7819. Dostupné z: doi:10.1186/s12957-015-0619-1
- [31] FOGEL, Mina, Paul GUTWEIN, Sabine MECHTERSHEIMER, Svenja RIEDLE, Alexander STOECK, Asya SMIRNOV, Lutz EDLER, Alon BEN-ARIE, Monica HUSZAR a Peter ALTEVOGT. L1 expression as a predictor of progression and survival in patients with uterine and ovarian carcinomas. *The Lancet* [online]. 2003,

- 362(9387), 869–875. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(03)14342-5
- [32] ZEIMET, Alain G., Daniel REIMER, Monica HUSZAR, Boris WINTERHOFF, Ulla PUISTOLA, Samira ABDEL AZIM, Elisabeth MÜLLER-HOLZNER, Alon BEN-ARIE, Léon C. VAN KEMPEN, Edgar PETRU, Stephan JAHN, Yvette P. GEELS, Leon F. MASSUGER, Frédéric AMANT, Stephan POLTERAUER, Elisa LAPPI-BLANCO, Johan BULTEN, Alexandra MEUTER, Staci TANOUYE, Peter OPPELT, Monika STROHWEIGERT, Alexander REINTHALLER, Andrea MARIANI, Werner HACKL, Michael NETZER, Uwe SCHIRMER, Ignace VERGOTE, Peter ALTEVOGT, Christian MARTH a Mina FOGEL. L1CAM in Early-Stage Type I Endometrial Cancer: Results of a Large Multicenter Evaluation. JNCI: Journal of the National Cancer Institute [online]. 2013, 105(15), 1142–1150. ISSN 1460-2105, 0027-8874. Dostupné z: doi:10.1093/jnci/djt144
- [33] SOOD, A, R BULLER, R BURGER, J DAWSON, J SOROSKY a M BERMAN. Value of Preoperative CA 125 Level in the Management of Uterine Cancer and Prediction of Clinical Outcome. Obstetrics & Gynecology [online]. 1997, 90(3), 441–447. ISSN 00297844. Dostupné z: doi:10.1016/S0029-7844(97)00286-X
- [34] REIJNEN, Casper, Nicole CM VISSER, Jenneke C KASIUS, Dorry BOLL, Peggy M GEOMINI, Huy NGO, Dennis VAN HAMONT, Brenda M PIJLMAN, Maria Caroline VOS, Johan BULTEN, Marc PLM SNIJDERS, Leon FAG MASSUGER a Johanna MA PIJNENBORG. Improved preoperative risk stratification with CA-125 in low-grade endometrial cancer: a multicenter prospective cohort study. Journal of Gynecologic Oncology [online]. 2019, 30(5), e70. ISSN 2005-0380, 2005-0399. Dostupné z: doi:10.3802/jgo.2019.30.e70
- [35] KALOGERA, Eleftheria, Nathalie SCHOLLER, Cecelia POWLESS, Amy WEAVER, Ronny DRAPKIN, Jinping LI, Shi-Wen JIANG, Karl PODRATZ, Nicole URBAN a Sean C. DOWDY. Correlation of serum HE4 with tumor size and myometrial invasion in endometrial cancer. Gynecologic Oncology [online]. 2012, 124(2), 270–275. ISSN 00908258. Dostupné z: doi:10.1016/j.ygyno.2011.10.025
- [36] ZANOTTI, Laura, Eliana BIGNOTTI, Stefano CALZA, Elisabetta BANDIERA, Giuseppina RUGGERI, Claudio GALLI, Germana TOGNON, Monica RAGNOLI, Chiara ROMANI, Renata A. TASSI, Luigi CAIMI, Franco E. ODICINO, Enrico SARTORI, Sergio PECORELLI a Antonella RAVAGGI. Human epididymis protein 4 as a serum marker for diagnosis of endometrial carcinoma and prediction of clinical outcome. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine [online]. 2012, 50(12) [vid. 2017-09-30]. ISSN 1437-4331, 1434-6621. Dostupné z: doi:10.1515/cclm-2011-0757
