

Was bringt die molekulare Klassifizierung für die Früherkennung und Therapie?

Tumormarker bei gynäkologischen Malignomen

Die Identifizierung von prädiktiven und prognostischen Markern hat bei der Diagnose und Behandlung von gynäkologischen Karzinomen zunehmend an Bedeutung gewonnen. In dieser Übersichtsarbeit fassen wir aktuelle evidenzbasierte prognostische und diagnostische molekulare Marker bei gynäkologischen Karzinomen zusammen.

von Tibor Andrea Zwimpfer^{1,2} und Viola Heinzelmann-Schwarz¹

Tumormarker

Gemäss der Definition des National Cancer Institute (NCI) der USA sind Tumormarker definiert als Substanzen im Blut, Urin, Stuhl oder Tumorgewebe, die zur Diagnose, Prädiktion des Therapieansprechens und Feststellung eines Rezidivs dienen (1). Tumormarker können somit in allen Phasen im Rahmen der Tumorbehandlung von Nutzen sein.

Ein guter Tumormarker sollte – neben einer ausgezeichneten Sensitivität und Spezifität – messbar und reproduzierbar und nach Möglichkeit kostengünstig sein. Die Sensitivität bezieht sich auf die Fähigkeit des Tumormarkers, Patienten, die an der Krankheit leiden, korrekt zu erkennen, während sich die Spezifität auf die Fähigkeit des Tumormarkers bezieht, gesunde Personen, ohne die Krankheit, korrekt auszuschliessen. In der gynäkologischen Onkologie stehen uns heutzutage diverse Tumormarker zur Verfügung (Tabelle).



Tibor Andrea Zwimpfer
(Foto: zVg)

Tumormarker beim Ovarialkarzinom

Das Ovarialkarzinom macht etwa 4% der weltweiten Krebsinzidenz und -mortalität bei Frauen aus, wobei jährlich 313 959 neue Fälle diagnostiziert werden und 200 000 Frauen daran sterben (2). Wir konzentrieren uns hier auf die validierten und für den klinischen Einsatz empfohlenen Tumormarker beim epithelialen Ovarialkarzinom, welches mehr als 90% aller malignen Ovarialkarzinomdiagnosen ausmacht.



Viola Heinzelmann-Schwarz
(Foto: zVg)

CA-125

CA-125 (Krebsantigen 125) ist der einzige von der FDA zugelassene Tumormarker für die Identifizierung des epithelialen Ovarialkarzinoms. CA-125 ist ein Transmembran-Glykoprotein, wobei etwa 80% der epithelialen Ovarialkarzinom-Patientinnen erhöhte CA-125-Konzentrationen von über 35 U/ml aufweisen (3, 4). CA-125 wird oft in Kombination mit einer vollständigen klinischen Untersuchung und Bildgebung zur Identifizierung des Ovarialkarzinoms gebraucht. Ein gutes Hilfsmittel bei Verdacht auf epitheliale Ovarialtumoren ist der Risk of Malignancy Index, welcher sich aus der Multiplikation des Menopausenstatus der Patientin (1: prämenopausal, 3: postmenopausal), dem Befund des transvaginalen Ultraschalls (0: kein Befund, 1: ein auffälliges Merkmal, 2: zwei auffällige Merkmale, 3: drei auffällige Merkmale) und dem absoluten CA-125-Wert ergibt (5). Vorsicht ist geboten bei neu auf den Markt drängenden Tumormarkern, die einen nur minimalen Benefit zu bereits existierenden Markern zeigen.

Mit dem Ovarialkarzinommarker HE4 gibt es einen zweiten Marker mit dem identischen Detektionsprofil wie CA-125, welcher als Unterschied eine verminderte Streubreite des HE4 hat und dadurch die Detektion benigner Erkrankungen (z.B. Endometriose) vermindert (6, 7). Der Einsatz von HE4 in Ergänzung zu CA-125 ist lediglich bei jungen Patientinnen mit hohem CA-125-Wert und Verdacht auf Endometriose gegeben, da ein reduziertes HE4 diese Diagnose bestätigen würde.

Die Messung des CA-125 ist auch ein nützlicher Marker für das Ansprechen auf eine Chemotherapie und wird dafür allein oder in Kombination mit einer Computertomografie nach Abschluss einer Therapie als Basisnormwert bestimmt (8). Nachher sollte nur bei Beschwerden eine erneute Messung erfolgen (9).

BRCA 1/2

Keimbahn-BRCA-Mutationen treten bei etwa 17% der hochgradigen Ovarialkarzinome auf, am häufigsten bei serösen Ovarialkarzinomen (10, 11). Tumoren mit einer BRCA-Mutation weisen eine gestörte DNA-Reparatur auf. Die sogenannte

¹ Department Gynäkologische Onkologie, Universitätsspital Basel

² Cancer Research, Peter MacCallum Cancer Centre, Melbourne/Australien

Tabelle:

