

Atypická endometrióza – přehled problematiky a vlastní zkušenosti

Jiří Lenz^{1,2}

¹ Patologicko-anatomické oddělení, Nemocnice Znojmo

² Ústav anatomie, histologie a embryologie, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární univerzita Brno

SOUHRN

Endometrióza je chronické, estrogen-dependentní, zánětlivé onemocnění, jehož podstatou je růst endometriotické tkáně v mimoděložních lokalitách. Z široké škály klinické manifestace endometriózy jsou chronická pánevní bolest, dysmenorea, dyspareunie a subfertilita hlavní symptomy signifikantně snižující kvalitu života postižených žen. I přes skutečnost, že je endometrióza považována za benigní onemocnění, sdílí některé rysy typické pro maligní nádory. Jedním z nich je abnormální morfolgie, v rámci které mohou být v ložiscích endometriózy přítomny atypie žlázkového epitelu nevykazující známky hyperplazie nebo se může jednat o glandulární hyperplazii, kterou mohou, ale nemusí doprovázet buněčné atypie. Tuto situaci reflektuje termín atypická endometrióza, jejíž diagnostické zařazení není snadné. Buněčné atypie těžkého stupně mohou totiž být reaktivního původu, a tak je vzájemné odlišení dysplastických a reaktivních změn ve tkáni endometriózy limitované a problematické. Naše pracovní skupina z vědeckého centra pro léčbu endometriózy Nemocnice Znojmo se v nedávné době atypickou endometriózou zabývala a poukázala na potenciální využití imunohistochemie v její diagnostice. Za použití jednoduchého imunohistochemického panelu s protilátkami proti estrogenovým receptorům, progesteronovým receptorům a nádorovému supresoru p53 jsme ve tkáni atypické endometriózy zjistili výrazně nižší míru exprese hormonálních receptorů a nárůst exprese p53 ve srovnání s normální (typickou) endometriózou. Vzhledem k nízkému počtu analyzovaných případů a nekonzistentním výsledkům studií zabývajících se hormonálními receptory (i jinými markery) v atypické endometrióze musí být námi popsán imunohistochemický panel ověřen na větším počtu případů. V rutinní histopatologické praxi není atypická endometrióza zažitou jednotkou. Je však důležité se s ní seznámit, neboť její přítomnost je spojena s častějším výskytem určité skupiny nádorů označovaných jako nádory asociované s endometriózou, zejména pak s endometroidním karcinomem a světloubuněčným karcinomem.

Klíčová slova: atypická endometrióza – nádory ovaria asociované s endometriózou – imunohistochemie – hormonální receptory – p53

Atypical Endometriosis – An Overview of the Issue and Personal Experiences

SUMMARY

Endometriosis is a chronic, estrogen-dependent, inflammatory disease characterized by the growth of endometriotic tissue outside the uterus. Among the wide spectrum of clinical manifestations of endometriosis, chronic pelvic pain, dysmenorrhea, dyspareunia and subfertility are the main symptoms that significantly reduce the quality of life of affected women. Despite the fact that endometriosis is considered a benign disease, it shares some features typical of malignant tumors. One of them is abnormal morphology, which indicates atypia of the glandular epithelium without signs of hyperplasia, or it may be glandular hyperplasia, which may or may not be accompanied by cellular atypia. This situation is reflected in the term atypical endometriosis, the diagnosis of which is not easy. Cellular atypia of a severe degree can be of reactive origin, so the mutual differentiation of dysplastic and reactive changes in endometriotic tissue is limited and problematic. Our working group from the scientific center for the treatment of endometriosis at the Znojmo Hospital recently dealt with atypical endometriosis and pointed out the potential utility of immunohistochemistry in its diagnosing. Using a simple immunohistochemical panel with antibodies against estrogen receptors, progesterone receptors, and the tumor suppressor p53, we found significantly lower levels of hormone receptor expression and increased p53 expression in atypical endometriosis compared to normal (typical) endometriosis. Due to the low number of cases analyzed and the inconsistent results of studies dealing with hormone receptors (and other markers) in atypical endometriosis, the usefulness of the immunohistochemical panel described in our study must be verified on a larger number of cases. In routine histopathological practice, atypical endometriosis is not a well-known entity. However, it is important to become familiar with it because its presence is associated with a higher incidence of a certain group of tumors known as endometriosis-associated cancers, especially endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma.

Keywords: atypical endometriosis – endometriosis-associated ovarian cancer – immunohistochemistry – hormone receptors – p53

Cesk Patol 2024; 60(4): 185–192

Endometrióza, kterou před více jak 150 lety objevil Karel Rokitský, představuje chronické, zánětlivé a estrogen-dependentní onemocnění, jehož podstatou je růst endometriotické tkáně v mimoděložních lokalitách. Z široké škály klinické manifestace endometriózy jsou chronická pánevní bolest, subfertilita, dysmenorea a dyspareunie hlavní symptomy

signifikantně snižující kvalitu života postižených žen. Sociální a ekonomické dopady endometriózy jsou velmi významné, neboť například ve Spojených státech amerických roční přímé i nepřímé výdaje spojené s endometriózou přesahují 20 miliard dolarů (1,2).

V současnosti je endometrióza vnímána jako benigní proces. U endometriózy lze však vyzorovat některé rysy, které charakterizují maligní nádory. Jedná se o invazi, metastatickou diseminaci, perineurální propagaci, novotvorbu cév, aneuploidii, ztrátu heterozygotnosti (LOH) a v neposlední řadě abnormální morfolgii (2,3). Již dlouhou dobu je známo, že ve tkáni endometriózy může dojít k rozvoji nádorového onemocnění. O maligní transformaci endometriózy se poprvé zmínil Sampson v roce 1925, který popsal endometriální karcinom ovaria vznikající v ložiscích endometriózy (4). Na tyto poznatky navázal

✉ Adresa pro korespondenci:

MUDr. Jiří Lenz, Ph.D.

Patologicko-anatomické oddělení, Nemocnice Znojmo

MUDr. Jana Janského 2675/11, 669 02 Znojmo 2

Tel.: 515 215 478

Fax.: 515 222 805

e-mail: jiri.lenz@gmail.com

v roce 1953 Scott, v jehož práci je uvedena možnost výskytu benigní endometriózy v blízkosti nádorů vaječníku (5) (v souvislosti s endometriózou nevykazující buněčné atypie budou v dalším textu používány termíny typická nebo benigní endometrióza). Všeobecně vzato, maligní transformace endometriózy je vzácná, postihuje přibližně 0,5 - 1 % lézí různých anatomických lokalit, přičemž u většiny případů je postiženo ovarium (6). Ve srovnání s běžnou populací je u pacientek s endometriózou celkově mírně vyšší riziko rozvoje nádorového onemocnění (1,4 vs. 1,9 %) (7). Podle některých epidemiologických studií může endometrióza ovaria vést k 3 až 8násobnému navýšení rizika rozvoje karcinomu ovaria (8). Míra tohoto rizika narůstá zejména u déle trvajícího postižení endometriózou (9).

Skupina ovariálních nádorů vyskytujících se v souvislosti s endometriózou je v literatuře označována jako nádory ovaria asociované s endometriózou (přeloženo z originálního termínu „endometriosis-associated ovarian cancer“, který je v literatuře znám taky pod zkratkou EAO). Při srovnání s karcinomy ovaria, u kterých není pozorována souvislost s endometriózou, disponují EAO některými specifiky – postihují mladší pacientky, v době stanovení diagnózy jsou v nižších stádiích, mají nižší stupeň malignity a jejich prognóza je příznivější (10). Převládajícími histologickými subtypy ve skupině EAO jsou světlobuněčný karcinom (CCC) a endometroidní karcinom, zatímco seromucinózní borderline nádor, low-grade endometriální stromální sarkom, adenosarkom, karcinosarkom, serózní borderline nádor a low-grade nebo high-grade serózní karcinom představují nádory vyskytující se s výrazně nižší frekvencí (11,12). EAO se ve vzácných případech mohou vyskytovat i u dětí. Příkladem je synchronní serózní borderline nádor a endometriální stromální sarkom vycházející ze stěny ovariálního endometriomu u 18měsíčního dítěte (13).