- [37] MINAR, Lubos, Ivanka KLABENESOVA, Eva JANDAKOVA, Filip ZLAMAL a Julie BIENERTOVA-VASKU. Prognostic value of human epididymis protein 4 in endometrial cancer and its utility for surgical staging: HE4 in endometrial cancer. Journal of Obstetrics and Gynaecology Research [online]. 2015, 41(10), 1644–1652. ISSN 13418076. Dostupné z: doi:10.1111/jog.12764
- [38] PRESL, Jiri, Petra OVESNA, Zdenek NOVOTNY, Pavel VLASAK, Jiri BOUDA, Jan KOSTUN, Ondrej TOPOLCAN, Radek KUCERA, Marketa BEDNARIKOVA a Vit WEINBERGER. Importance of Preoperative Knowledge of the Biomarker HE4 in Early-stage Endometrial Cancer Regarding Surgical Management. Anticancer Research [online]. 2017, 37(5), 2697–2702. ISSN 1791-7530. Dostupné z: doi:10.21873/anticancer.11619
- [39] NAGY, B., Z. T. KRASZNAI, H. BALLA, M. CSOBAN, P. ANTAL-SZALMAS, Z. HERNADI a J. KAPPELMAYER. Elevated human epididymis protein 4 concentrations in chronic

- kidney disease. *Annals of Clinical Biochemistry* [online]. 2012, 49(4), 377–380. ISSN 0004-5632, 1758-1001. Dostupné z: doi:10.1258/acb.2011.011258
- [40] CHOVANEC, Josef, Iveta SELINGEROVA, Kristina GREPLOVA, Sofie LEISBY ANTONSEN, Monika NALEZINSKA, Claus HØGDALL, Estrid HØGDALL, Erik SØGAARD-ANDERSEN, Kirsten M. JOCHUMSEN, Pavel FABIAN, Dalibor VALIK a Lenka ZDRAZILOVA-DUBSKA. Adjustment of serum HE4 to reduced glomerular filtration and its use in biomarker-based prediction of deep myometrial invasion in endometrial cancer. *Oncotarget* [online]. 2017 [vid. 2017-12-22]. ISSN 1949-2553. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.22599
- [41] TANGEN, Ingvild L., Reidun K. KOPPERUD, Nicole CM VISSER, Anne C. STAFF, Solveig TINGULSTAD, Janusz MARCICKIEWICZ, Frédéric AMANT, Line BJØRGE, Johanna MA PIJNENBORG, Helga B. SALVESEN, Henrica MJ WERNER, Jone TROVIK a Camilla KRAKSTAD. Expression of L1CAM in curettage or high L1CAM level in preoperative blood samples predicts lymph node metastases and poor outcome in endometrial cancer patients. *British Journal of Cancer* [online]. 2017, 117(6), 840–847. ISSN 0007-0920. Dostupné z: doi:10.1038/bjc.2017.235
- [42] MORELLI, Michele, Domenica SCUMACI, Annalisa DI CELLO, Roberta VENTURELLA, Giuseppe DONATO, Maria Concetta FANIELLO, Barbara QUARESIMA, Giovanni CUDA, Fulvio ZULLO a Francesco COSTANZO. DJ-1 in Endometrial Cancer: A Possible Biomarker to Improve Differential Diagnosis Between Subtypes. *International Journal of Gynecological Cancer* [online]. 2014, 24(4), 649–658. ISSN 1048-891X. Dostupné z: doi:10.1097/IGC.0000000000000102