Gynäkologische Karzinome und vorhandene Tumormarker

Tumor	Tumormarker	Behandlungsphase	Ausgangsmaterial
Epitheliales Ovarialkarzinom (nicht muzinös)	BRCA1/2	Prognose Therapiemöglichkeit (targeted therapy; PARP-Inhibitoren)	Tumorgewebe
	HRD	Prognose Therapiemöglichkeit (targeted therapy; PARP-Inhibitoren)	Tumorgewebe
	CA-125 Human Epididymis 4 (HE4)	Diagnose, Therapieansprechen, Rezidiv	Blut Blut
Muzinöses (epitheliales) Ovarialkarzinom	CA-199	Diagnose, Therapieansprechen, Rezidiv	Blut
Keimstrang-/Stroma-Tumoren (Ovar; Sertoli-/Leydigzelltumore)	Östrogen-/Testosteron-Levels	Diagnose Rezidiv	Blut
Keimstrang-/Stroma-Tumoren (Ovar; Granulosazelltumore)	Inhibin	Diagnose Rezidiv	Blut
Keimzelltumoren (Ovar; Dysgerminome)	Lactate Dehydrogenase (LDH)	Diagnostik (Stadium) Prognose Therapieansprechen	Blut
Keimzelltumore (Ovar; nicht Dysgerminome)	Alpha-Fetoprotein (AFP)	Diagnostik (Stadium) Prognose Therapieansprechen	Blut
Chorionkarzinome, Keimzelltumore (Ovar; nicht-Dysgerminome)	Beta-human Chorionic Gonadotropin (Beta-hCG)	Diagnostik (Stadium) Prognose Therapieansprechen	Blut, Urin
Endometriumkarzinom	POLE, MMR, p53	Prognose Therapieansprechen	Tumorgewebe
Zervixkarzinom	HPV	Prognose Therapieansprechen	Tumorgewebe
	PD-L1	Therapiemöglichkeit (targeted therapy; Pembrolizumab)	Tumorgewebe
Mammakarzinom	CA-153	Behandlungserfolg Rezidiv	Blut
	Östrogen/Progesteron Rezeptor	Therapiemöglichkeit (targeted therapy; Tamoxifen, Aromatase Inhibitoren)	Tumorgewebe
	HER2/neu	Therapiemöglichkeit (targeted therapy; Trastuzumab)	Tumorgewebe
	HRD	Prognose Therapiemöglichkeit (targeted therapy; PARP-Inhibitoren)	Tumorgewebe
	Oncotype	Prognose Therapieansprechen	Tumorgewebe
Vulvakarzinom	HPV	Prognose Therapieansprechen	Tumorgewebe
Vulvamelanom	c-KIT	Diagnose, Abschätzung Therapiemöglichkeit (targeted therapy; Iressa)	Tumorgewebe

homologe Rekombinationsreparatur (HRR) ist ein Weg, der für die Reparatur von doppelsträngigen DNA-Brüchen verantwortlich ist (12) (*Abbildung 1*). Die Reparatur von DNA-Schäden durch HRR trägt zur Stabilität des Genoms bei und spielt somit bei der Verhinderung bösartiger Veränderungen eine Rolle. Die Inaktivierung des HRR-Wegs wird am häufigsten durch genetische oder epigenetische Veränderungen in den BRCA1- oder BRCA2-Genen (BRCA1/2) verursacht, aber auch durch Veränderungen in anderen Genen, die für Proteine kodieren, die an der HR-DNA-Reparatur beteiligt sind.

BRCA1/2-Genmutationen sind die am besten charakterisierten prognostischen Tumormarker beim epithelialen Ovarialkarzinom: Mehrere Studien haben gezeigt, dass Patientinnen mit BRCA1/2-Mutationen besser auf eine platinbasierte Chemotherapie ansprechen und bessere Überlebenschancen haben (13–16). Darüber hinaus zeigen PARP-Inhibitoren die

grösste Wirkung bei Patienten mit BRCA1/2-Mutationen. Ein Test auf BRCA1/2-Mutationen wird für alle Patientinnen empfohlen, bei denen ein epitheliales Ovarialkarzinom diagnostiziert wird (17–22). Patientinnen mit hochgradigem serösem Ovarialkarzinom und einer Keimbahn- oder Tumor-BRCA-Mutation sollten nach Ansprechen auf eine platinbasierte Chemotherapie mit einem PARP-Inhibitor behandelt werden (8).

HRD

Der Status der homologen Rekombinations-Defizienz (HRD), der in der Regel durch Messung des Ausmasses der DNA-Narben im Tumorgenom bestimmt wird, ist ein weiterer prognostischer Marker beim epithelialen Ovarialkarzinom. Zum Zeitpunkt der Diagnose weisen zirka 50% der epithelialen Ovarialkarzinome aufgrund genetischer und epigenetischer Veränderungen von Genen des HR-Signalwegs eine defekte