Objev EAO podnítl výzkumníky k hledání možných prekurzorových lézí této skupiny nádorů. Jednotlivé pracovní skupiny soustředily pozornost zejména na ovaria, revidovány byly případy ovariální endometriózy bez návaznosti na EAO i případy vykazující souvislost s EAO. Bylo zjištěno, že v glandulární komponentě mohou být přítomny buněčné i architektonické atypie. Pro tyto nálezy byl rezervován termín atypická endometrióza, který značí endometriózu s atypii žlázových epitelů nevykazující známky hyperplazie (první subtyp) nebo se jedná o endometriózu s glandulární hyperplazií, kterou mohou, ale nemusí doprovázet buněčné atypie (druhý subtyp) (14). Recentní publikace o atypické endometrióze zjišťují prognostický význam obou těchto subtypů při rozvoji EAO (15,16) (bližší pojednání na toto téma viz diskuze). Toto členění reflektuje taky současná WHO klasifikace nádorů ženského pohlavního systému, podle které může v ložiscích atypické endometriózy docházet k lokalizované proliferaci hustě seskupených žlázek, které vystylá cytologicky atypický epitel - tento nález pak připomíná atypickou endometriální hyperplazii/intraepiteliální neoplázii eutopického endometria. Častěji je však atypická endometrióza charakterizována změnami epiteliální výstelky endometriotické cesty, ve které epitel vykazuje různý stupeň stratifikace, dezorganizace a cytologické atypie, často taky metaplastické změny (17).

Podle literárních údajů i vlastního pozorování jsou cytologické atypie ve tkáni endometriózy nejčastěji pozorovány v ovariálních endometriomech (jako endometriom je označována cystická forma endometriózy). Mohou se vyskytovat fokálně (tj. postihovat jednu konkrétní oblast) nebo multifokálně. Morfologická kritéria atypické endometriózy byla definována v 80. letech minulého století autorskými dvojicemi Czernobilsky/Morris (18) a LaGrenade/Silverberg (19). Tato kritéria se vztahují na endometriální žlázové buňky a zahrnují (hyper)eosinofilní

cytoplazmu, zvětšená bledá nebo hyperchromní jádra se zvýšeným nukleocytoplazmatickým indexem a intermediální nebo high-grade polymorfii a v neposlední řadě taky hojně buněčné trsy s (pseudo)stratifikací.

Proces maligní transformace endometriózy nebyl doposud zcela objasněn. Ukazuje se, že důležitou roli sehrává několik faktorů jako je oxidační stres, cytokiny, genové mutace a zvýšené množství estrogenů v ložiscích benigní (typické) endometriózy (tj. endometriózy bez atypii) (20). Ve tkáni atypické endometriózy a EAO byly prokázány společné molekulární/genetické změny. Těmi jsou pokles exprese estrogenových receptorů (ER) i progesteronových receptorů (PR), nárůst exprese hepatocytárního jaderného faktoru 1 (HNF-1), somatické mutace genů *PTEN*, *ARID1A*, *PIK3CA*, *PPP2R1A*, *KRAS*, *CTNNB1* a vzácně taky mutace tumor supresorového genu *TP53*. Množství těchto mutací kontinuálně narůstá směrem od benigní endometriózy přes atypickou endometriózu až do EAO (21-27).

VLASTNÍ POZOROVÁNÍ

Problematikou endometriózy se naše pracovní skupina z vědeckého centra pro léčbu endometriózy Nemocnice Znojmo v nedávné době zabývala. V jedné imunohistochemické studii jsme porovnávali expresi hormonálních receptorů (ER a PR), nádorového supresoru p53 a markeru buněčné proliferace Ki-67 mezi eutopickým endometriem u pacientek bez endometriózy/adenomyózy, endometriózou v lymfatických uzlinách, hlubokou infiltrující endometriózou a atypickou endometriózou (28). Pro pochopení kontextu zmiňujeme, že v odborné literatuře o endometrióze jsou v současnosti rozlišovány 4 klinické formy endometriózy. Jedná se o hlubokou infiltrující endometriózu (ta postihuje stěvu, močového měchýře, střeva, močovodu nebo uterosakrální vazy nebo se jedná o léze zasahující více než 5 mm pod povrch peritonea; tato forma je v anglické literatuře známá pod zkratkou DIE – deep infiltrating endometriosis), cystickou ovariální endometriózu (ovariální endometriomy), typickou peritoneální endometriózu (ta je pozorovatelná okem během chirurgického výkonu) a diskrétní peritoneální endometriózu (ta se od všech ostatních forem liší v řadě parametrů – morfologických, epidemiologických a klinických) (29,30). Z důvodu potenciálně relevantních klinických konsekvencí byla do naší studie cíleně zařazena endometrióza postihující lymfatické uzliny (ta nespadá do žádné z rozeznávaných klinických forem tohoto onemocnění).

MATERIÁLY A METODY

Popis studované populace a tkáňových vzorků

Pracovali jsme se souborem čítajícím 40 pacientek postižených endometriózou, u kterých průměrný věk dosahoval 33,1 let (rozmezí 22 až 47 let). Všechny pacientky zařazené do naší studie byly premenopauzální. Devět ze 40 pacientek podstoupilo hormonální terapii (buď analogem hormonu uvolňujícího gonadotropin/GnRH nebo progestiny), která byla indikována pro léčbu endometriózy, dysfunkčního děložního krvácení nebo zabránění oplodnění (antikoncepce). Tkáňové vzorky lidské endometriózy byly rozděleny do dvou skupin na základě postižení lymfatických uzlin. Zatímco první skupinu tvořily případy endometriózy postihující lymfatické uzliny (celkem 12), do druhé skupiny byly zařazeny případy hluboké infiltrující endometriózy (tj. případy bez postižených lymfatických uzlin;

celkem 28). Případy s floridní fibrózou, zánětlivými nebo regresivními změnami nebyly do studie zahrnuty. Pro identifikaci atypické endometriózy ovaria jsme vyšetřili sérii 120 ovariálních endometriomů, ze kterých jsme vybrali 5 případů splňujících histopatologická kritéria atypické endometriózy. V naší studii byly analyzovány pouze případy atypické ovariální endometriózy s cytologickými atypii žlázových epitelii nevýkazující známky hyperplazie (tj. bez architektonických „atypii“). Jako kontrolní skupinu jsme použili eutopické endometrium celkem 16 žen, kterým nebyla diagnostikována endometrióza a/nebo adenomyóza a u kterých nebyly pozorovány poruchy menstruačního cyklu (tyto pacientky podstoupily hysterektomii pro cervikální intraepiteliální neoplázii (CIN), leiomyomy nebo chronickou pánevní bolest).

