

Recommandations pour la Pratique Clinique 2023

Prise en charge des carcinomes de l'endomètre localisés



**COURS
ST-PAUL
RPC 2023**



Groupe de travail

Corinne Jeanne

Isabelle Treilleux

Marie-Aude le Frère Belda

Etienne Rouleau

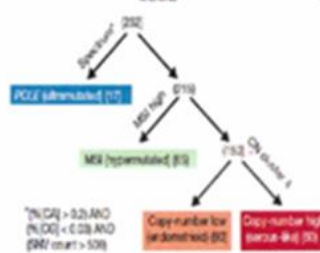
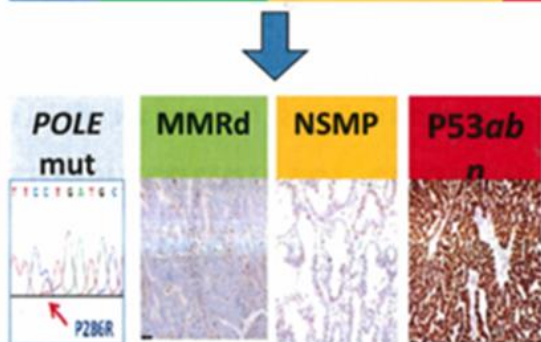
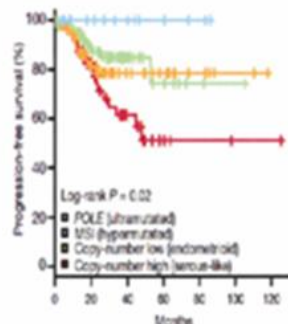
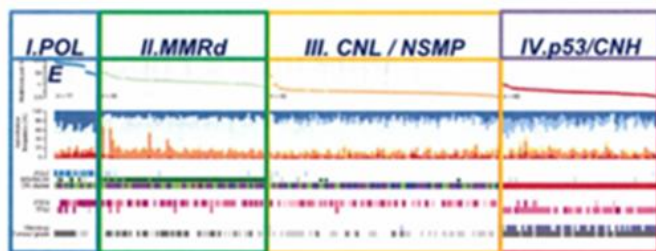
Anatomie pathologique : questions

- › 1. Informations histologiques nécessaires à la prise en charge : type histologique, grade, classification moléculaire
- › 2. Sur quel matériel (pipelle de Cornier versus curetage, pièce opératoire) ? Dans quels délais ?
- › 3. Marqueurs IHC indispensables (diagnostiques, pronostiques)
- › 4. CRO-CRH : quels items exiger ?
- › 5. Relecture experte : dans quelles situations la demander ?
- › 6. Procédure de détermination du profil MMR/MSI. Difficultés d'interprétation de l'IHC et importance du pré-analytique. Indications de l'analyse moléculaire.
- › 7. Intégration de la classification moléculaire et notamment du statut POLE : quand et pour quels stades / grades ?
- › 8. Ganglion sentinelle : technique



Classification moléculaire des carcinomes de l'endomètre (TCGA 2013)

TCGA molecular groups by surrogate markers



- Immunohistochemistry for **p53** & **mismatch repair proteins**
- DNA sequencing for **POLE** exonuclease domain mutations