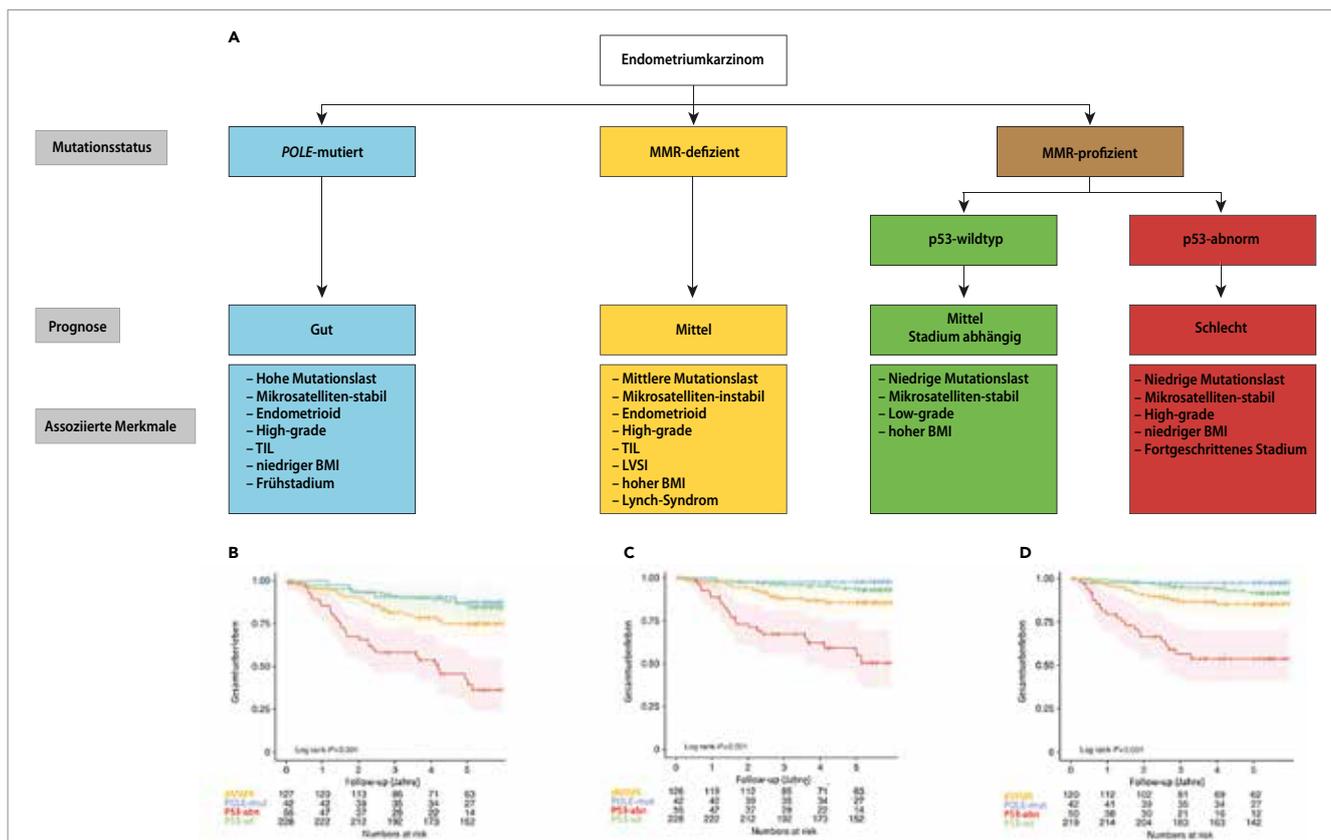


Abbildung 2: A. Übersicht der molekularen Klassifizierung beim Endometriumkarzinom und B. Kaplan-Meier-Überlebenskurven nach Einteilung der molekularen Klassifizierung.

Abkürzungen: POLE=Polymerase Epsilon, MMR=Mismatch Repair, TILS=Tumor infiltrierende Lymphozyten, BMI=Body Mass Index, LVSI=Lymphovaskuläre Invasion, dMMR= defizientes Mismatch Repair, POLE-mut=POLE-mutiert, P53-mut=P53-mutiert, P53-wt=P53-Wildtyp (adaptiert nach [26] und [29]).

- 2) dMMR mit mittlerer Mutationslast (10-100 mut/Mb), Mismatch-repair (MMR)-defizient und Mikrosatelliten-instabil
- 3) pMMR p53-abnorm mit hoher somatischer Kopienzahl, MMR-profizient mit pathogenen TP53-Varianten und
- 4) pMMR p53-Wildtyp mit niedriger somatischer Kopienzahl, MMR-profizient ohne TP53-Varianten und Mikrosatelliten-stabil (Abbildung 2).

Die Integration dieser molekularen Klassifizierung mit den etablierten klinisch-pathologischen Faktoren hat zu einem aktualisierten Risikoklassifizierungssystem geführt, um das relative Risiko eines Wiederauftretens zu ermitteln (26). Die POLE-mutierten Endometriumkarzinome zeigen die beste und die p53-abnormen die schlechteste Prognose und Therapieansprechen unabhängig von der Risikogruppe, der Art der adjuvanten Behandlung, dem Tumortyp oder des Grads (28). Daher gelten Patientinnen mit Tumoren im Stadium I-II und dem Status «POLE-mutiert» nun auch als Patientinnen mit geringem Risiko eines Rezidivs, die wahrscheinlich nicht von einer adjuvanten Behandlung profitieren (28–30). Weiter wurde gezeigt, dass Frauen mit p53-abnormem Endometriumkarzinom den grössten Nutzen einer zusätzlichen Chemotherapie in der adjuvanten Behandlung aufweisen (28).

Gezeigt wurde, dass mit einer molekularen Klassifizierung mit Identifizierung von gleichwertigen Untergruppen auch

durch die etablierten immunhistochemischen (IHC) Marker (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 und p53) in Kombination mit einer gezielten Tumorsequenzierung (POLE-Hotspot-Analyse) erreicht werden kann (29, 30, 32–34). Somit kann auf eine umfangreiche Sequenzierung verzichtet werden und die Klassifizierung dient auch automatisch als Vorscreening für das Lynch-Syndrom. Dieses Vorgehen sollte für alle Endometriumkarzinome unabhängig vom histologischen Typ gelten (26).