- [43] DI CELLO, Annalisa, Maddalena DI SANZO, Francesca Marta PERRONE, Gianluca SANTAMARIA, Erika RANIA, Elvira ANGOTTI, Roberta VENTURELLA, Serafina MANCUSO, Fulvio ZULLO, Giovanni CUDA a Francesco COSTANZO. DJ-1 is a reliable serum biomarker for discriminating high-risk endometrial cancer. *Tumor Biology* [online]. 2017, 39(6), 101042831770574. ISSN 1010-4283, 1423-0380. Dostupné z: doi:10.1177/1010428317705746
- [44] BENATI, Marco, Martina MONTAGNANA, Elisa DANESE, Elisa PAVIATI, Silvia GIUDICI, Orazio RUZZENENTE, Massimo FRANCHI a Giuseppe LIPPI. The clinical significance of DJ-1 and HE4 in patients with endometrial cancer. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* [online]. 2017, e22223. ISSN 08878013. Dostupné z: doi:10.1002/jcla.22223
- [45] CANCER GENOME ATLAS RESEARCH NETWORK, Cyriac KANDOTH, Nikolaus SCHULTZ, Andrew D. CHERNIACK, Rehan AKBANI, Yuexin LIU, Hui SHEN, A. Gordon ROBERTSON, Itai PASHTAN, Ronglai SHEN, Christopher C. BENZ, Christina YAU, Peter W. LAIRD, Li DING, Wei ZHANG, Gordon B. MILLS, Raju KUCHERLAPATI, Elaine R. MARDIS a Douglas A. LEVINE. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* [online]. 2013, 497(7447), 67–73. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature12113
- [46] TALHOUK, A., M. K. MCCONECHY, S. LEUNG, H. H. LI-CHANG, J. S. KWON, N. MELNYK, W. YANG, J. SENZ, N. BOYD, A. N. KARNEZIS, D. G. HUNTSMAN, C. B. GILKS a J. N. MCALPINE. A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers. *British Journal of Cancer* [online]. 2015, 113(2), 299–310. ISSN 1532-1827. Dostupné z: doi:10.1038/bjc.2015.190
- [47] TALHOUK, Aline, Melissa K. MCCONECHY, Samuel LEUNG, Winnie YANG, Amy LUM, Janine SENZ, Niki BOYD, Judith PIKE, Michael ANGLESIO, Janice S. KWON, Anthony N. KARNEZIS, David G. HUNTSMAN, C. Blake GILKS a Jessica N. MCALPINE. Confirmation of ProMisE: A simple, genomics-based clinical classifier for

- endometrial cancer: Molecular Classification of EC. Cancer [online]. 2017, 123(5), 802–813. ISSN 0008543X. Dostupné z: doi:10.1002/cncr.30496
- [48] LEÓN-CASTILLO, Alicia, Stephanie M. DE BOER, Melanie E. POWELL, Linda R. MILESHKIN, Helen J. MACKAY, Alexandra LEARY, Hans W. NIJMAN, Naveena SINGH, Pamela M. POLLOCK, Paul BESSETTE, Anthony FYLES, Christine HAIE-MEDER, Vincent T. H. B. M. SMIT, Richard J. EDMONDSON, Hein PUTTER, Henry C. KITCHENER, Emma J. CROSBIE, Marco DE BRUYN, Remi A. NOUT, Nanda HOREWEG, Carien L. CREUTZBERG, Tjalling BOSSE, a ON BEHALF OF THE TRANSPORTEC CONSORTIUM. Molecular Classification of the PORTEC-3 Trial for High-Risk Endometrial Cancer: Impact on Prognosis and Benefit From Adjuvant Therapy. Journal of Clinical Oncology [online]. 2020, JCO.20.00549. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.20.00549