Classification histologique Types I / II

Bokman JV Gynecol Oncol 1983

Classification moléculaire

Levine *et al.* Nature 2013

Développement et validation d'approches alternatives

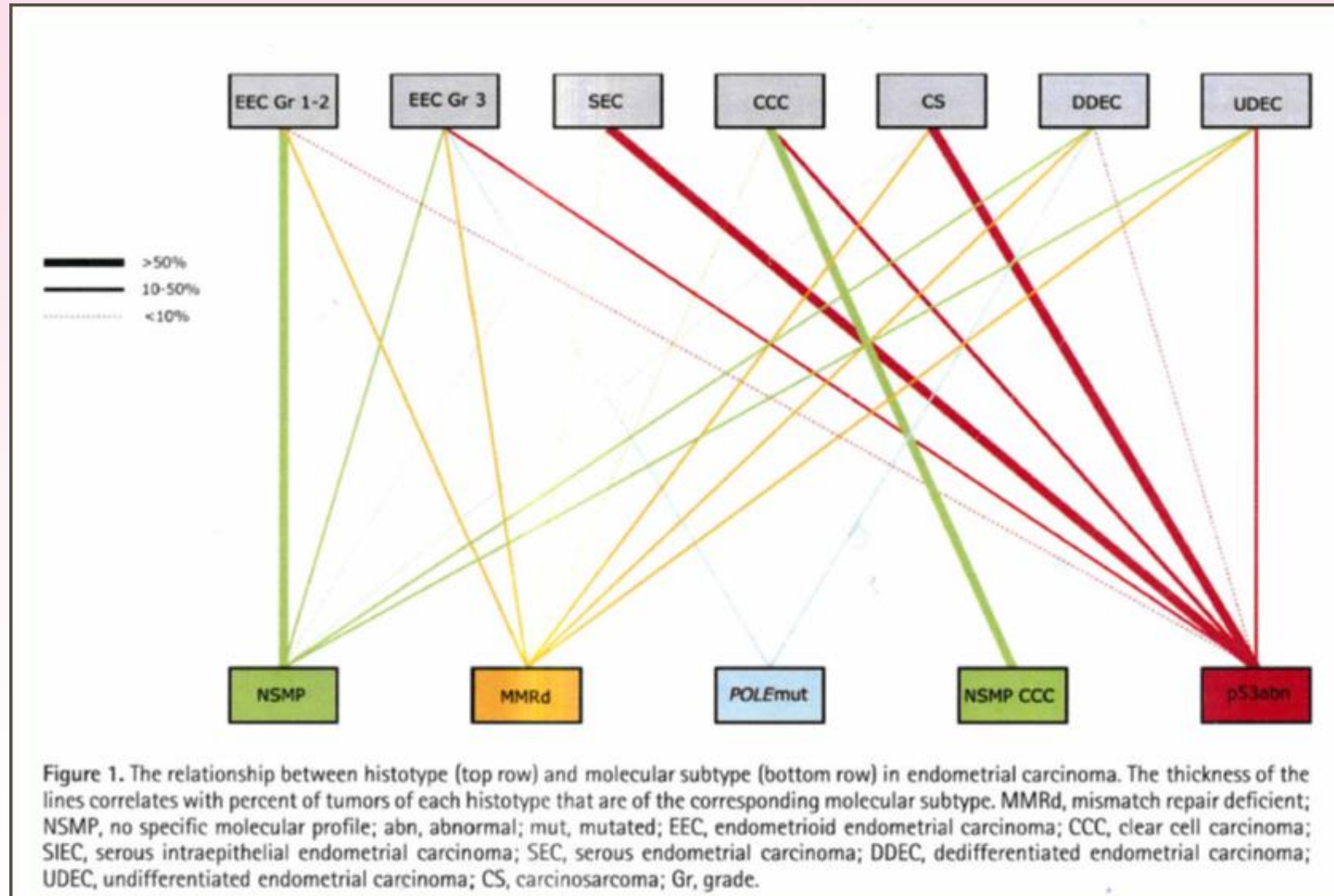
Talhok 2015, Stelloo 2016, Hoang 2017



Classification moléculaire des cancers de l'endomètre

Classe moléculaire	Prévalence	Anomalies moléculaires	Pronostic	Survie à 5 ans
<i>POLE</i> mutée Ultra-mutée	12%	Mutation <i>POLE</i> Possible MSI et/ou <i>TP53</i> mutée Charge mutationnelle très élevée	Excellent	100%
Sans profil moléculaire spécifique	40%	MSS Mutations <i>CTNNB1</i> Altérations voie PI3K/Akt	Intermédiaire	80%
dMMR/MSI Hyper-mutée	30%	MSI +/- <i>TP53</i> mutée Charge mutationnelle élevée	Intermédiaire	70%
<i>TP53</i> mutée Peu mutée	18%	<i>TP53</i> mutée Faible charge mutationnelle	Mauvais	50%

Ecs : corrélation type histologique – classe moléculaire



1. Informations histologiques nécessaires au diagnostic : éléments diagnostiques et pronostiques au plus tôt dans la prise en charge

Niveau 2, grade B

- › **Type histologique des carcinomes endométriaux (CE) selon l'OMS 2020**
 - › CE : endométrioïde, séreux, cellules claires, indifférencié / dédifférencié, mixte (≥ 2 types différents dont l'un de type séreux ou à cellules claires, sans notion de %), carcinosarcome
 - › Entités + rares : CE mésonéphrique, épidermoïde, mucineux de type intestinal, carcinome neuro-endocrine (CNE) à petites / grandes cellules
- › **Grade histologique (bas grade / haut grade)**
 - › BG : endométrioïde G1 ou G2 selon la FIGO (distinction +++ pour certains essais cliniques)
 - › HG : endométrioïde G3, séreux, cellules claires, indifférencié/dédifférencié, mixte, carcinosarcome, mésonéphrique, CNE à petites / grandes cellules
- › **Marqueurs IHC indispensables : récepteurs hormonaux (RO, RP), P53 et protéines MMR**
- › **Classification moléculaire basée sur le statut POLE** selon indications (*cf diapositives 18 et 19*)

Grading EC endométrioïde :

FIGO : G1 (plages solides $\leq 5\%$), G2 plages solides (6 à 50%) et G3 (plages solides $> 50\%$)

Si atypies sévères ($> 50\%$ des cellules) : grade majoré (+1)

OMS 2020 : Bas grade (G1 et G2) / Haut grade (G3)

2. Sur quel matériel (pipelle Cornier vs curetage biopsique, pièce opératoire) ? Dans quels délais ?

- › **Matériel biopsique (+++)** : souvent de meilleure qualité mais pas toujours représentatif
 - › Pipelle (souvent peu cellulaire) ou curetage biopsique (plus représentatif)
 - › Fixation immédiate (formol 10%) pour maîtrise optimale du pré-analytique
 - › Diagnostic et analyse IHC : délai de 5 jours ouvrés
 - › +/- biologie moléculaire : délai + long (15 jours en plus)
- › **Pièce opératoire**
 - › Acheminée à l'état frais au labo d'ACP (délai < 1h)
 - › Ouverture de l'utérus pour fixation optimale
 - › Isolement d'un fragment tumoral qui sera fixé à part pour analyses complémentaires (IHC et/ou bio mol)
 - › Délai hors biologie moléculaire : 2 semaines

Niveau 3, grade B

+++ Corrélations inter-observateurs meilleures biopsie / hystérectomie et pour classification moléculaire / classification histologique et grade
Talhok Gynecol Oncol 2016, 143 : 46-53; Hoang Am J Surg Pathol 2017, 41 : 245-252

3. Marqueurs diagnostiques et types histologiques

Type histologique	Autres marqueurs	RO / RP	Profil P53
Endométrioïde G1 ou G2	CK7 +, PAX8 +, WT1 -, p16 focal	++	Sauvage (hétérogène faible) / profil muté (2 à 5 %)
Endométrioïde G3	CK7 +, PAX8 +, WT1 -, p16 focal	+/-	Profil sauvage ou muté (20% des cas)
Séreux	PAX8 +, WT1 +/-, p16 + diffus, HER2 3+ (30% des séreux)	+/-	Profil muté (positif diffus ou négatif ou cytoplasmique diffus)
Cellules claires	PAX8 +, WT1 -, Napsine A +, Racémase +	-	Sauvage / parfois profil muté (22 à 72% des cas)
Indiff/dédifférencié	PanCK focal, PAX8 souvent -, CK8/18 focal, EMA focal, Cadh-E focal, BRG1 +/-, INI1 +/-	-	Sauvage
Carcinosarcome	Carcinome : panCK diffus, p16 + diffus Sarcome : panCK focal, p16 diffus +/- marqueurs hétérologues	+/-	Profil muté
ADK mésonéphrique	PAX8 +, WT1 -, GATA3 +, CD10 + luminal, TTF1 +	-	Sauvage
ADK mucineux intestinal	PAX8 +, CDX2 +, CK7 +, CK20 +/-, WT1 -, p16 focal	-	Sauvage
Neuroendocrine	1 marqueur NE + dans > 10% des cellules (chromogranine ou synaptophysine)	-	Sauvage ou profil muté