Imunohistochemie

Do imunohistochemické analýzy byly zařazeny celkem 4 protilátky – ER (klon SP1, naředěno výrobcem/RTU, Ventana Medical System Inc., USA), PR (klon 1E2, RTU, Ventana Medical System Inc., USA), p53 (polyklonální králičí protilátka, RTU, Ventana Medical System Inc., USA) a Ki-67 (klon 30-9, RTU, Ventana Medical System Inc., USA). Veškeré imunohistochemické barvení bylo provedeno na automatizovaném imunostaineru Benchmark Ultra (Ventana Medical System Inc., Oro Valley, Arizona, USA) za použití detekčního kitu ultraView Universal DAB (Ventana Medical System Inc.). Vzorky eutopického endometria a endometriózy byly u všech protilátek inkubovány po dobu 16 minut. Proces demaskování antigenu byl integrální součástí imunohistochemického barvení. Tohoto kroku bylo u všech protilátek dosaženo cestou teplem indukovaného demaskování epitopů (HIER, heat-induced epitope retrieval) za použití pufru na bázi kyseliny Trisethylendiamintetraoctové (EDTA) při pH 8,4 po dobu 64 minut a při teplotě 95 °C (Ventana Medical System Inc.). Jako vnější pozitivní kontroly sloužily vybrané lidské tkáně, konkrétně endometrium pro ER a PR, tonzila pro p53 a lymfatická uzlina pro Ki-67.

Hodnocení imunohistochemických reakcí

U všech analyzovaných protilátek byla za pozitivní považována pouze jaderná exprese, hodnoceny byly pouze endometriální žlázy (nikoliv endometriální stroma). Hodnoceno bylo jednak procento marker pozitivních buněk a jednak intenzita imunoreakce. Procento marker pozitivních buněk bylo hodnoceno ve světelném mikroskopu při 200- a 400násobném zvětšení. V každém vzorku jsme analyzovali minimálně šest tkáňových ložisek, ze kterých jsme stanovili procento marker pozitivních buněk. Hodnota pozitivita (cut off) byla nastavena na 1 %. Intenzita imunoreakce byla rozlišována na slabou, středně silnou a silnou (při malém zvětšení ve světelném mikroskopu je slabá pozitivita obtížně rozeznatelná, středně silná pozitivita bezpečně rozeznatelná a silná pozitivita velmi intenzivně rozeznatelná).

Výsledky

U eutopického endometria pacientek bez endometriózy a adenomyózy (kontrolní skupina) jsme dospěli k následujícím výsledkům. Expres ER byla maximální napříč proliferací fází (průměrně 98 %), mírný pokles byl zaznamenán v časné a vyvinuté sekreční fázi (průměrně 85 %), přičemž k signifikantnímu poklesu exprese došlo v pokročilé sekreční fázi menstruačního cyklu (průměrně 33 %). Expresní vzorec s progesteronovými receptory se podobal tomu s receptory estrogenovými, jediným rozdílem byl dřívější a výraznější pokles exprese, který nastal již ve vyvinuté sekreční fázi (průměrných

97 % v proliferací fázi, 95 % v časné sekreční fázi, 3 % ve vyvinuté a pokročilé sekreční fázi). Expres obou hormonálních receptorů klesala směrem do sekreční fáze a nebyla tak napříč menstruačním cyklem konstantní. Míra proliferace žlázových buněk měřená indexem Ki-67 se v průběhu menstruačního cyklu dynamicky měnila (průměrných 50 % v časné proliferací fázi, 70 % ve vyvinuté proliferací fázi, 17 % v pokročilé proliferací fázi, 28 % v časné sekreční fázi a 1 % ve vyvinuté a pokročilé sekreční fázi). Pokud jde o nádorový supresor p53, tak jeho exprese byla v kontrolní skupině napříč menstruačním cyklem velmi slabá (průměr 1 %, maximum 3 %). Pro úplnost uvádíme, že na základě jednotlivých parametrů imunoreakce s protilátkou p53 (konkrétně buněčné lokalizace pozitivita, rozsahu exprese a intenzity reakce) jsou v patologii ženského pohlavního ústrojí rozlišovány 2 typy exprese – aberantní (mutovaný) a wild-type (normální) (31). Imunofenotyp p53 ve tkáni eutopického endometria by spadl do kategorie wild-type.

Výsledky imunohistochemické analýzy u endometriózy v lymfatických uzlinách (skupina 1) a u hluboké infiltrujiící endometriózy (skupina 2) byly podobné těm u kontrolní skupiny. V proliferací fázi byla u obou skupin zjištěna silná a více než 90 % pozitivita obou hormonálních receptorů (jelikož všechny vzorky endometriózy v lymfatických uzlinách nabývaly proliferací vzhledu, nebylo možné porovnat endometriózu v lymfatických uzlinách s hlubokou infiltrujiící endometriózou a kontrolní skupinou v sekreční fázi menstruačního cyklu). Zjištěny byly podobné trendy exprese obou hormonálních receptorů u hluboké infiltrujiící endometriózy i u eutopického endometria (kontrolní skupina) v sekreční fázi menstruačního cyklu. U hluboké infiltrujiící endometriózy se v celé sekreční fázi exprese ER udržovala na více než 80 % (průměrných 87 %) (u eutopického endometria došlo k poklesu na průměrných 33 % v pokročilé sekreční fázi), hodnoty PR se pohybovaly v rozmezí 1 až 15 % (průměrných 7 %). Stejně jako u eutopického endometria byla zaznamenána minimální a slabá exprese p53 (průměr 1 %, maximum 4 %) a variabilní hodnoty proliferací indexu Ki-67 (průměrných 32 % v časné proliferací fázi, 44 % ve vyvinuté proliferací fázi, 10 % v pokročilé proliferací fázi a 15 % v sekreční fázi). Z pohledu těchto výsledků skupina endometriózy v lymfatických uzlinách nenaplnila naše očekávání. Zjistili jsme totiž obdobné histologické i imunohistochemické charakteristiky obou skupin endometriózy, což poukazuje na skutečnost, že endometrióza v lymfatických uzlinách a hluboká infiltrujiící endometrióza představují stejnou entitu (jinými slovy, endometrióza v lymfatických uzlinách se od hluboké infiltrujiící endometriózy z histologického a imunohistochemického pohledu nijak neodlišovala).

Imunofenotyp atypické endometriózy se v naší studii značně odlišoval od ostatních porovnávaných skupin. Případy atypické endometriózy vykazovaly signifikantní pokles exprese ER (průměrně 56 %, rozmezí 40-70 %), téměř úplnou absenci exprese PR (v průměru méně než 1 %) a nárůst exprese p53 na průměrných 26 % (rozmezí 20-27 %) (ve srovnání s minimálními hodnotami pozitivita p53 pozorovanými v eutopickém endometriu, endometrióze lymfatických uzlin a hluboké infiltrujiící endometrióze). Zjistili jsme tak inverzní korelaci exprese hormonálních receptorů a p53 ve tkáni atypické endometriózy. Tyto nálezy by mohly být podstatné z funkčního hlediska. Významný pokles množství obou hormonálních receptorů poukazuje na větší míru autonomie atypické endometriózy. Toto zjištění spolu se silnou a značně vyšší expresí p53 podporuje preneoplastický potenciál tkáně atypické endometriózy. Souhrn výsledků exprese analyzovaných markerů u všech skupin viz tab. 1.

Tabulka č. 1. Imunohistochemická exprese estrogenových receptorů, progesteronových receptorů, Ki-67 a p53 v kontrolní skupině, v endometrióze lymfatických uzlin (skupina 1), v hluboké infiltrující endometrióze (skupina 2) a v atypické ovariální endometrióze provedené v naší studii.

Marker	Kontrolní skupina*	Endometrióza v lymfatických uzlinách (skupina 1)**	Hluboká infiltrující endometrióza (skupina 2)*	Atypická endometrióza*°
ER	98/72 %	95 %	99/87 %	56 %
PR	97/29 %	93 %	98/7 %	<1 %
Ki-67	48/9 %	25 %	29/15 %	32 %
p53	1/1 %	1 %	1/1 %	26 %

ER, estrogenové receptory; PR, progesteronové receptory.

* průměrné hodnoty z celé proliferativní/celé sekreční fáze menstruačního cyklu.