Tumormarker beim Zervixkarzinom

Das Zervixkarzinom ist die am vierthäufigsten diagnostizierte Krebsart und die vierthäufigste Krebstodesursache bei Frauen, wobei sich die überwiegende Mehrheit der Todesfälle in den Entwicklungsregionen der Welt ereignet (35). Die grossen geografischen Unterschiede bei den Zervixkarzinomen spiegeln Unterschiede in der Verfügbarkeit von Vorsorgeuntersuchungen und in der Prävalenz von Infektionen mit humanen Papillomaviren (HPV) wider. Das Plattenepithelkarzinom ist mit 70 bis 80% der häufigste Subtyp, gefolgt vom Adenokarzinom (20–25%) und anderen epithelialen Tumoren (36). Im Frühstadium hat das Zervixkarzinom oft keine Symptome und wird am ehesten durch Früherkennungsuntersuchungen des Gebärmutterhalses entdeckt. Die Behandlung hängt dann von

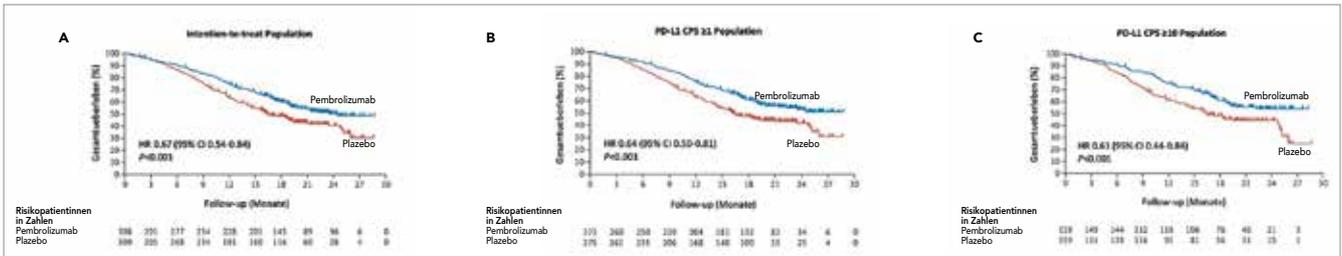


Abbildung 3: Kaplan-Meier-Überlebenskurven mit dem Vergleich von Pembrolizumab plus vs. Placebo zu platinbasierter Chemotherapie ± Bevacizumab bei Patienten mit persistierendem, rezidivierendem oder metastasiertem Zervixkarzinom

- A. unabhängig von PD-L1-Status
- B. Status PD-L1 CPS ≥ 1 und
- C. Status PD-L1 CPS ≥ 10.

Abkürzungen: CPS=Combined positive Score, HR=Hazard Ratio, CI=Confidence Interval, No. At Risk=Number at Risk. (adaptiert nach [43]).

der Grösse, der Lage, dem Stadium des Tumors und den folgenden Tumormarkern ab.

HPV

Das Zervixkarzinom bildet sich im Gewebe der Zervix und wird meistens durch eine Infektion mit HPV verursacht, wobei HPV 16/18 für mindestens zwei Drittel dieser Karzinome verantwortlich ist. Das Zervixkarzinom gilt aufgrund der hochwirksamen primären (HPV-Impfung) und sekundären (Screening) Präventionsmassnahmen als nahezu vollständig vermeidbar (35). Die HPV-Impfung führt zu einer jährlichen Reduzierung von 90% der Fälle des Zervixkarzinoms und mehr als 85% der Fälle von Vaginal-, Vulva-, Anal- und Peniskarzinomen (36). Eine abnormale Zervixzytologie oder ein positiver Test auf HPV sollte zur Kolposkopie und Biopsie oder zu Exzisionsverfahren wie der elektrosurgischen Schlingenexzision und Konisation führen.

Bei allen invasiven Zervixkarzinomen in situ ist ein zusätzlicher Test erforderlich, um einen Zusammenhang mit HPV nachzuweisen. Die am weitesten verbreitete Technik ist die p16-Immunhistochemie. Alternativ können HPV-DNA oder mRNA der E6-E7-Gene durch In-situ-Hybridisierung oder PCR-basierte Techniken nachgewiesen werden. Dabei zeigen sich zirka 10% der Karzinome HPV-negativ. Diese werden im Gegensatz zu HPV-assoziierten Zervixkarzinomen oft in einem fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert, sind meistens nicht Plattenepithelkarzinome und mit einem schlechteren rezidivfreien Überleben und Gesamtüberleben assoziiert (37–39).

Dies hat unter anderem zu einer Anpassung der ESGO/ESTRO/ESP-Empfehlungen für die fertilitätserhaltende Therapie beim Zervixkarzinom geführt. Diese Therapie mit Erhaltung der Eierstöcke ist eine onkologisch sinnvolle Alternative zur radikalen Hysterektomie mit Adnexektomie für junge Patientinnen mit Zervixkarzinom < 2 cm Grösse, die sich die Möglichkeit, Kinder zu bekommen, erhalten wollen. Dies sollte mit Frauen mit Plattenepithelkarzinom besprochen werden und kann auch bei HPV-bedingten Adenokarzinomen in Betracht gezogen werden, wird aber bei HPV-unabhängigen Adenokarzinomen nicht empfohlen (40).