3. Stades localisés : marqueurs immunohistochimiques et biomarqueurs indispensables

- › **Marqueurs diagnostiques selon type histologique**
 - › Cf tableau suivant
- › **Marqueurs du diagnostic différentiel** entre un primitif endométrial et une origine autre
 - › En faveur origine gynécologique : CK7+ / CK20 – (sauf mucineux de type intestinal parfois CK20+ focal) et PAX8+
 - › RO/RP, P16, ACE, WT1 ... utiles selon contexte clinique (Col ? Ovaire ? Endomètre ?)
- › **Marqueurs à visée théranostique, oncogénétique et pronostique**
 - › RO (récepteur œstrogènes), RP (récepteur progestérone), P53, protéines MMR (MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6)
- › **Essais thérapeutiques et accès à l'innovation (dans les stades avancés)**
 - › +/- marqueurs d'intérêt : *ERBB2, NTRK1/2/3, BRCA1/2, FGFR1/3, ARID1A, PI3KCA* ...

4. CRO-CRH (1) : quels items exiger ?

- › **Type histologique et grade (OMS 2020)**
- › **Expression des biomarqueurs**
 - › Récepteurs hormonaux (RO, RP)
 - › Protéines MMR (MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6)
 - › Protéine P53
- › **Classe moléculaire en 4 groupes (selon recommandations) si statut *POLE* connu**
 - › Muté *POLE*
 - › MSI / dMMR
 - › Profil moléculaire non spécifique
 - › Profil P53 aberrant
- › **Préciser si analyses moléculaires en cours** (statut *POLE*, recherche instabilité des microsatellites, méthylation du promoteur MLH1)

4. CRO-CRH (2) : quels items exiger ?

› Critères pronostiques

- › Myomètre : invasion, profondeur (< ou > moitié interne)
- › Invasion vasculaire : absente, focale (< 5 emboles), multifocale / diffuse (\geq 5 emboles)
- › Atteinte séreuse, chorion du col, annexes, paramètres, vagin et préciser la marge de résection si possible
- › Atteinte épiploon, péritoine, tube digestif, autre ...
- › Ganglions : site, nombre de ganglions, nombre de ganglions envahis

5. Relecture experte : dans quelles situations la demander ?

Avis experts

› Quand ?

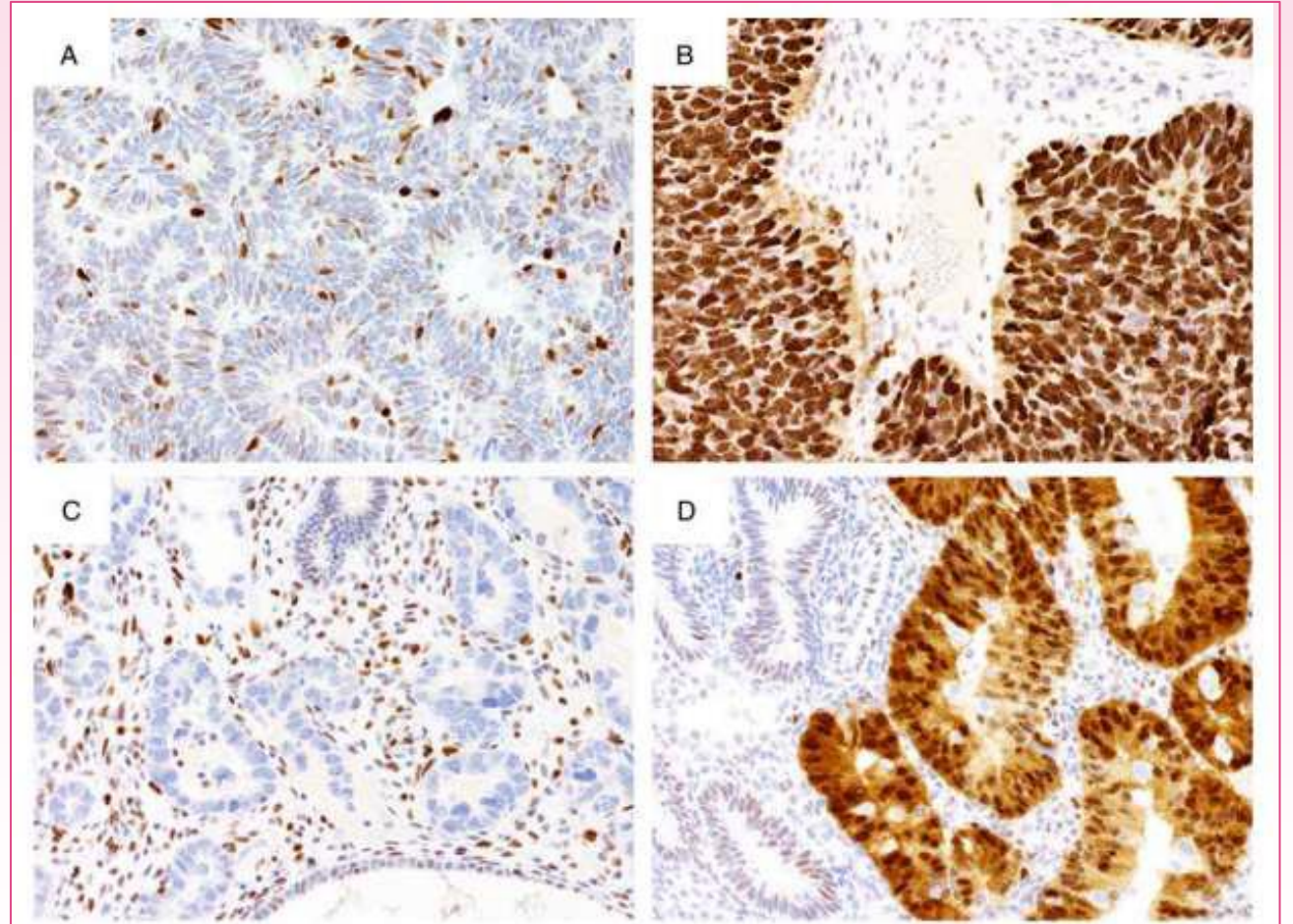
- › Discordance avec la clinique
- › Tumeur endométriale difficile à classer (souvent pour les carcinomes de haut grade ou les carcinomes mixtes)
- › Tumeurs rares si diagnostic difficile / incertain pour le pathologiste local : carcinosarcome, tumeur indifférenciée, carcinome neuro-endocrine, carcinome à cell claires, ADK mésonéphrique et mésonéphrique-like, ADK mucineux de type intestinal ...
- › Préservation de la fertilité : tumeur de grade 1 (FIGO)

› Par qui ?