** 9 případů endometriózy lymfatických uzlin odpovídalo časné proliferativní fázi menstruačního cyklu, 3 případy měly atrofický vzhled (ve skupině 1 nebyly sekreční změny pozorovány).

° bez rozlišení proliferativní/sekreční fáze menstruačního cyklu.

DISKUZE

V odborné literatuře existuje větší množství studií zabývajících se různými aspekty atypické endometriózy a s ní souvisejícími EAO. Ve tkáni atypické endometriózy bylo studováno vícero biomarkerů, jejichž analýza nepřinesla napříč studii konzistentní výsledky. V následujícím textu budou tyto biomarkery podrobněji představeny, uveden bude jejich funkční vztah k atypické endometrióze a EAO.

Hormonální receptory v atypické endometrióze a EAO

Výsledky studií zabývajících se hormonálními receptory v atypické endometrióze nejsou konzistentní. Touto problematikou se zabývalo celkem 11 studií, přičemž pouze 6 z nich (vč. té naší) prokázalo významný pokles exprese obou hormonálních receptorů v atypické endometrióze (a u některých studiích taky v EAO) ve srovnání s endometriózou nevykazující atypie (16,28,32-40) (tab. 2). Jak jsme již zmínili, ztráta exprese hormonálních receptorů ve tkáni atypické endometriózy a EAO může být součástí procesu kancerogeneze a poukazuje na ztrátu buněčné diference.

Naše studie zjistila významný pokles exprese ER i PR (na průměrných 56 % a 1 %) a nárůst exprese p53 (na průměrných 26 %) v atypické endometrióze ve srovnání s eutopickým endometriem a typickou endometriózou (28). Tyto nálezy tak poukazují na možnou roli imunohistochemie v diagnostice atypické endometriózy. Výsledky této studie se snažíme využít v rutinní histopatologické praxi a to u případů cystické ovariální endometriózy, jejíž buněčné atypie splňují morfologická kritéria pro atypickou endometriózu (v jiných anatomických lokalitách jsme signifikantní buněčné atypie ve tkáni endometriózy nepozorovali). Od ukončení studie jsme se během necelých 3 let setkali s 10 dalšími případy, jejichž imunofenotyp odhalil podobné trendy jako u případů atypické endometriózy zařazené do naší studie. Závěrem k naší studii uvádíme, že vůbec jako první popisuje jednoduchý imunohistochemický panel s protilátkami proti hormonálním receptorům a p53, který je nápomocný v diagnostice atypické endometriózy (výsledky této studie musí být dále ověřeny na větším počtu případech).

Pokud jde o další studii, tak Xiao s kolegy ve tkáni typické endometriózy, atypické endometriózy a CCC kromě hormonálních receptorů analyzovali expresi BAF250a (protein exprimovaný tumor supresorovým genem *ARID1A*) a HNF-1b. Autoři popisují podobný imunofenotyp u atypické endometriózy i v přilehlém CCC charakterizovaný poklesem exprese ER (84,6 % vs. 92,3 %), PR (76,9 % vs. 84,6 %) a BAF250a (38,5 % vs. 57,7 %) a nárůstem exprese HNF-1b (53,8 % vs. 92,3 %) (32). V retrospektivní studii Lina a spolupracovníků byla prokázána signifikantně klesající

míra exprese ER z typické endometriózy (83,3 %), přes atypickou endometriózu (33,3 %) do CCC (0 %) (33). Z pohledu hormonálních receptorů jsou výsledky těchto studií ve shodě se studií naší.

Dále zmíníme několik studií, jejichž výsledky jsou ve srovnání s těmi našimi částečně protichůdné. Del Carmen s kolegy ve své studii zjistili expresi ER i PR u všech 8 případů atypické endometriózy, zatímco ze skupiny 17 EAO byly pozitivní pouze 4 případy při barvení s ER a 6 případů při barvení s PR (36). V jedné další studii byl během nádorové progresy typické endometriózy do endometroidního karcinomu asociovaného s endometriózou (EnOC) zjištěn nárůst exprese ER α , p53 a Ki-67 (37). A konečně, v jedné rumunské studii Penciu se spolupracovníky popsali vyšší hodnoty positivity ER u 4 EAO (konkrétně u 2 EnOC a 2 high-grade serózních karcinomů) ve srovnání s okolní tkání typické ovariální endometriózy (v této studii nebyla atypická endometrióza nalezena) (39).

Jaderné a transkripční faktory v typické endometrióze, atypické endometrióze a EAO

V souvislosti s atypickou endometriózou a EAO byly kromě hormonálních receptorů studovány i jiné jaderné markery, jako jsou p53, Ki-67, p16, HNF-1 a hypoxií indukovaný transkripční faktor (HIF). Z této skupiny se budeme věnovat p53 a Ki-67, tj. markerům, které byly analyzovány také v naší studii.

Expresí nádorového supresoru p53 se zabývalo celkem 11 studií a jejich závěry jsou u některých z nich protichůdné (16,27,28,35,37-39,41-44). Jak již bylo uvedeno, naše práce prokázala vyšší a silnější expresi p53 ve tkáni atypické endometriózy ve srovnání s typickou endometriózou (28). K obdobným závěrům dospěli Sainz de la Cuesta s kolegy, kteří zjistili zvýšenou expresi p53 ve tkáni atypické endometriózy i u EAO, s narůstajícími hodnotami positivity od typické endometriózy k nádorům (42). Podobné výsledky reportovali taky Jiao s kolegy (35), Akahane s kolegy (37) a Ma s kolegy (43). Naproti tomu, Bayramoglu s kolegy nezjistili zvýšenou expresi p53 u atypické endometriózy ani u většiny analyzovaných případů EAO (44). V jiné retrospektivní studii byla pozitivita p53 prokázána pouze u 13 % případů EAO, přičemž ložiska přilehlé atypické endometriózy vykazovala stejný imunofenotyp jako nádorová tkáň (38).

Míru buněčné proliferace měřenou indexem Ki-67 ve tkáni atypické endometriózy zjišťovalo celkem 7 studií (16,27,28,36,39,45,46). Zatímco Akahane s kolegy (27), Ogawa s kolegy (45) a Yamamoto s kolegy (46) zjistili rostoucí hodnoty Ki-67 od typické endometriózy přes atypickou endometriózu až po EAO, Wepy s kolegy (16), naše studie (28), Del Carmen s kolegy (36) a Penciu s kolegy (39) nezjistili v této souvislosti žádné významné nálezy.

Tabulka č. 2. Souhrn výsledků exprese hormonálních receptorů (a jiných markerů) u atypické endometriózy a/nebo u nádorů ovaria asociovaných s endometriózou u doposud provedených studií.