- [49] STELLOO, Ellen, Remi A. NOUT, Elisabeth M. OSSE, Ina J. JÜRGENLIEMK-SCHULZ, Jan J. JOBSEN, Ludy C. LUTGENS, Elzbieta M. VAN DER STEEN-BANASIK, Hans W. NIJMAN, Hein PUTTER, Tjalling BOSSE, Carien L. CREUTZBERG a Vincent T. H. B. M. SMIT. Improved Risk Assessment by Integrating Molecular and Clinicopathological Factors in Early-stage Endometrial Cancer-Combined Analysis of the PORTEC Cohorts. Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research [online]. 2016, 22(16), 4215–4224. ISSN 1078-0432. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-2878
- [50] MIRZA, Mansoor Raza, Domenica LORUSSO, Qin SHEN, Odette ALLONBY, Mahmoud SLIM, Katarzyna BORKOWSKA, Marissa BETTS a Robert L. COLEMAN. First-line treatments for advanced or recurrent endometrial cancer: Systematic literature review of clinical evidence. Critical Reviews in Oncology/Hematology [online]. 2025, 206, 104555. ISSN 10408428. Dostupné z: doi:10.1016/j.critrevonc.2024.104555
- [51] PIJNENBORG, Johanna M.A., Willem Jan VAN WEELDEN, Casper REIJNEN, Sofia XANTHOULEA a Andrea ROMANO. Redefining the Position of Hormonal Therapy in Endometrial Cancer in the Era of Molecular Classification. Journal of Clinical Oncology [online]. 2024, 42(1), 8–12. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.23.00470
- [52] O'MALLEY, David M., Giovanni Mendonca BARIANI, Philippe A. CASSIER, Aurelien MARABELLE, Aaron R. HANSEN, Ana DE JESUS ACOSTA, Wilson H. MILLER, Tamar SAFRA, Antoine ITALIANO, Linda MILESHKIN, Lei XU, Fan JIN, Kevin NORWOOD a Michele MAIO. Pembrolizumab in Patients With Microsatellite Instability–High Advanced Endometrial Cancer: Results From the KEYNOTE-158 Study. Journal of Clinical Oncology [online]. 2022, 40(7), 752–761. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.21.01874
- [53] OAKNIN, Ana, Anna V. TINKER, Lucy GILBERT, Vanessa SAMOUËLIAN, Cara MATHEWS, Jubilee BROWN, Maria-Pilar BARRETINA-GINESTA, Victor MORENO, Adriano GRAVINA, Cyril ABDEDDAIM, Susana BANERJEE, Wei GUO, Hadi DANAEI, Ellie IM a Renaud SABATIER. Clinical Activity and Safety of the Anti–Programmed Death 1 Monoclonal Antibody Dostarlimab for Patients With Recurrent or Advanced Mismatch Repair–Deficient Endometrial Cancer: A Nonrandomized Phase 1 Clinical Trial. JAMA Oncology [online]. 2020, 6(11), 1766. ISSN 2374-2437. Dostupné z: doi:10.1001/jamaoncol.2020.4515
- [54] MIRZA, Mansoor R., Dana M. CHASE, Brian M. SLOMOVITZ, René DEPONT CHRISTENSEN, Zoltán NOVÁK, Destin BLACK, Lucy GILBERT, Sudarshan SHARMA, Giorgio VALABREGA, Lisa M. LANDRUM, Lars C. HANKER, Ashley