Bevor eine fertilitätserhaltende Therapie eingeleitet wird, wird eine Konsultation in einem Onko-Fertilitätszentrum und eine Diskussion in einem multidisziplinären Tumorboard empfohlen. Nach der fertilitätserhaltenden Behandlung sollte die Nachsorge regelmässige HPV-Tests umfassen (nach 6 bis 12 und 24 Monaten). Derzeit wird auch zirkulierende zellfreie HPV-DNA im Plasma als neues Instrument zur Beurteilung des Ansprechens auf die Behandlung und zur Überwachung des Zervixkarzinoms untersucht (41).

PD-L1

Gezielte Therapien wie Immun-Checkpoint-Inhibitoren werden neu bei der Behandlung des Zervixkarzinoms angewendet. Dabei entsteht ein wachsender Bedarf an prädiktiven Assays, um eine zuverlässige Auswahl der Patientinnen für die Therapie mit einem optimalen Kosten-Nutzen-Verhältnis zu erreichen. Etwa 35% der Plattenepithelkarzinome und 17%

MERKPUNKTE

- Etwa 50% der epithelialen Ovarialkarzinome haben eine Defizienz der homologen Rekombinationsreparatur (HRD) und profitieren von einer Therapie mit PARP-Inhibitoren.
- Die molekulare Klassifizierung beim Endometriumkarzinom hilft, das relative Risiko eines Wiederauftretens zu ermitteln, und fließt bei der Entscheidung für eine adjuvante Therapie mit ein.
- Der Nachweis humaner Papillomaviren (HPV) ist ein prognostischer Faktor für den Tumorsubtyp sowie das Rezidiv- und Gesamtüberleben und sollte im Rahmen der Entscheidungsfindung bei der fertilitätserhaltenden Therapie beim Zervixkarzinom miteinbezogen werden.
- PD-L1 ist kein guter prognostischer Tumormarker für das Therapieansprechen von Immun-Checkpoint-Inhibitoren beim Zervixkarzinom.
- Die Behandlungsplanung bei gynäkologischen Karzinomen sollte auf Basis von umfassender und genauer Kenntnis prognostischer und prädiktiver Faktoren erfolgen.

der Adenokarzinome der Zervix exprimieren PD-L1 (42). PD-L1-Tests für die Auswahl einer Immun-Checkpoint-Therapie werden via Immunhistochemie an Tumorgewebe durchgeführt, entweder an Biopsien oder an chirurgischen Proben.

Neue klinische Studien

Die Phase-III-Studie MK-3475-826/KEYNOTE-826 zeigte den Nutzen der Zugabe von Pembrolizumab zur Chemotherapie mit oder ohne Bevacizumab bei Patienten mit persistierendem, rezidivierendem oder metastasiertem Zervixkarzinom. Die zusätzliche Gabe von Pembrolizumab zeigte einen signifikanten Vorteil des progressionsfreien und Gesamtüberlebens bei Patientinnen mit einem kombinierten positiven Score (CPS) ≥ 1 von PD-L1, in der Intention-to-Treat-Population und auch bei Patientinnen mit einem PD-L1 CPS ≥ 10 (43) (Abbildung 3). Die PD-L1-CPS < 1 -Untergruppe schien jedoch keinen Überlebensvorteil unter den PD-L1-selektierten Subpopulationen zu erzielen. Die Zugabe des Checkpoint-Inhibitors Pembrolizumab zu einer platinbasierten Chemotherapie \pm Bevacizumab wird zurzeit bei Patientinnen mit PD-L1-positiven Tumoren empfohlen, die einen CPS ≥ 1 haben.

Zusätzlich wird bei Patientinnen, die nach einer platinbasierten Chemotherapie in der Erstlinientherapie ein Fortschreiten der Krankheit erlitten haben, unabhängig vom PDL-1-Tumorstatus mit dem PD-1-Inhibitor Cemiplimab behandelt, sofern sie zuvor keine Immuntherapie erhalten haben. Das Überleben von Patientinnen mit rezidivierendem Gebärmutterhalskrebs nach einer platinhaltigen Erstlinien-Chemotherapie war mit Cemiplimab signifikant länger als mit einer Monotherapie, unabhängig vom PD-L1-Status (44).

Zusammenfassend zeigen Immun-Checkpoint-Inhibitoren eine gute Wirksamkeit beim Zervixkarzinom auch unabhängig vom PD-L1-Status. Es braucht deswegen in Zukunft einen besseren Tumormarker, um eine Subpopulation zu finden, welche am meisten von einer Therapie mit Immun-Checkpoint-Inhibitoren profitiert.

Schlussfolgerung

Es hat sich gezeigt, dass wir in der Zeit der Präzisionsonkologie bei bestimmten gynäkologischen Tumoren

- Patientinnen erkennen oder behandeln können, bevor sie einen Tumor entwickeln
- mit der molekularen Klassifizierung das Überleben und das Ansprechen auf die Therapie vorhersagen können,
- neue gezielte Behandlungsmöglichkeiten entdecken,
- diejenigen Patientinnen erkennen können, die am meisten von einer bestimmten Therapie profitieren, und
- dass das Patientinnenmanagement mit einer Reduktion der Über- und Unterbehandlungen verbessert werden kann.