- › Pathologiste spécialisé en gynéco-pathologie

Interprétation de P53 en immunohistochimie : patterns d'expression

- › Profil « sauvage » (A)
- › Profils aberrants (« mutés »)
 - › Marquage nucléaire fort > 80 % des noyaux tumoraux (B)
 - › Absence totale de marquage des noyaux tumoraux (C)
 - › Marquage cytoplasmique (D)
 - › Marquage sous-clonal



6. Procédure de détermination du profil MMR/MSI (Reco INCa/reco ESGO). Difficultés d'interprétation de l'IHC et +++ du pré-analytique. Indications de l'analyse moléculaire

Niveau 2 grade B

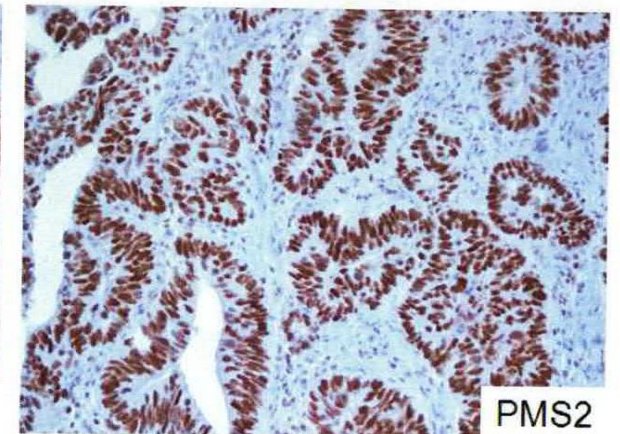
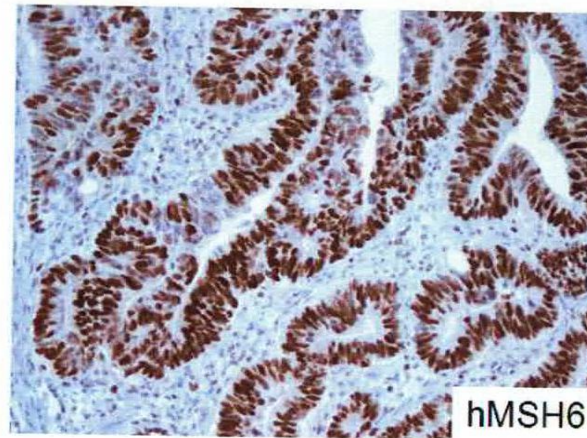
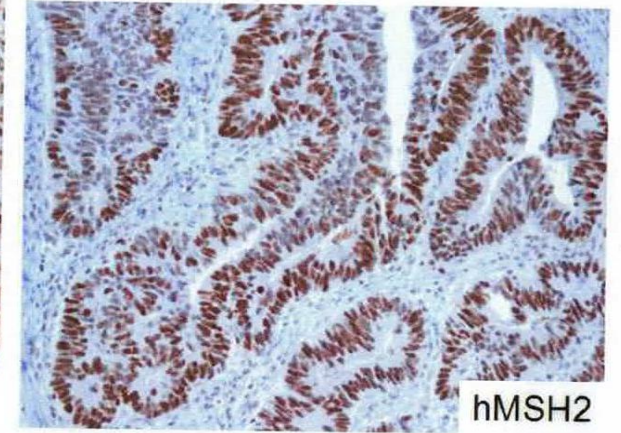
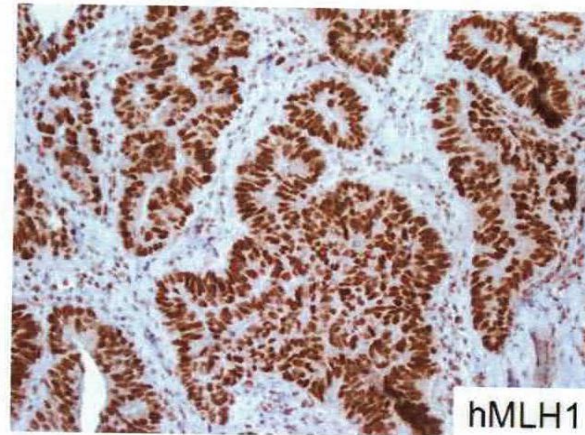
- › **Les techniques**
 - › IHC MMR (MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6)
 - › **Biologie moléculaire : 5 microsatellites par PCR et analyse de fragment de préférence**
 - › « MSI » (≥ 2 marqueurs instables) ou MSS (absence d'instabilité micro-satellitaire)
 - › Évaluation avec le tissu sain
 - › Méthylation du promoteur *MLH1*
- › **Bonne corrélation IHC / BM** : sensibilités comparables et concordances proches de 95% Casey L Int J Gynecol Pathol 2021
- › **Recommandations pour tous les cancers de l'endomètre**
 - › IHC MMR en 1^{ère} intention
 - › Analyse promoteur MLH1 si perte d'expression MLH1 et PMS2
 - › Testing MSI par technique de PCR : indications
 - › Profil d'expression dMMR en IHC (cf diapositive suivante)
 - › Si suspicion clinique de syndrome de Lynch : IHC MMR, testing MSI et consultation d'oncogénétique obligatoires