Studie (rok)	IHC markery	AE (počet)	EAOC (počet)	Výsledky
Del Carmen et al. (2003)	VEGF, Ki-67, ER, PR	17	8	- Expresse ER u EAOC 23,5 % vs. 100 % u AE - Expresse PR u EAOC 35 % vs. 100 % u EA
Akahane et al. (2005)	ER α , ER β , PRA, PRB p53, Ki-67, c-erbB-2, EGFR	-	8	- Postupný pokles exprese ER α a PRA z BE do AE a CCC - Postupný nárůst ER α z AE do EnOC
Xiao et al. (2012)	BAF250a, HNF-1 β , p53, ER, PR	13	26	- U AE i EAOC pokles BAF250a, ER i PR a nárůst p53 a HNF-1 β
Lai et al. (2013)	ER, HNF-1 β , p53, PTEN, BAF250a, COX-2	-	79	- Expresse ER, HNF1 β , p53 a COX-2 prokázána u 34 (43 %), 30 (38 %), 10 (13 %) a 44 (56 %) EAOC - Ztráta exprese PTEN a BAF250a prokázána u 29 (37 %) a 37 (47 %) EAOC - Podobné výsledky u AE jako u EAOC - Expresse ER korelovala s p53 a vykazovala inverzní hodnoty vůči HNF1 β
Lin et al. (2014)	SRAP, ER	12	12	- Postupný pokles ER z AE do EAOC - Nárůst SRAP do EAOC
Niguez-Sevilla et al. (2019)	Ki-67, BAF250a, COX-2	23	26	- Vyšší Ki-67 u AE než u BE - Vyšší COX2 u BE než u AE - Vyšší pokles BAF250a u AE než u BE
Jiao et al. (2019); case report	CK7, CEA, p16, CA125, MUC6, p53, PTEN, ER, PR, CK20, PAX-8, CDX-2	1	1	- EAOMC pozitivní s CK7, CEA, p16, CA125, MUC6, p53 a negativní s PTEN, ER, PR, CK19, CK20, PAX-8, a CDX2
Păvăleanu et al. (2020)	E-cadherin, β -catenin, CK18, Bcl-2, ER, PR	-	19	- Vyšší exprese CK18 a E-cadherinu u BE než u EAOC - Silnější exprese β -catenin u EAOC než v BE - Silnější exprese ER i PR u BE než u EAOC
Penciu et al. (2020)	ER, PR, Ki-67, p53, p16, WT1, CD34, CD10	-	4	- Vyšší exprese ER u BE asociované s EAOSC než u BE asociované s EAOC - Vyšší exprese ER u EAOC než u BE - Pouze u EAOSC aberantní typ exprese p53
Lenz et al. (2021)	ER, PR, Ki-67, p53	5	-	- u AE ve srovnání s BE vyšší a silnější exprese p53 a pokles exprese ER i PR
Wepy et al. (2023)	ER, PR, Napsin A, Ki-67, p53, PMS2, MSH6 (IHC provedeno pouze u AE)	36	9	- Pozitivita ER u 97 % a PR u 76 % - nízký Ki-67 u wild-type p53 - zachovalá exprese PMS2 a MSH6 (MMR-proficientní) - Napsin A pozitivní u 39 %

AE, atypická endometrióza; BE, benigní (typická) endometrióza; CCC, světlolunčňný karcinom, EAOC, nádory ovaria asociované s endometriózou; EAOMC, mucinózní karcinom ovaria asociovaný s endometriózou; EAOSC, serózní karcinom ovaria asociovaný s endometriózou; EGFR, receptor epidermálního růstového faktoru; ER, estrogenové receptory; EnOC, endometrioidní karcinom asociovaný s endometriózou; IHC, imunohistochemie; PR, progesteronové receptory; SRAP, aktivátorový protein steroidních receptorů; VEGF, vaskulární endotelový růstový faktor.

Molekulární patologie

Ve tkáni atypické endometriózy jsou nejčastěji mutovány geny *ARID1A*, *KRAS*, *PTEN* a geny kódující hormonální receptory (ER a PR). Prokázány však byly i mutace genů zapojených do signální dráhy PI3K/Akt. Jedná se o intracelulární signální dráhu sehrávající důležitou roli při regulaci buněčného cyklu (47,48).

Mutacemionogenu *PIK3CA*, který je nedílnou součástí PI3K/Akt signální dráhy, se ve tkáni endometriózy zabývalo celkem 5 studií (24,49-52). U všech z nich byly prokázány mutace tohoto genu u atypické endometriózy nebo v přilehlém EAOC. Ve studii Yamamota a kolegů byly mutace *PIK3CA* zjištěny u 43 % analyzovaných případů CCC, u 88 % případů atypické endometriózy a 75 % případů typické endometriózy přilehlé k nádorové tkáni CCC (24). Tato data poukazují na skutečnost, že mutace genu *PIK3CA*, vyskytující se s vysokou frekvencí v domnělých prekursorových lézích CCC, jsou časnou událostí v procesu tumorigeneze a iniciují maligní transformaci benigní endometriózy. Stejná skupina autorů v další studii prokázala, že většina z *PIK3CA* mutovaných CCC byla imunohistochemicky *ARID1A* deficientních. Rovněž ve skupině prekursorových lézí (tj. typické a atypické endometriózy přilehlé k EAOC) byly všechny případy s prokázanou mutací *PIK3CA* deficientní v průkazu *ARID1A* (konkrétně byla prokázána ztráta exprese *ARID1A* ve žlázové komponentě

endometriózy). A konečně všechny případy endometriózy, které byly lokalizovány dostatečně daleko od *ARID1A*-deficientních EAOC, vykazovaly silnou a difuzní imunoreaktivitu *ARID1A* (49). Tyto výsledky naznačují, že stejně jako mutace *PIK3CA* je i ztráta exprese proteinu *ARID1A* časnou událostí při rozvoji CCC, s možností vzájemné regulace signální dráhy PI3K/Akt s expresí *ARID1A* během tumorigeneze ovariální endometriózy.

Produktem genu *ARID1A* je protein BAF250a, který je jednou z komplementárních podjednotek komplexu SWI-SNF, o kterém se předpokládá, že propůjčuje specifitu při regulaci genové exprese. Celkem 8 studií popisuje aberace genové/proteinové exprese *ARID1A* a BAF250a u EAOC a atypické endometriózy a to v širokém rozmezí 23,8 až 100 % (15,21,32,38,49,52-54). Tak například Wiegand se spolupracovníky u 2 analyzovaných případů CCC zjistili mutace *ARID1A* a ztrátu exprese BAF250a u nádorové tkáni i v přilehlé atypické endometrióze, zatímco vzdálená ložiska typické endometriózy tyto změny nevykazovaly (21). Kato se spolupracovníky u pacientek s EAOC odhalili narůstající míru ztráty exprese BAF250a od typické endometriózy (19 %) přes atypickou endometriózu (26 %) do EAOC (39 %), ve srovnání s 6 % detekovanými u typické endometriózy u kontrolní skupiny pacientek bez EAOC (53).

Jak již bylo uvedeno, negativním regulátorem signální dráhy PI3K/Akt/mTOR je gen *PTEN*. Produktem tohoto genu je tumor supresorová fosfatáza, která inhibuje signální dráhu aktivace proteinkinázy B. Mutacemi genu *PTEN* ve tkáni atypické endometriózy se doposud zabývalo 5 studií s částečně kontroverzními výsledky (35,38,43,55,56). V jedné z nich byly LOH, mikrosatelitová nestabilita (MSI) a mutace *PTEN*, způsobující funkční inaktivaci tohoto genu, přítomny u EAO, typické endometriózy nebo u atypické endometriózy (55). Přítomnost těchto genetických změn v prekurzorových lézích poukazuje na jejich účast v časných stádiích tumorigeneze endometriózy. V jiné studii však byla zjištěna vyšší frekvence mutací *PTEN* a *TP53* u EAO ve srovnání s typickou a atypickou endometriózou (tento nálezn tak stojí proti výskytu mutací obou genů na počátku maligní transformace endometriózy) (43).

Pokud jde o onkogen *KRAS*, tak u 2 studií byly zjištěny aktivční mutace u EAO nebo u atypické endometriózy a taky souvislost mezi expresí *KRAS* a aktivací signální dráhy NF- κ B (56,57). Na rozdíl od těchto zjištění Amemiya s kolegy ve své případové studii prokázali *KRAS* mutace pouze u EAO (nikoliv u typické a atypické endometriózy), což naopak poukazuje na roli genetických změn genu *KRAS* v pozdních stádiích maligní transformace endometriózy (58).