Dennoch ist weitere Forschung erforderlich, um molekulare Tumormarker mit einer hohen Spezifität und Sensitivität zu identifizieren, die zu Verbesserungen in der personalisierten Therapie und Früherkennung von gynäkologischen Tumoren führen können. Dafür sollte auch bei der Planung künftiger Studien die molekulare Klassifizierung und Stratifizierung

nach Tumormarkern gefördert werden, da sie einen Vergleich zwischen Patientengruppen mit ähnlichen/analogen Merkmalen ermöglicht. □

Dr. med. Tibor A. Zwimpfer

E-Mail: TiborAndreas.Zwimpfer@usb.ch

und

Prof. Dr. med. Viola Heinzelmänn-Schwarz

E-Mail: viola.heinzelmänn@usb.ch

Universitätsfrauenklinik

4031 Basel

Interessenkonflikte: keine.

Quellen:

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, 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 May;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660.
2. Biomarkers Definitions Working Group.: Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001 Mar;69(3):89-95. doi: 10.1067/mcp.2001.113989.
3. Moss EL, Hollingworth J, Reynolds TM.: The role of CA125 in clinical practice. *J Clin Pathol.* 2005 Mar;58(3):308-312. doi: 10.1136/jcp.2004.018077.
4. Azzam AZ, Hashad DI, Kamel NA.: Evaluation of HE4 as an extrabiomarker to CA125 to improve detection of ovarian carcinoma: is it time for a step forward? *Arch Gynecol Obstet.* 2013 Jul;288(1):167-172. doi: 10.1007/s00404-013-2722-2.
5. Jacobs I, Oram D, Fairbanks J, Turner J, Frost C, Grudzinskas JG.: A risk of malignancy index incorporating CA 125, ultrasound and menopausal status for the accurate preoperative diagnosis of ovarian cancer. *Br J Obstet Gynaecol.* 1990 Oct;97(10):922-999. doi: 10.1111/j.1471-0528.1990.tb02448.x.
6. Jacob F, Meier M, Caduff R, Goldstein D, Pochechueva T, Hacker N, Fink D, Heinzelmänn-Schwarz V.: No benefit from combining HE4 and CA125 as ovarian tumor markers in a clinical setting. *Gynecol Oncol.* 2011 Jun 1;121(3):487-491. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.02.022.
7. Suri A, Perumal V, Ammali P, Suryan V, Bansal SK.: Diagnostic measures comparison for ovarian malignancy risk in Epithelial ovarian cancer patients: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2021 Aug 27;11(1):17308. doi: 10.1038/s41598-021-96552-9.
8. Colombo N, Sessa C, Bois AD, Ledermann J, McCluggage WG, McNeish I, Morice P, Pignata S, Ray-Coquard I, Vergote I, Baert T, Belaroussi I, Dashora A, Olbrecht S, Planchamp F, Querleu D (ESMO-ESGO Ovarian Cancer Consensus Conference Working Group):. ESMO-ESGO consensus conference recommendations on ovarian cancer: pathology and molecular biology, early and advanced stages, borderline tumours and recurrent disease. *Int J Gynecol Cancer.* 2019 May 2; ijgc-2019-000308. doi: 10.1136/ijgc-2019-000308.
9. Rustin GJ.: Follow-up with CA125 after primary therapy of advanced ovarian cancer has major implications for treatment outcome and trial performances and should not be routinely performed. *Ann Oncol.* 2011 Dec;22 Suppl 8: viii45-viii48. doi: 10.1093/annonc/mdr471.
10. Cancer Genome Atlas Research Network.: Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature.* 2011 Jun 29;474(7353):609-615. doi: 10.1038/nature10166.
11. Alsop K, Fereday S, Meldrum C, deFazio A, Emmanuel C, George J, Dobrovic A, Birrer MJ, Webb PM, Stewart C, Friedlander M, Fox S, Bowtell D, Mitchell G.: 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 Jul 20;30(21):2654-2663. doi: 10.1200/JCO.2011.39.8545.
12. O'Donovan PJ, Livingston DM.: BRCA1 and BRCA2: breast/ovarian cancer susceptibility gene products and participants in DNA double-strand break repair. *Carcinogenesis.* 2010 Jun;31(6):961-967. doi: 10.1093/carcin/bgq069.
13. Dann RB, DeLoia JA, Timms KM, et al.: BRCA1/2 mutations and expression: response to platinum chemotherapy in patients with advanced stage epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2012;125(3):677-682. doi:10.1016/j.ygyno.2012.03.006
14. Alsop K, Fereday S, Meldrum C, 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 [published correction appears in *J Clin Oncol.* 2012 Nov 20;30(33):4180]. *J Clin Oncol.* 2012;30(21):2654-2663. doi:10.1200/JCO.2011.39.8545
15. Safra T, Borgato L, Nicoletto MO, et al.: BRCA mutation status and determinant of outcome in women with recurrent epithelial ovarian cancer treated with pegylated liposomal doxorubicin. *Mol Cancer Ther.*