ISGyP / USCAP 2020 Casey L int J Gynecol Pathol 2021, Crosbie EJ Genet Med 2019, Ryan R Histopathol 2019
INCa Recommandations et référentiels 2021

Carcinome de l'endomètre : recommandations interprétation IHC MMR

- › Marquage nucléaire homogène d'intensité variable dans les tissus normaux adjacents (contrôles internes)
- › Profil pMMR : marquage nucléaire dans toutes les cellules tumorales de plus forte intensité que dans les contrôles

Tumeur pMMR-IHC: 4 protéines MMR exprimées



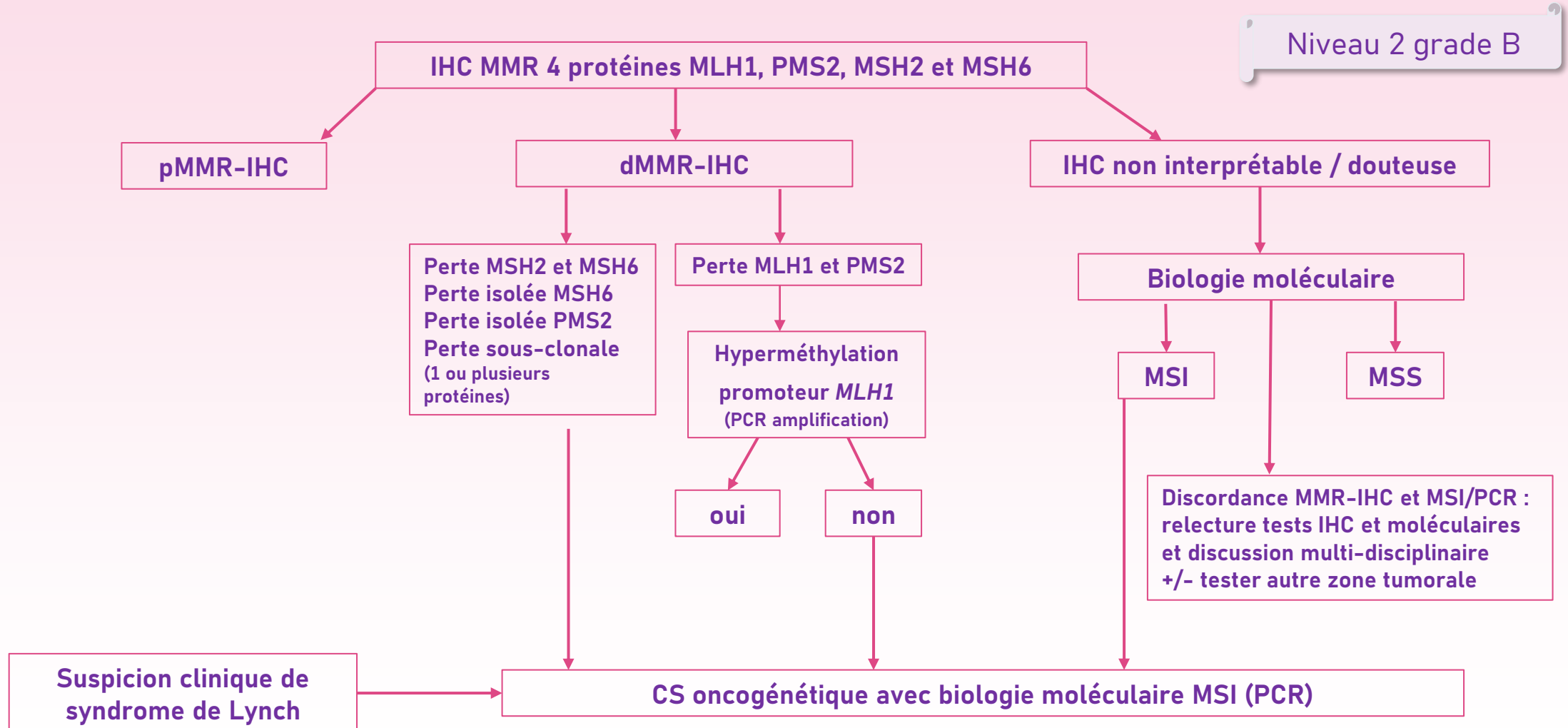
6. Recommandations pour l'interprétation de l'IHC MMR dans le cancer de l'endomètre

- › **Interprétation de l'IHC MMR** : aspects classiques du déficit MMR (profils dMMR-IHC)
 - › Perte d'expression nucléaire PMS2 et MLH1 (méthylation promoteur MLH1)
 - › Perte d'expression nucléaire de MSH6 et MSH2
 - › Perte d'expression nucléaire de MSH6
 - › Perte d'expression nucléaire de PMS2
 - › Ou perte sous-clonale ($\geq 10\%$ cellules) d'un / plusieurs marqueurs

- › **CE et difficultés de l'IHC MMR : +++ maîtrise du pré-analytique !**
 - › Protéines MMR sensibles à la dégradation
 - › Fixation souvent médiocre sur pièce opératoire même si ouverture avant fixation :
 - › Privilégier l'IHC MMR sur matériel biopsique si représentatif
 - › Fixer à part un fragment tumoral prélevé sur la pièce dès réception au laboratoire