Jak z jednotlivých studií vyplývá, tak somatické mutace genů *KRAS*, *PTEN*, *PIK3CA* a *ARID1A* byly kromě EAO a atypické endometriózy identifikovány taky ve tkáni typické endometriózy. Ve skupině hluboké infiltruující endometriózy (DIE) byly nalezeny u 26 % případů (v případě nepřítomnosti buněčných a/nebo architektonických atypií patří DIE z histomorfologického hlediska do skupiny typické endometriózy). Je velmi zajímavé, že genetické změny v DIE jsou ve srovnání s genetickými změnami v ovariální endometrióze asociovány s výrazně nižším rizikem maligní transformace. Na tento nálezn poukazuje skutečnost, že nádorové změny ve tkáni mimoovariální endometriózy se ve srovnání s ovariální endometriózou vyskytují s nižší frekvencí (59). Proto se zdá, že specifickou roli v přeměně ovariální endometriózy v EAO hraje mikroprostředí ovaria (60).

Stejně jako u jiných nádorových onemocnění lze nádorovou transformaci ovariální endometriózy vysvětlit teorií dvou zásahů („two hits“ hypothesis). Během tohoto procesu sehrávají důležitou roli reaktivní formy kyslíku (ROS). Ty ve tkáni endometriózy vznikají degradací hemoglobinu (uvolňuje se volný hem a katalytické železo) obsaženého v přítomné krvi (ve tkáni endometriózy dochází k opakujícím se hemoragiím). ROS stimulují oxidační stres a způsobují peroxidaci lipidů, což vede k poškození deoxyribonukleové kyseliny (DNA).

Pro iniciaci procesu tumorigeneze ovariální endometriózy jsou tedy zcela zásadní mutace tumor supresorového genu *ARID1A*, které spolu s aktivací signální dráhy PI3K-Akt-mTOR umožňují mutované žlázoé buňce uniknout apoptóze vyvolané zvýšeným oxidačním stresem. Hromadění onkogenních mutací v atypické endometrióze může nakonec vést k rozvoji EAO (zejména EnOC a CCC). Z uvedených dat vyplývá, že ztráta exprese *ARID1A* a aktivace PI3K/Akt jsou během kancerogeneze ovariální endometriózy funkčně propojeny a mohou být na sobě závislé (47).

Morfologické subtypy atypické endometriózy

Jak již bylo zmíněno, recentní publikace rozlišují dva morfologické subtypy atypické endometriózy (15,16). Tím prvním je endometrióza s atypickými žlázoé epitelu nevykazující známky hyperplazie, zatímco definujícím rysem druhého subtypu je glandulární hyperplazie, kterou mohou, ale nemusí doprovázet buněčné atypie. V jedné španělské studii Sevilla s kolegy analyzovali sérii 23 případů atypické endometriózy, ze kterých 11

odpovídalo prvnímu subtypu a 12 druhému subtypu atypické endometriózy. U 9 případů byl současně přítomen EAO, přičemž 8 z nich odpovídalo druhému subtypu a pouze 1 případ splňoval morfologická kritéria prvního subtypu atypické endometriózy. Tato studie tak odhalila majoritní výskyt prvního subtypu u případů bez EAO, zatímco druhý subtyp atypické endometriózy doprovázel většinu EAO (15).

Je třeba mít na paměti, že buněčné atypie těžkého stupně mohou být reaktivního původu, což značně omezuje spolehlivé rozlišení reaktivních a dysplastických změn v ložiscích endometriózy. Tvzení, že atypická endometrióza není pouhou reaktivní změnou na přítomný záněť, ale disponuje prekancerózním potenciálem, je podloženo skutečností, že celulární atypie jsou v ložiscích endometriózy přítomny také v úsecích bez zánětlivé aktivity. Tomuto tématu se věnovali autoři výše uvedené španělské studie (15). U obou subtypů atypické endometriózy se snažili odlišit reaktivní atypie od dysplastických změn, a to cestou imunohistochemického barvení s protilátkami proti COX2, BAF250a a Ki-67. Při srovnání typické a atypické endometriózy byla vyšší míra exprese COX2 zjištěna u případů typické endometriózy, což poukazuje na významnější podíl zánětlivé složky v tomto typu tkáně. Ve skupině atypické endometriózy byla pozitivita COX2 zjištěna u 80 % případů prvního subtypu a 20 % případů druhého subtypu. Tyto výsledky poukazují na skutečnost, že první subtyp atypické endometriózy je spíše důsledkem reaktivních změn na probíhající záněť a nemá významný maligní potenciál. Tuto hypotézu dále zesiluje fakt, že ztráta exprese BAF250a byla zjištěna u 9 % případů prvního subtypu a 40 % případů druhého subtypu atypické endometriózy.

Rovněž druhá ze studií zjišťující prognostický význam jednotlivých subtypů atypické endometriózy prokázala signifikantně vyšší výskyt glandulární hyperplazie (druhý subtyp) ve srovnání se solitárními buněčnými atypickými (první subtyp) u případů souvisejících s EAO (16).

My jsme se v naší studii u případů atypické endometriózy (28) drželi morfologických kritérií popsaných Czernobilským s Morrisem (18) a LaGrenadem se Silverbergem (19). Tato kritéria se vztahují na endometriální žlázoé buňky. V případě atypické endometriózy jsme se tak omezili na buněčné atypie žlázoých epitelii (z pohledu dvou výše uvedených studií by se jednalo o první subtyp atypické endometriózy). Do kategorie atypické endometriózy lze však ze všeobecného hlediska zařadit taky případy glandulární hyperplazie (druhý subtyp). V takovém případě by se nám skupina atypické endometriózy celkově rozšířila o případy s neatypickou glandulární hyperplazií, kterou jsme v naší studii pozorovali u 20 % případů (u 15 % z nich byly současně pozorovány cystické změny). Ložiska endometriózy s atypickou hyperplazií jsme v naší sestavě neidentifikovali. Nutno podotknout, že všechny případy atypické endometriózy byly lokalizovány na ovariu a žádný z nich nevykazoval známky glandulární hyperplazie (u všech se jednalo o endometriomy se solitárními atypickými epitelii). Případy s neatypickou hyperplazií jsme pozorovali pouze v mimoovariálních lokalizacích ve tkáni DIE. Pro úplnost uvádíme, že u všech případů atypické endometriózy ovaria byly doprovodné zánětlivé změny pouze mírné (případy s floridními zánětlivými změnami nebyly do skupiny atypické endometriózy zařazeny).

V literatuře je incidence atypické endometriózy bez souvislosti s EAO udávána v širokém rozsahu 1,7 až 32,3 %, zatímco v návaznosti na EAO dosahuje 4,4 až 22,8 % (61). Tyto hodnoty poukazují na výraznou interobservační variabilitu a potvrzují obtížné postavení atypické endometriózy během diagnostiky. My jsme ve dvouletém období vyzorovali 4,2 % incidence atypické endometriózy ovaria (5 ze 120 ovariálních endometriomů). U žádného z diagnostikovaných případů nebyla doposud

maligní transformace prokázána. Tyto zjištění poukazují na skutečnost, že u většiny ovariálních endometriomů jsou buněčné atypie bez doprovodné hyperplazie důsledkem reaktivních/regresivních změn a jejich maligní potenciál je tak nízký (v souladu s výsledky obou výše uvedených studií).

ZÁVĚR

Atypická endometrióza je z klinického i morfologického hlediska enigmatickou entitou. V důsledku častého výskytu výrazných zánětlivých a regresivních změn v ložiscích endometriózy je správné diagnostické zařazení značně problematické. Na základě naší studie i následného vlastního pozorování jsme poukázali na možnou roli imunohistochemie v diagnostice atypické endometriózy s využitím jednoduchého panelu s protilátkami proti hormonálním receptorům a nádorovému supresoru p53. Pokles hormonálních receptorů poukazuje na větší stupeň autonomie atypické endometriózy. Tento nálezný spolu s nárůstem exprese p53 podporuje preneoplastický potenciál tkáně atypické endometriózy.