- 2011;10(10):2000-2007. doi:10.1158/1535-7163.MCT-11-0272
16. Heeke AL, Pishvaian MJ, Lynce F, et al.: Prevalence of Homologous Recombination-Related Gene Mutations Across Multiple Cancer Types. *JCO Precis Oncol.* 2018;2018:PO.17.00286. doi:10.1200/PO.17.00286
 17. Bowtell D.D., Böhm S., Ahmed A.A., et al.: Rethinking ovarian cancer II: reducing mortality from high-grade serous ovarian cancer. *Nat Rev Cancer.* 2015. 15:668-679.
 18. Kehoe S, Hook J, Nankivell M, Jayson GC, Kitchener H, Lopes T, et al.: Primary chemotherapy versus primary surgery for newly diagnosed advanced ovarian cancer (CHORUS): an open-label, randomised, controlled, non-inferiority trial. *Lancet.* (2015) 386:249–257. doi: 10.1016/S0140-6736(14)62223-6
 19. Ray-Coquard I, Pautier P, Pignata S, et al.: Olaparib plus bevacizumab as first-line maintenance in ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2019;381(25):2416-2428. doi:10.1056/NEJMoa1911361
 20. Swisher EM, Lin KK, Oza AM, et al.: Rucaparib in relapsed, platinum-sensitive high-grade ovarian carcinoma (ARIEL2 Part 1): an international, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(1):75-87. doi:10.1016/S1470-2045(16)30559-9
 21. Coleman RL, Oza AM, Lorusso D, et al.: Rucaparib maintenance treatment for recurrent ovarian carcinoma after response to platinum therapy (ARIEL3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [published correction appears in *Lancet.* 2017 Oct 28;390(10106):1948]. *Lancet.* 2017;390(10106):1949-1961. doi:10.1016/S0140-6736(17)32440-6
 22. Ngoi NYL, Tan DSP: The role of homologous recombination deficiency testing in ovarian cancer and its clinical implications: do we need it? *ESMO Open.* 2021;6(3):100144. doi:10.1016/j.esmoop.2021.100144
 23. The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analysis of ovarian cancer. *Nature* 2011; 474, 609–615.
 24. Lord CJ, Ashworth A.: The DNA damage response and cancer therapy. *Nature.* 2012;481(7381):287-294. Published 2012 Jan 18. doi:10.1038/nature10760
 25. de Boer SM, Wortman BG, Bosse T, Powell ME, Singh N, Hollema H, Wilson G, Chowdhury MN, Mileschkin L, Pyman J, Katsaros D, Carinelli S, Fyles A, McLachlin CM, Haie-Meder C, Duvillard P, Nout RA, Verhoeven-Adema KW, Putter H, Creutzberg CL, Smit VTHBM (for PORTEC Study Group): Clinical consequences of upfront pathology review in the randomised PORTEC-3 trial for high-risk endometrial cancer. *Ann Oncol.* 2018 Feb 1;29(2):424-430. doi: 10.1093/annonc/mdx753.
 26. Oaknin A, Bosse TJ, Creutzberg CL, Giordano G, Harter P, Joly F, Lorusso D, Marth C, Makker V, Mirza MR, Ledermann JA, Colombo N (ESMO Guidelines Committee): Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2022 Sep;33(9):860-877. doi: 10.1016/j.annonc.2022.05.009.
 27. Kandath C, Schultz N, Cherniack AD, Akbani R, Liu Y, Shen H, Robertson AG, Pashtan I, Shen R, Benz CC, Yau C, Laird PW, Ding L, Zhang W, Mills GB, Kucherlapati R, Mardis ER, Levine DA (Cancer Genome Atlas Research Network): Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature.* 2013 May 2;497(7447):67-73. doi: 10.1038/nature12113.
 28. León-Castillo A, de Boer SM, Powell ME, Mileschkin LR, Mackay HJ, Leary A, Nijman HW, Singh N, Pollock PM, Bessette P, Fyles A, Haie-Meder C, Smit VTHBM, Edmondson RJ, Putter H, Kitchener HC, Crosbie EJ, de Bruyn M, Nout RA, Horeweg N, Creutzberg CL, Bosse T (TransPORTEC consortium): Molecular classification of the PORTEC-3 trial for high-risk endometrial cancer: Impact on prognosis and benefit from adjuvant therapy. *J Clin Oncol.* 2020 Oct 10;38(29):3388-3397. doi: 10.1200/JCO.20.00549.
 29. Talhouk A, McConechy MK, Leung S, Yang W, Lum A, Senz J, Boyd N, Pike J, Anglesio M, Kwon JS, Karnezis AN, Huntsman DG, Gilks CB, McAlpine JN.: Confirmation of ProMisE: A simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer. *Cancer.* 2017 Mar 1;123(5):802-813. doi: 10.1002/cncr.30496.
 30. Bosse T, Nout RA, McAlpine JN, McConechy MK, Britton H, Hussein YR, Gonzalez C, Ganesan R, Steele JC, Harrison BT, Oliva E, Vidal A, Matias-Guiu X, Abu-Rustum NR, Levine DA, Gilks CB, Soslow RA.: Molecular classification of grade 3 endometrioid endometrial cancers identifies distinct prognostic subgroups. *Am J Surg Pathol.* 2018 May;42(5):561-568. doi: 10.1097/PAS.0000000000001020.
 31. Stelloo E, Nout RA, Osse EM, Jürgenliemk-Schulz LJ, Jobsen JJ, Lutgens LC, van der Steen-Banasik EM, Nijman HW, Putter H, Bosse T, Creutzberg CL, Smit VT.: Improved risk assessment by integrating molecular and clinicopathological factors in early-stage endometrial cancer-combined analysis of the PORTEC cohorts. *Clin Cancer Res.* 2016 Aug 15;22(16):4215-4224. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2878.