- STUCKEY, Ingrid BOERE, Michael A. GOLD, Annika AURANEN, Bhavana POTHURI, David CIBULA, Carolyn MCCOURT, Francesco RASPAGLIESI, Mark S. SHAHIN, Sarah E. GILL, Bradley J. MONK, Joseph BUSCEMA, Thomas J. HERZOG, Larry J. COPELAND, Min TIAN, Zangdong HE, Shadi STEVENS, Eleftherios ZOGRAFOS, Robert L. COLEMAN a Matthew A. POWELL. Dostarlimab for Primary Advanced or Recurrent Endometrial Cancer. *New England Journal of Medicine* [online]. 2023, 388(23), 2145–2158. ISSN 0028-4793, 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa2216334
- [55] ESKANDER, Ramez N., Michael W. SILL, Lindsey BEFFA, Richard G. MOORE, Joanie M. HOPE, Fernanda B. MUSA, Robert MANNEL, Mark S. SHAHIN, Guilherme H. CANTUARIA, Eugenia GIRDA, Cara MATHEWS, Juraj KAVECANSKY, Charles A. LEATH, Lilian T. GIEN, Emily M. HINCHCLIFF, Shashikant B. LELE, Lisa M. LANDRUM, Floor BACKES, Roisin E. O'CEARBHAILL, Tareq AL BAGHDADI, Emily K. HILL, Premal H. THAKER, Veena S. JOHN, Stephen WELCH, Amanda N. FADER, Matthew A. POWELL a Carol AGHAJANIAN. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Advanced Endometrial Cancer. *New England Journal of Medicine* [online]. 2023, 388(23), 2159–2170. ISSN 0028-4793, 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa2302312
- [56] MAKKER, Vicky, Matthew H. TAYLOR, Carol AGHAJANIAN, Ana OAKNIN, James MIER, Allen L. COHN, Margarita ROMEO, Raquel BRATOS, Marcia S. BROSE, Christopher DISIMONE, Mark MESSING, Daniel E. STEPAN, Corina E. DUTCUS, Jane WU, Emmett V. SCHMIDT, Robert ORLOWSKI, Pallavi SACHDEV, Robert SHUMAKER a Antonio CASADO HERRAEZ. Lenvatinib Plus Pembrolizumab in Patients With Advanced Endometrial Cancer. *Journal of Clinical Oncology* [online]. 2020, 38(26), 2981–2992. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.19.02627
- [57] MUTCH, David G. a Jaime PRAT. 2014 FIGO staging for ovarian, fallopian tube and peritoneal cancer. *Gynecologic Oncology* [online]. 2014, 133(3), 401–404. ISSN 00908258. Dostupné z: doi:10.1016/j.ygyno.2014.04.013
- [58] KONSTANTINOPOULOS, Panagiotis A., Raphael CECCALDI, Geoffrey I. SHAPIRO a Alan D. D'ANDREA. Homologous Recombination Deficiency: Exploiting the Fundamental Vulnerability of Ovarian Cancer. *Cancer Discovery* [online]. 2015, 5(11), 1137–1154. ISSN 2159-8274, 2159-8290. Dostupné z: doi:10.1158/2159-8290.CD-15-0714
- [59] WILSON, M. K., E. PUJADE-LAURINE, D. AOKI, M. R. MIRZA, D. LORUSSO, A. M. OZA, A. DU BOIS, I. VERGOTE, A. REUSS, M. BACON, M. FRIEDLANDER, D. RINCON, F. JOLY, S. - J. CHANG, A. M. FERRERO, R. J. EDMONDSON, P. WIMBERGER, J. MAENPAA, D. GAFFNEY, R. ZHANG, A. OKAMOTO, G. STUART a K. OCHIAI. 5th Ovarian Cancer Consensus Conference of the Gynecologic Cancer InterGroup: Recurrent Disease. *Annals of Oncology* [online]. 2016, mdw663. ISSN 0923-7534, 1569-8041. Dostupné z: doi:10.1093/annonc/mdw663