6. Détermination du profil MMR/MSI et indications de l'analyse moléculaire

Synthèse

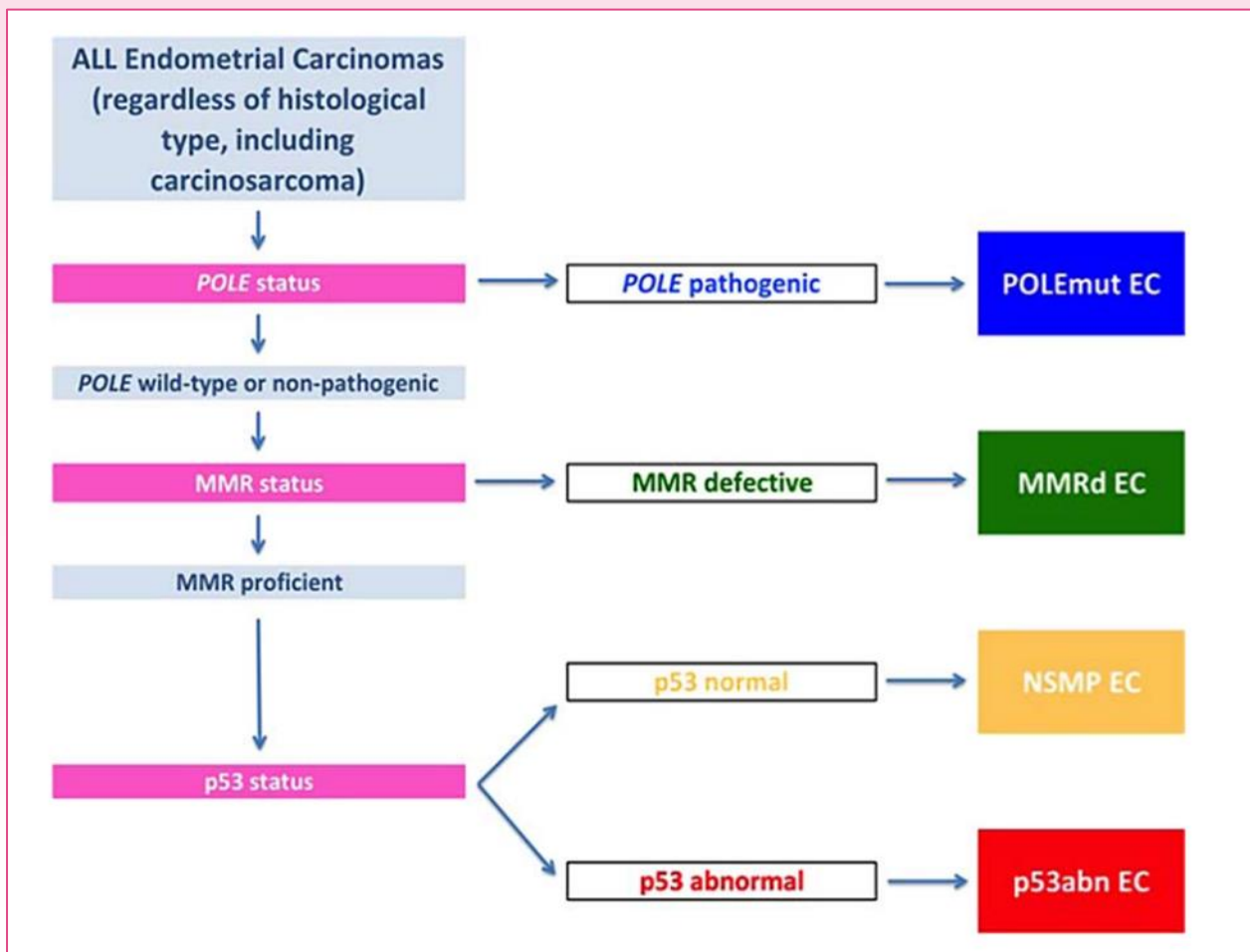


6. Procédure de détermination du profil MMR/MSI (Reco INCa /reco ESGO). Indications de l'analyse moléculaire

- › **Perte d'expression PMS2 et MLH1 (> 80%)**
 - › Recommandation forte pour la recherche de méthylation du promoteur *MLH1*
 - › En l'absence de méthylation : orientation vers consultation d'oncogénétique (>20% mutations constitutionnelles)
- › **Perte d'expression PMS2 isolée, MSH2 ou MSH6 isolée, MSH2 et MSH6**
 - › Orientation directe vers consultation d'oncogénétique
- › **Position sur le criblage MMR tumoral en NGS**
 - › Approche intéressante sur la prise en charge et la détection des Sd de Lynch par criblage NGS des gènes MMR sur la tumeur
 - › Nombreux cas non expliqués
 - › Pas de recommandation sur la technique à ce jour
- › **Positionnement sur le statut MSI en NGS**
 - › Augmentation du niveau de preuve – concordance à 97,5%
 - › Pas de recommandation sur la technique à ce jour



7. Classification moléculaire des cancers de l'endomètre



- › **Mutations de POLE** : séquençage exons 9 - 14 (exonucléase) à partir des blocs de paraffine, par NGS ou ddPCR/qPCR, 5 hotspots minimum
- › **IHC MMR** : profil d'expression des 4 protéines MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6 +/- MSI/PCR
- › **IHC P53** : 3 profils aberrants
 - › > 80% noyaux fortement marqués
 - › Absence totale de marquage nucléaire
 - › Marquage cytoplasmique diffus et nucléaire focal

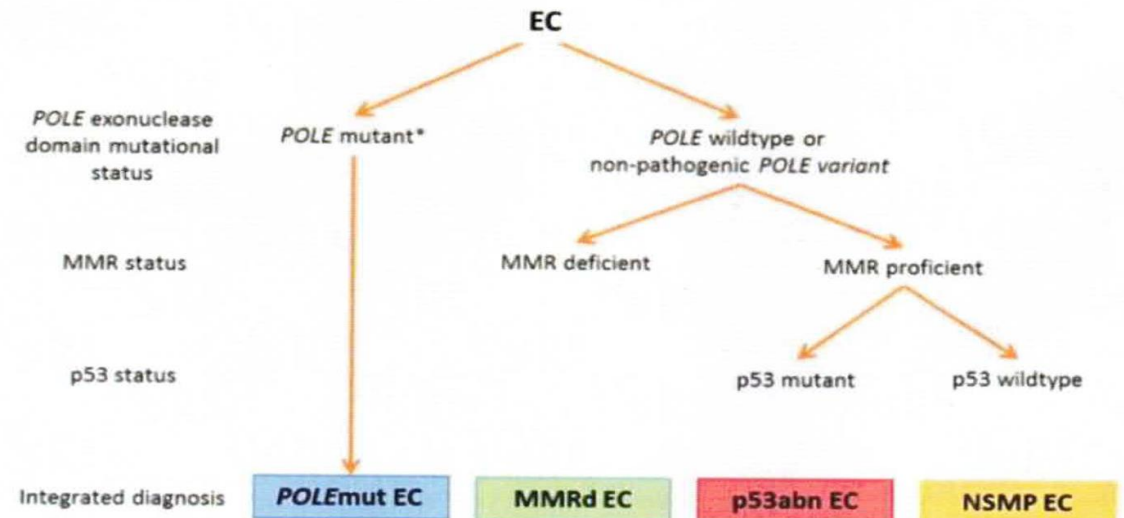
Algorithme de classification des carcinomes endométriaux dans les 4 sous-groupes