 32. Kommoss S, McConechy MK, Kommoss F, Leung S, Bunz A, Magrill J, Britton H, Kommoss F, Grevenkamp F, Karnezis A, Yang W, Lum A, Krämer B, Taran F, Staebler A, Lax S, Brucker SY, Huntsman DG, Gilks CB, McAlpine JN, Talhouk A.: Final validation of the ProMisE molecular classifier for endometrial carcinoma in a large population-based case series. *Ann Oncol.* 2018 May 1;29(5):1180-1188. doi: 10.1093/annonc/mdy058.
 33. Talhouk A, McConechy MK, Leung S, Li-Chang HH, Kwon JS, Melnyk N, Yang W, Senz J, Boyd N, Karnezis AN, Huntsman DG, Gilks CB, McAlpine JN.: A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers. *Br J Cancer.* 2015 Jul 14;113(2):299-310. doi: 10.1038/bjc.2015.190.
 34. Church DN, Stelloo E, Nout RA, Valtcheva N, Depreeuw J, ter Haar N, Noske A, Amant F, Tomlinson IP, Wild PJ, Lambrechts D, Jürgenliemk-Schulz IM, Jobsen JJ, Smit VT, Creutzberg CL, Bosse T: Prognostic significance of POLE proofreading mutations in endometrial cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2014 Dec 12;107(1):402. doi: 10.1093/jnci/dju402.
 35. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, 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 May;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660.
 36. Colombo N, Carinelli S, Colombo A, Marini C, Rollo D, Sessa C (ESMO Guidelines Working Group): Cervical cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2012 Oct;23 Suppl 7:vii27-32. doi: 10.1093/annonc/mds268.
 37. Nicolás I, Marimon L, Barnadas E, Saco A, Rodríguez-Carunchio L, Fusté P, Martí C, Rodríguez-Trujillo A, Torne A, Del Pino M, Ordi J.: HPV-negative tumors of the uterine cervix. *Mod Pathol.* 2019 Jul;32(8):1189-1196. doi: 10.1038/s41379-019-0249-1.
 38. Rodríguez-Carunchio L, Soveral I, Steenbergen RD, Torné A, Martínez S, Fusté P, Pahisa J, Marimon L, Ordi J, del Pino M.: HPV-negative carcinoma of the uterine cervix: a distinct type of cervical cancer with poor prognosis. *BJOG.* 2015 Jan;122(1):119-127. doi: 10.1111/1471-0528.13071.
 39. Nicolás I, Saco A, Barnadas E, Marimon L, Rakislova N, Fusté P, Rovirosa A, Gaba L, Buñesch L, Gil-Ibañez B, Pahisa J, Díaz-Feijoo B, Torne A, Ordi J, Del Pino M.: Prognostic implications of genotyping and p16 immunostaining in HPV-positive tumors of the uterine cervix. *Mod Pathol.* 2020 Jan;33(1):128-137. doi: 10.1038/s41379-019-0360-3.
 40. Cibula D, Rosaria Raspollini M, Planchamp F, Centeno C, Chargari C, Felix A, Fischerová D, Jahnn-Kuch D, Joly F, Kohler C, Lax S, Lorusso D, Mahantschetty U, Mathevet P, Raj Naik M, Nout RA, Oaknin A, Peccatori F, Persson J, Querleu D, Rubio Bernabé S, Schmid MP, Stepanyan A, Svintsitskiy V, Tamussino K, Zapardiel I, Lindegaard J.: ESGO/ESTRO/ESP Guidelines for the management of patients with cervical cancer – Update 2023. *Radiother Oncol.* 2023 Jul;184:109682. doi: 10.1016/j.radonc.2023.109682.
 41. Bonlökke S, Stougaard M, Sorensen BS, Booth BB, Høgdall E, Nyvang GB, Lindegaard JC, Blaaker J, Bertelsen J, Fuglsang K, Strube ML, Lenz S, Steiniche T.: The diagnostic value of circulating cell-free HPV DNA in plasma from cervical cancer patients. *Cells.* 2022 Jul 11;11(14):2170. doi: 10.3390/cells11142170.
 42. Saglam O, Conejo-Garcia J.: PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors in advanced cervical cancer. *Integr Cancer Sci Ther.* 2018;5(2):10.15761/ICST.1000272. doi: 10.15761/ICST.1000272.
 43. Colombo N, Dubot C, Lorusso D, Caceres MV, Hasegawa K, Shapira-Frommer R, Tewari KS, Salman P, Hoyos Usta E, Yañez E, Gümüş M, Olivera Hurtado de Mendoza M, Samouëlian V, Castonguay V, Arkhipov A, Toker S, Li K, Keefe SM, Monk BJ (KEYNOTE-826 Investigators): Pembrolizumab for persistent, recurrent, or metastatic cervical cancer. *N Engl J Med.* 2021 Nov 11;385(20):1856-1867. doi: 10.1056/NEJMoa2112435.
 44. Tewari KS, Monk BJ, Vergote I, Miller A, de Melo AC, Kim HS, Kim YM, Lisyanskaya A, Samouëlian V, Lorusso D, Damian F, Chang CL, Gotovkin EA, Takahashi S, Ramone D, Pikiel J, Ma?kowiak-Matejczyk B, Guerra Alia EM, Colombo N, Makarova Y, Rischin D, Lheureux S, Hasegawa K, Fujiwara K, Li J, Jamil S, Jankovic V, Chen CI, Seebach F, Weinreich DM, Yancopoulos GD, Lowy I, Mathias M, Fury MG, Oaknin A (Investigators for GOG Protocol 3016 and ENGOT Protocol En-Cx9): Survival with cemiplimab in recurrent cervical cancer. *N Engl J Med.* 2022 Feb 10;386(6):544-555. doi: 10.1056/NEJMoa2112187.