- [60] VERGOTE, Ignace, Antonio GONZALEZ-MARTIN, Domenica LORUSSO, Charlie GOURLEY, Mansoor Raza MIRZA, Jean-Emmanuel KURTZ, Aikou OKAMOTO, Kathleen MOORE, Frédéric KRIDELKA, Iain MCNEISH, Alexander REUSS, Bénédicte VOTAN, Andreas DU BOIS, Sven MAHNER, Isabelle RAY-COQUARD, Elise C. KOHN, Jonathan S. BEREK, David S. P. TAN, Nicoletta COLOMBO, Rongyu ZANG, Nicole CONCIN, Dearbhaile O'DONNELL, Alejandro RAUH-HAIN, C. Simon HERRINGTON, Christian MARTH, Andres POVEDA, Keiichi FUJIWARA, Gavin C. E. STUART, Amit M. OZA, Michael A. BOOKMAN, a PARTICIPANTS OF THE 6TH GYNECOLOGIC CANCER INTERGROUP (GCIG) OVARIAN CANCER CONSENSUS CONFERENCE ON CLINICAL

- RESEARCH. Clinical research in ovarian cancer: consensus recommendations from the Gynecologic Cancer InterGroup. *The Lancet. Oncology* [online]. 2022, 23(8), e374–e384. ISSN 1474-5488. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(22)00139-5
- [61] YANG, Ling, Hong-Jian XIE, Ying-Ying LI, Xia WANG, Xing-Xin LIU a Jia MAI. Molecular mechanisms of platinum-based chemotherapy resistance in ovarian cancer (Review). *Oncology Reports* [online]. 2022, 47(4), 82. ISSN 1021-335X, 1791-2431. Dostupné z: doi:10.3892/or.2022.8293
- [62] CHEN, Wutao, Weiwei SHI, Hoi Lam CHAN, You WANG a Wen DI. Cell-intrinsic and tumor microenvironmental determinants of platinum resistance in epithelial ovarian cancer. *Discover Oncology* [online]. 2026, 17(1), 523. ISSN 2730-6011. Dostupné z: doi:10.1007/s12672-026-04702-0
- [63] BALLESTRERO, Alberto, Davide BEDOGNETTI, Domenico FERRAIOLI, Paola FRANCESCHELLI, Sana Intidhar LABIDI-GALY, Elisabetta LEO, Junko MURAI, Yves POMMIER, Petros TSANTOULIS, Valerio Gaetano VELLONE a Gabriele ZOPPOLI. Report on the first SLFN11 monothematic workshop: from function to role as a biomarker in cancer. *Journal of Translational Medicine* [online]. 2017, 15(1), 199. ISSN 1479-5876. Dostupné z: doi:10.1186/s12967-017-1296-3
- [64] WINKLER, Claudia, Matthew KING, Julie BERTHE, Domenico FERRAIOLI, Anna GARUTI, Federica GRILLO, Jaime RODRIGUEZ-CANALES, Lorenzo FERRANDO, Nicolas CHOPIN, Isabelle RAY-COQUARD, Oona DELPUECH, Davide BEDOGNETTI, Alberto BALLESTRERO, Elisabetta LEO a Gabriele ZOPPOLI. SLFN11 captures cancer-immunity interactions associated with platinum sensitivity in high-grade serous ovarian cancer. *JCI Insight* [online]. 2021, 6(18), e146098. ISSN 2379-3708. Dostupné z: doi:10.1172/jci.insight.146098
- [65] ZHAI, Jiaqi, Xi GU, Yang LIU, Yueting HU, Yi JIANG a Zhenyong ZHANG. Chemotherapeutic and targeted drugs-induced immunogenic cell death in cancer models and antitumor therapy: An update review. *Frontiers in Pharmacology* [online]. 2023, 14, 1152934. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2023.1152934
- [66] SHARPE, Arlene H. a Kristen E. PAUKEN. The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway. *Nature Reviews Immunology* [online]. 2018, 18(3), 153–167. ISSN 1474-1733, 1474-1741. Dostupné z: doi:10.1038/nri.2017.108