Quand il y a plusieurs anomalies moléculaires :

- *TP53* et *POLE* → groupe *POLE*
- *POLE* et MSI → groupe *POLE*
- *TP53* et MSI → groupe dMMR

« Multiple classifiers » 3% des CE Leon-Castillo 2019



Vermij et al; Histopathology 2020

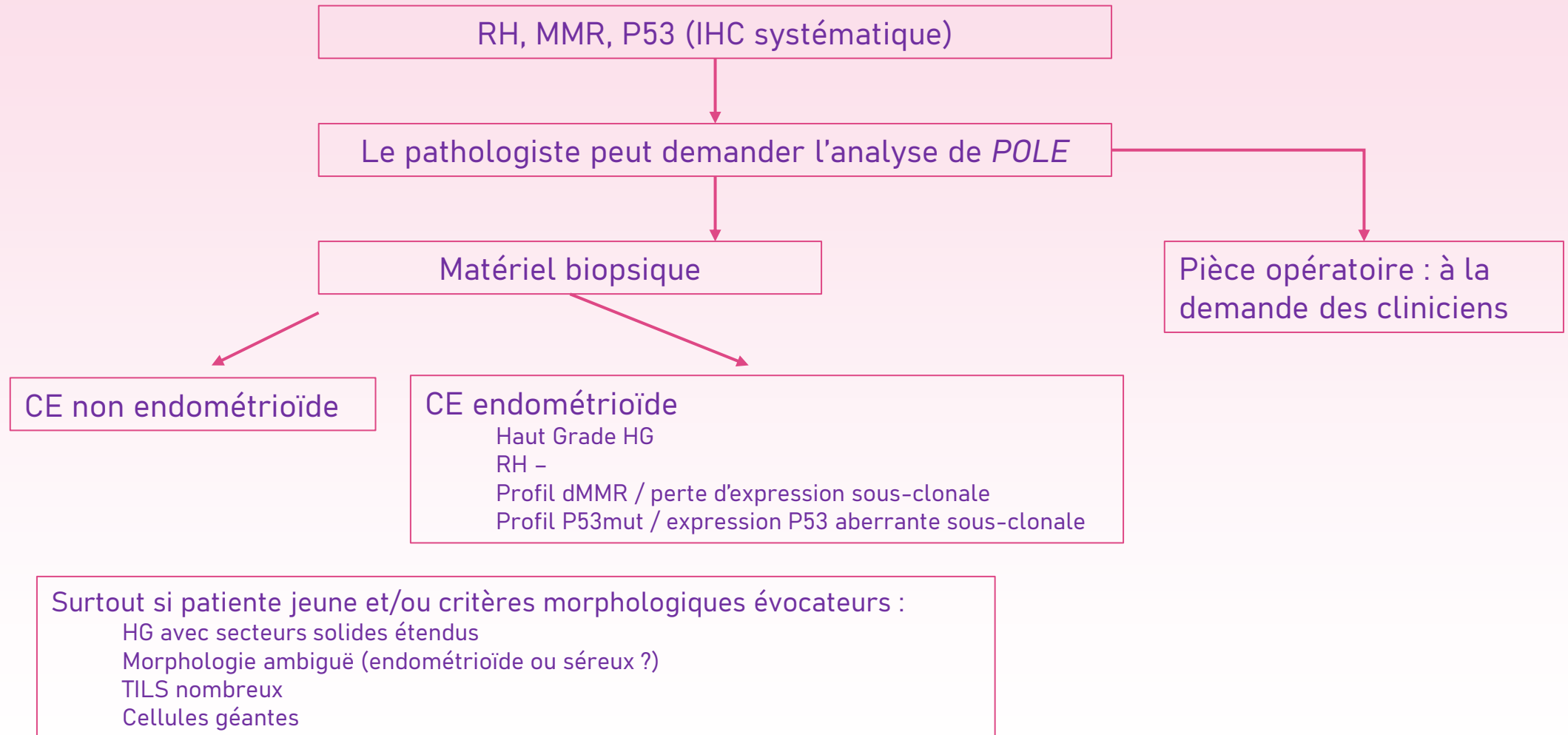
Liste limitative des variants délétères du gène *POLE*