Z morfologického hlediska se ukazuje jako významné rozlišovat mezi atypickou endometriózou s buněčnými atypii nevykazující známky hyperplazie a atypickou endometriózou s hyperplazií. Druhý jmenovaný subtyp se na rozdíl od toho prvního většinou vyskytuje v návaznosti na EAOC, což poukazuje

na výrazně vyšší premaligní potenciál ve srovnání s prvním subtypem.

V rutinní histopatologické praxi není atypická endometrióza zažitou jednotkou. Je však důležité se s ní seznámit, neboť její přítomnost je spojena s častějším výskytem určité skupiny nádorů (EAOC), zejména pak s endometroidním karcinomem a světlobuněčným karcinomem. Tato skutečnost podtrhuje význam rozpoznání atypické endometriózy.

Histopatologické vyšetření endometriózy všech anatomických lokalit, zejména pak ovariální endometriózy, by tak ve výsledkovém protokolu mělo obsahovat uvedení, jsou-li přítomny architektonické a/nebo buněčné atypie. V pozitivním případě by měla být stanovena diagnóza atypické endometriózy a měl by být uveden doprovodný komentář upozorňující na možnost rozvoje EAOC s nutností dlouhodobého sledování postižených pacientek.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla podpořena projektem ITA Veterinární univerzity Brno č. 201011.

PROHLÁŠENÍ

Autor práce prohlašuje, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku není ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou. Toto prohlášení se týká i všech spoluautorů.

LITERATURA

1. **Cramer DW, Missmer SA.** The epidemiology of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 955: 11-22; discussion 34-6, 396-406.
2. **Lenz J, Chvátal R, Fiala L,** eds. Endometrióza. Grada Publishing; 2021: 25-57.
3. **Thomas EJ, Campbell IG.** Molecular genetic defects in endometriosis. *Gynecol Obstet Incest* 2000; 50 Suppl 1: 44-50.
4. **Sampson JA.** Endometrial carcinoma of the ovary arising in endometrial tissue in that organ. *Arch Surg* 1925; 10:1.
5. **Scott RB.** Malignant changes in endometriosis. *Obstet Gynecol* 1953; 2(3): 283-289.
6. **Munksgaard PS, Blaakaer J.** The association between endometriosis and ovarian cancer: a review of histological, genetic and molecular alterations. *Gynecol Oncol* 2012; 124(1):164-169.
7. **Matias-Guiu X, Stewart CJ.** Endometriosis-associated ovarian neoplasia. *Pathology* 2018; 50(2): 190-204.
8. **Buis CC, van Leeuwen FE, Mooij TM, Burger CW; OMEGA Project Group.** Increased risk for ovarian cancer and borderline ovarian tumours in subfertile women with endometriosis. *Hum Reprod* 2013; 28(12): 3358-3369.
9. **Rossing MA, Cushing-Haugen KL, Wicklund KG, Doherty JA, Weiss NS.** Risk of epithelial ovarian cancer in relation to benign ovarian conditions and ovarian surgery. *Cancer Causes Control* 2008; 19(10): 1357-1364.
10. **Oral E, Ilvan S, Tustas E, et al.** Prevalence of endometriosis in malignant epithelial ovary tumours. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; 109(1): 97-101.
11. **Brinton LA, Sakoda LC, Sherman ME, et al.** Relationship of benign gynecologic diseases to subsequent risk of ovarian and uterine tumors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(12): 2929-2935.
12. **Pearce CL, Templeman C, Rossing MA, et al.** Association between endometriosis and risk of histological subtypes of ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Lancet Oncol* 2012; 13(4): 385-394.
13. **Ho RS, Chan GC, Ha SY, Ip PP.** Endometriosis-associated serous borderline tumor and endometrial stromal sarcoma of the ovary: a report of a rare lesion in an infant. *Int J Gynecol Pathol* 2012; 31(1): 98-102.
14. **Mikami, Y.** Endometriosis-related ovarian neoplasms: Pathogenesis and histopathologic features. *Diagn Histopathol* 2014; 20: 357-363.
15. **Ñiguez Sevilla I, Machado Linde F, Marín Sánchez MDP, et al.** Prognostic importance of atypical endometriosis with architectural hyperplasia versus cytologic atypia in endometriosis-associated ovarian cancer. *J Gynecol Oncol* 2019; 30(4):e63.
16. **Wepy C, Nucci MR, Parra-Herran C.** Atypical Endometriosis: Comprehensive Characterization of Clinicopathologic, Immunohistochemical, and Molecular Features. *Int J Gynecol Pathol* 2024; 43(1): 70-77.
17. **Stewart CJR, Ayhan A, Fukunaga M, Huntsman DG.** Endometriosis and related conditions. In: **WHO Classification of Tumours Editorial Board.** Female genital tumours (5th ed). Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2020: 170-173.
18. **Czernobilsky B, Morris WJ.** A histologic study of ovarian endometriosis with emphasis on hyperplastic and atypical changes. *Obstet Gynecol* 1979; 53(3): 318-323.
19. **LaGrenade A, Silverberg SG.** Ovarian tumors associated with atypical endometriosis. *Hum Pathol* 1988; 19(9): 1080-1084.
20. **Větvicka V, Fiala L, Garzon S, Buzzaccarini G, Terzic M, Laganà AS.** Endometriosis and gynaecological cancers: Molecular insights behind a complex machinery. *Prz. Menopauzalny* 2021; 20(4): 201-206.
21. **Wiegand KC, Shah SP, Al-Agha OMet al.** ARID1A Mutations in Endometriosis-Associated Ovarian Carcinomas. *N Engl J Med* 2010; 363(16): 1532-1543.
22. **Wiegand KC, Lee AF, Al-Agha OM, et al.** Loss of BAF250a (ARID1A) is frequent in high-grade endometrial carcinomas. *J Pathol* 2011; 224(3): 328-333.
23. **Sato N, Tsunoda H, Nishida M, et al.** Loss of heterozygosity on 10q23.3 and mutation of the tumor suppressor gene PTEN in benign endometrial cyst of the ovary: Possible sequence progression from benign endometrial cyst to endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma of the ovary. *Cancer Res* 2000; 60(24): 7052-7056.
24. **Yamamoto S, Tsuda H, Takano M, Iwaya K, Tamai S, Matsubara O.** PIK3CA mutation is an early event in the development of endometriosis-associated ovarian clear cell adenocarcinoma. *J Pathol* 2011; 225: 189-194.
25. **Kato N, Sasou SI, Motoyama T.** Expression of hepatocyte nuclear factor-1beta (HNF-1beta) in clear cell tumors and endometriosis of the ovary. *Mod Pathol* 2005; 19(1): 83-89.
26. **Fujimura M, Hidaka T, Kataoka K, et al.** Absence of Estrogen Receptor-Expression in Human Ovarian Clear Cell Adenocarcinoma Compared with Ovarian Serous, Endometrioid, and Mucinous Adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2001; 25(5): 667-672.