- [67] COLOMBO, Nicoletta, Emese ZSIROS, Gabriella PARMA, Eliana RULLI, Alexandra SEBASTIANELLI, Mariusz BIDZINSKI, Carlos GALLARDO, Emad MATANES, Kosei HASEGAWA, Fatih KOSE, Manuel MAGALLANES-MACIEL, Rebecca A HERBERTSON, Sumitra ANANDA, Judith R KROEP, Andreia Cristina DE MELO, Philip R DEBRUYNE, Jae-Weon KIM, Jalid SEHOULI, Marc-Edy PIERRE, Sakari HIETANEN, Claudio ZAMAGNI, Xin LU, Bradley J MONK, Robert L COLEMAN, Xuan PENG, Karin YAMADA, Agata M BOGUSZ, Thibault DE LA MOTTE ROUGE, Xiaohua WU, Sumitra ANANDA, Jeffrey GOH, Andrew DEAN, Bo GAO, Philip DEBRUYNE, Laura POLASTRO, Hannelore DENYS, Thais BAERT, Maite SCHURMANN, Graziela ZIBETTI DAL MOLIN, Ruffo FREITAS-JUNIOR, Andreia Cristina DE MELO, Andrea Juliana GOMES, Lilian BARROS, Anagha GURJAL, Leathia FIORINO, Alexandra SEBASTIANELLI, Suzanne FORTIN, Susie LAU, Andrew ROBINSON, Lucy GILBERT, Jennifer Brown BRODERICK, Allan COVENS, Prafull GHATAGE, Carlos GALLARDO, Felipe REY GONZALEZ, Claudio PAINEMAL, Eva GARCIA, Pablo RODRIGUEZ, Eduardo YANEZ RUIZ, Carlos ROMERO SANCHEZ, Carolina IBANEZ, Sihai LIAO, Zhengzheng CHEN, Hong ZHENG, Lingya PAN, Xiaohua WU, An LIN, Jieqing ZHANG, Genhai ZHU, Li WANG, Yi HUANG, Jie TANG, Siyuan ZENG, Yuzhen GUO, Xiumin LI,

- Huaijun ZHOU, Xin LU, Qingshui LI, Yu WANG, Weiguo LV, Hongqin ZHAO, Songling ZHANG, Yuan Jing HU, Ke WANG, Guiling LI, Rutie YIN, Yu ZHANG, Hongying YANG, Yang SHEN, Yifeng WANG, Rafael VALLEJO RODRIGUES, Pedro RAMOS GUETTE, Tomas SANCHEZ, Indira HERNANDEZ, Andres Fernando ARENAS ARIAS, Charlotte HASLUND, Sakari HIETANEN, Emmanuel GUARDIOLA, Thibault DE LA MOTTE ROUGE, Florence JOLY-LOBBEDEZ, Laurence VENAT, Laura DEIANA, Alain LORTHOLARY, Diana Bello ROUFAL, Gerhard GEBAUER, Mustafa DERYAL, Jalid SEHOULI, Lucia OTTEN, Pauline WIMBERGER, Tanja FEHM, Peter FASCHING, Bahriye AKTAS, Marina WIRTZ, Karen CADOO, Gil BAR-SELA, Salomon STEMMER, Emed MATANES, Ora ROSENGARTEN, Jacob KORACH, Mihai MEIROVITZ, Tamar SAFRA, Giulia Carlo STELLA, Germana TOGNON, Francesco RASPAGLIESI, Claudio ZAMAGNI, Gabriella Maria PARMA, Annamaria FERRERO, Stefania CANOVA, Shiro SUZUKI, Mayu YUNOKAWA, Tomoka USAMI, Hidemichi WATARI, Tsukasa BABA, Shin NISHIO, Kazuki SUDO, Kenichi HARANO, Kazuhiro TAKEHARA, Noriyuki KATSUMATA, Shoji KAMIURA, Kosei HASEGAWA, Nobutaka TAKAHASHI, Shin Wha LEE, Jae Hoon KIM, Jae-Weon KIM, EunJi NAM, Roberto Ivan ROMERO DIAZ, Manuel MAGALLANES MACIEL, Yamil LOPEZ CHUKEN, David CANTU DE LEON, Juan CEJA GARCIA, Ingrid BOERE, Judith KROEP, Petronella OTTEVANGER, Inge BAAS, Michelle WILSON, Anne Marie HANSSON, Beata MACKOWIAK-MATEJCZYK, Rafal TARNAWSKI, Mariusz BIDZINSKI, Marcin MISIEK, Anna DANSKA-BIDZINSKA, Pawel KNAPP, Radoslaw MADRY, Dagmara