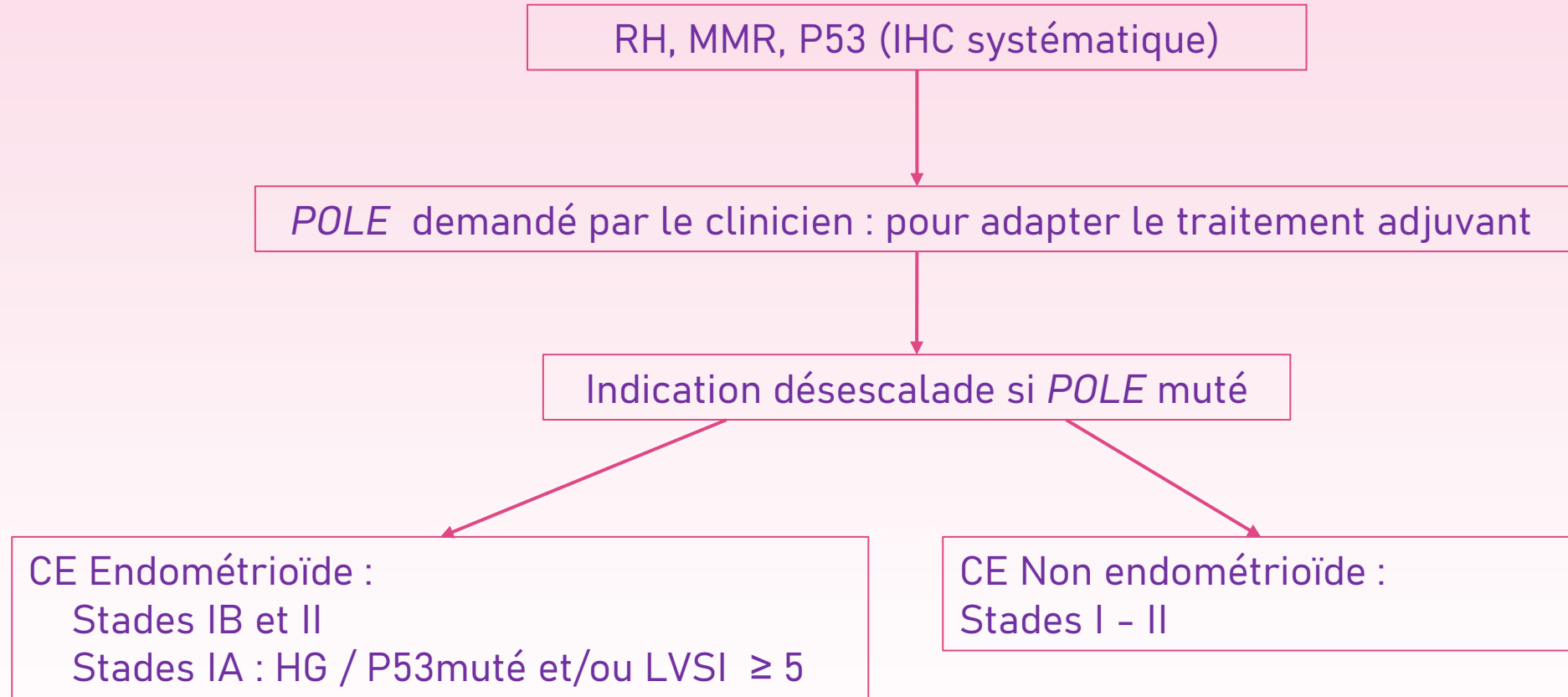
Liste limitative des variants délétères du gène *POLE*

Impact protéique	Position nucléotidique NM_006231.4	Exon	Recommandations	Références (1-2-3)
p.P286R	c.857C>G	Exon 9	Recherche obligatoire	30-60%
p.V411L	c.1231G>T c.1231G>C	Exon 13	Recherche obligatoire	20-30%
p.S459F	c.1376C>T	Exon 14	Recherche obligatoire	3-10%
p.S297F	c.890C>T	Exon 10	Recherche obligatoire	3-10%
p.A456P	c.1366G>C	Exon 14	Recherche obligatoire	3-10%
p.P436R	c.1307C>G	Exon 13	Recherche très fortement recommandée	0-3%
p.F367S	c.1100T>C	Exon 11	Recherche très fortement recommandée	0-3%
p.L424I	c.1270C>A	Exon 13	Recherche très fortement recommandée	0-3%
p.M444K	c.1331T>A	Exon 13	Recherche très fortement recommandée	0-3%
p.M295R	c.884T > G	Exon 9	Recherche très fortement recommandée	0-3%
p.D368Y	c.1102G>T	Exon 11	Recherche très fortement recommandée	0-3%

7. Du côté des pathologistes : Intégration du statut *POLE* pour la classification moléculaire des carcinomes de l'endomètre :



7. Du côté des cliniciens : quand demander impérativement le statut *POLE* ?



Nb : le niveau de preuve à ce jour est faible pour statuer d'une désescalade thérapeutique pour les stades III- *POLE* muté

7. Intégration de la classification moléculaire et notamment du statut *POLE*

- › Extraction d'ADN à partir du matériel tumoral inclus en paraffine
- › **Technique**
 - › Séquençage par NGS ou techniques ciblées (ddPCR/qPCR) des exons 9, 11, 12, 13 et 14 du domaine exonucléase du gène POLE
- › **Statut POLE**
 - › Cibles obligatoires – Recommandation minimale sur les 5 hotspots
 - › Cibles fortement recommandées – Préférable sur un criblage des **11 hotspots**
 - › Criblage complet comprenant les 5 exons du domaine exonucléase du gène POLE

7. Positionnement du NGS pour les cancers localisés de l'endomètre : panel de gènes

Pas de recommandation à ce jour pour réaliser systématiquement une analyse NGS

- › *POLE* : obligatoire – soit **5 hotspots**, soit sur 5 exons ou tout le domaine exonucléase (exons 9 à 14)
- › *TP53* : > 88% de concordance avec l'IHC. Distinction des variants avec surexpression ou perte d'expression
- › *MSI* : > 97% de concordance avec IHC / PCR. Validation spécifique des algorithmes en cours.
- › *MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2* : > 99% de concordance avec l'IHC (données colon).
Défaut pour le gène *PMS2*
- › *PTEN* : aucun impact sur la prise en charge. Forte prévalence
- › *BRCA1/2* : pas de recommandation. Prévalence trop faible ou discordance
- › *CTNNB1* : utilité en cours d'évaluation
- › *ARID1A* : utilité en cours d'évaluation

8. Prise en charge du ganglion sentinelle : technique (3 niveaux de coupe, IHC), limites

Avis experts

- › **Macroscopie** : nombre, taille des ganglions
- › Inclusion en totalité de tous les ganglions (tranches fines)
- › **Si ganglion N-**
 - › +++ Ultra-stadification et étude IHC (cytokératines)
 - › Pas de protocole standardisé mais dans les études pour tous les ganglions sentinelles en gynécologie, 3 niveaux de coupe séparés de 250-300 microns étaient réalisés, avec analyse IHC
- › Pas d'indication en extemporanée
- › **Définition des métastases ganglionnaires** : macrométastase (> 2 mm), micro-métastase (mi \geq 0,2 mm et \leq 2 mm), cellules tumorales isolées (< 0,2 mm)



**COURS
ST-PAUL**

RPC 2023