27. **Akahane T, Sekizawa A, Purwosunu Y, Nagatsuka M, Okai T.** The Role of p53 Mutation in the Carcinomas Arising from Endometriosis. *Int J Gynecol Pathol* 2007; 26(3): 345–351.
28. **Lenz J, Chvátal R, Fiala L, Konečná P, Lenz D.** Comparative immunohistochemical study of deep infiltrating endometriosis, lymph node endometriosis and atypical ovarian endometriosis including description of a perineural invasion. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2021; 165(1): 69–79.
29. **Schenken RS, Guzick DS.** Revised endometriosis classification: 1996. *Fertil Steril* 1997; 67(5): 815–816.
30. **Johnson NP, Hummelshoj L, Adamson GD, et al.** World Endometriosis Society Sao Paulo Consortium. *Hum Reprod* 2017; 32(2): 315–324.
31. **Köbel M, Ronnett BM, Singh N, Soslow RA, Gilks CB, McCluggage WG.** Interpretation of P53 Immunohistochemistry in Endometrial Carcinomas: Toward Increased Reproducibility. *Int J Gynecol Pathol*. 2019;38 Suppl 1(Iss 1 Suppl 1): S123–S131.
32. **Xiao W, Awadallah A, Xin W.** Loss of ARID1A/BAF250a expression in ovarian endometriosis and clear cell carcinoma. *Int. J. Clin. Exp. Pathol* 2012; 5(7): 642–650.
33. **Lin K, Zhan H, Ma J, et al.** Increased steroid receptor RNA activator protein (SRAP) accompanied by decreased estrogen receptor-beta (ER-β) levels during the malignant transformation of endometriosis associated ovarian clear cell carcinoma. *Acta Histochem* 2014; 116(5): 878–882.
34. **Andersen CL, Boisen MM, Sikora MJ, et al.** The Evolution of Estrogen Receptor Signaling in the Progression of Endometriosis to Endometriosis-Associated Ovarian Cancer. *Horm. Cancer* 2018; 9(6): 399–407.
35. **Jiao Y, Lu B.** Poorly differentiated mucinous carcinoma with signet ring cells in an ovarian endometriotic cyst: A case report. *Diagn. Pathol* 2019; 14(1): 73.
36. **Del Carmen MG, Sehdev AES, Fader AN, et al.** Endometriosis-associated ovarian carcinoma: Differential expression of vascular endothelial growth factor and estrogen/progesterone receptors. *Cancer* 2003; 98: 1658–1663.
37. **Akahane T, Sekizawa A, Okuda T, Kushima M., Saito H, Okai T.** Disappearance of Steroid Hormone Dependency During Malignant Transformation of Ovarian Clear Cell Cancer. *Int. J. Gynecol. Pathol* 2005; 24(4): 369–376.
38. **Lai CR, Hsu CY, Chen YJ, Yen MS, Chao KC, Li AFY.** Ovarian cancers arising from endometriosis: A microenvironmental biomarker study including ER, HNF1β, p53, PTEN, BAF250a, and COX-2. *J. Chin. Med. Assoc* 2013; 76(11): 629–634.
39. **Penciu RC, Postolache I, Steriu L, et al.** Is there a relationship in-between ovarian endometriosis and ovarian cancer? Immunohistochemical profile of four cases with coexisting ovarian endometriosis and cancer. *Rom J Morphol Embryol* 2020; 61: 157–165.
40. **Pavaleanu I, Lozneau L, Balan RA, et al.** Insights into molecular pathways of endometriosis and endometriosis-related ovarian carcinoma. *Rom J Morphol Embryol* 2021; 61(3): 739–749.
41. **Nezhat F, Cohen C, Rahaman J, Gretz H, Cole, P, Kalir, T.** Comparative immunohistochemical studies of bcl-2 and p53 proteins in benign and malignant ovarian endometriotic cysts. *Cancer* 2002; 94(11): 2935–2940.
42. **de la Cuesta RS, Izquierdo M, Cañamero M, Granizo JJ, Manzarbeitia F.** Increased prevalence of p53 overexpression from typical endometriosis to atypical endometriosis and ovarian cancer associated with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 113(1): 87–93.
43. **Ma X, Hui Y, Lin L, Wu Y, Zhang X, Qin X.** Possible relevance of tumor-related genes mutation to malignant transformation of endometriosis. *Eur J Gynaecol Oncol* 2016; 37(1): 89–94.
44. **Bayramodlu H, Duzcan E.** Atypical epithelial changes and mutant p53 gene expression in ovarian endometriosis. *Pathol Oncol Res* 2001; 7(1): 33–38.
45. **Ogawa S, Kaku T, Amada S, et al.** Ovarian Endometriosis Associated with Ovarian Carcinoma: A Clinicopathological and Immunohistochemical Study. *Gynecol Oncol* 2000; 77(2): 298–304.
46. **Yamamoto S, Tsuda H, Miyai K, Takano M, Tamai S, Matsubara O.** Cumulative alterations of p27Kip1-related cell-cycle regulators in the development of endometriosis-associated ovarian clear cell adenocarcinoma. *Histopathology* 2010; 56(6): 740–749.
47. **Králíčková M, Laganà AS, Ghezzi F, Vetvička V.** Endometriosis and risk of ovarian cancer: What do we know? *Arch Gynecol Obstet* 2020; 301(1): 1–10.
48. **Kajo K, Vallová M, Bíró C, et al.** Molekulová patológia endometriálneho karcinómu – prehľad. *Cesk Patol* 2015;51(2):65–73.
49. **Yamamoto S, Tsuda H, Takano M, Tamai S, Matsubara O.** Loss of ARID1A protein expression occurs as an early event in ovarian clear-cell carcinoma development and frequently coexists with PIK3CA mutations. *Mod Pathol* 2011; 25(4): 615–624.
50. **Anglesio MS, Bashashati A, Wang YK, et al.** Multifocal endometriotic lesions associated with cancer are clonal and carry a high mutation burden. *J Pathol* 2015; 236(2): 201–209.
51. **Matsumoto T, Yamazaki M, Takahashi H, et al.** Distinct β-catenin and PIK3CA Mutation Profiles in Endometriosis-Associated Ovarian Endometrioid and Clear Cell Carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2015; 144: 452–463.
52. **Er TK, Su YF, Wu CC, et al.** Targeted next-generation sequencing for molecular diagnosis of endometriosis-associated ovarian cancer. *J Mol Med* 2016; 94(7): 835–847.
53. **Kato M, Takano M, Miyamoto M, et al.** Effect of ARID1A/BAF250a expression on carcinogenesis and clinicopathological factors in pure-type clear cell adenocarcinoma of the ovary. *Mol Clin Oncol* 2016; 5(4): 395–401.
54. **Stamp JP, Gilks CB, Wesseling M, et al.** BAF250a Expression in Atypical Endometriosis and Endometriosis-Associated Ovarian Cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2016; 26(5): 825–832.
55. **Ali-Fehmi R, Khalifeh I, Bandyopadhyay S, et al.** Patterns of Loss of Heterozygosity at 10q23.3 and Microsatellite Instability in Endometriosis, Atypical Endometriosis, and Ovarian Carcinoma Arising in Association with Endometriosis. *Int J Gynecol Pathol* 2006; 25(3): 223–229.
56. **Suryawanshi S, Huang X, Elishaev E, et al.** Complement Pathway Is Frequently Altered in Endometriosis and Endometriosis-Associated Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 6163–6174.
57. **Zhang C, Wang X, Anaya Y, et al.** Distinct molecular pathways in ovarian endometrioid adenocarcinoma with concurrent endometriosis. *Int J Cancer* 2018; 143(10): 2505–2515.
58. **Amemiya S, Sekizawa A, Otsuka J, Tachikawa T, Saito H, Okai T.** Malignant transformation of endometriosis and genetic alterations of K-ras and microsatellite instability. *Int J Gynecol Obstet* 2004; 86: 371–376.
59. **Anglesio MS, Papadopoulos N, Ayhan A, et al.** Cancer-Associated Mutations in Endometriosis without Cancer. *N Engl J Med* 2017; 376(19): 1835–1848.
60. **Cochrane DR, Tessier-Cloutier B, Lawrence KM, et al.** Clear cell and endometrioid carcinomas: Are their differences attributable to distinct cells of 772 origin? *J Pathol* 2017; 243(1): 26–36.
61. **Fukunaga M, Nomura K, Ishikawa E, Ushigome S.** Ovarian atypical endometriosis: its close association with malignant epithelial tumors. *Histopathology* 1997; 30(3): 249–255.