KLASA-MAZURKIEWICZ, Valeriya SAEVETS, Alexandra TYULYANDINA, Aleksander BYSTROV, Pavel SKOPIN, Elena PASHKOVA, Yuksel URUN, Huseyin AKILLI, Fatih KOSE, Haci Mehmet TURK, Ganim KHATIB, Pinar GURSOY, Tevfik BESE, Mesut YILMAZ, Christine PARKINSON, Rebecca HERBERTSON, Iain MCNEISH, Joey WOOD, Michelle FERGUSON, John MCGRANE, Emma HUDSON, Sarah MOON, Timothy LESTINGI, Raza KHAN, June HOU, Angeles SECORD, Mark GENESEN, Lyndsay WILLMOTT, Christina ANNUNZIATA, Deena GRAHAM, Kristin ANDERSON, Panayotis LEDAKIS, Kimberly RESNICK, Robert WENHAM, Steven MCCURE, Janelle FAUCI, Michael KOONTZ, Anya MENZIES, Christopher DARUS, Emese ZSIROS, Rachel BRAMBLET, Maria BELL, Beverly LONG, Michael CALLAHAN, Kristi MCINTYRE, Christine LEE, Michael ULM, Merry MARKHAM, Susan ZWEIZIG, Alexander OLAWAIYE, Destin BLACK a Alessandro SANTIN. Pembrolizumab plus weekly paclitaxel in platinum-resistant recurrent ovarian cancer (ENGOT-ov65/KEYNOTE-B96): a multicentre, randomised, double-blind, phase 3 study. *The Lancet* [online]. 2026, 407(10538), 1525–1537. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(26)00602-1
- [68] MITTAL, Priya a Charles W. M. ROBERTS. The SWI/SNF complex in cancer — biology, biomarkers and therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology* [online]. 2020, 17(7), 435–448. ISSN 1759-4774, 1759-4782. Dostupné z: doi:10.1038/s41571-020-0357-3
- [69] MACCIO, Livia, Emma BRAGANTINI, Giuseppe ANGELICO, Giulia SCAGLIONE, Antonio DE LEO, Angela SANTORO a Gian Franco ZANNONI. An update on the role of SMARCA4 deficiency in gynecological neoplasms: how and where. *Virchows Archiv* [online]. 2026, 488(4), 721–733. ISSN 0945-6317, 1432-2307. Dostupné z: doi:10.1007/s00428-025-04318-9
- [70] HAO, Fengxiang, Ying ZHANG, Jiayi HOU a Bin ZHAO. Chromatin remodeling and cancer: the critical influence of the SWI/SNF complex. *Epigenetics & Chromatin* [online]. 2025, 18(1), 22. ISSN 1756-8935. Dostupné z: doi:10.1186/s13072-025-00590-w

- [71] LIU, Joyce, Panagiotis A. KONSTANTINOPOULOS a Ursula A. MATULONIS. Genomic testing and precision medicine — What does this mean for gynecologic oncology? *Gynecologic Oncology* [online]. 2016, 140(1), 3–5. ISSN 00908258. Dostupné z: doi:10.1016/j.ygyno.2015.12.001
- [72] BARROILHET, Lisa a Ursula MATULONIS. The NCI-MATCH trial and precision medicine in gynecologic cancers. *Gynecologic Oncology* [online]. 2018, 148(3), 585–590. ISSN 00908258. Dostupné z: doi:10.1016/j.ygyno.2018.01.008
- [73] WOLFORD, Juliet E., Erin FERRIGNI, Daniel MARGUL a Thomas J. HERZOG. Integrating Precision Medicine into the Contemporary Management of Gynecologic Cancers. *Current Oncology Reports* [online]. 2022, 24(7), 889–904. ISSN 1523-3790, 1534-6269. Dostupné z: doi:10.1007/s11912-021-01163-2