

# Výhody sekvenování nové generace (NGS) v molekulární klasifikaci endometriálních karcinomů – naše zkušenosti s 270 případy

## Advantages of next-generation sequencing (NGS) in the molecular classification of endometrial carcinomas – our experience with 270 cases

K. Michalová<sup>1,2</sup>, J. Presl<sup>3</sup>, A. Straková-Peteříková<sup>1,2</sup>, O. Ondič<sup>1,2</sup>, T. Vaněček<sup>2</sup>, N. Hejhalová<sup>4</sup>, P. Holub<sup>4</sup>, P. Slavík<sup>4</sup>, A. Hluchý<sup>4</sup>, P. Gettse<sup>3</sup>, O. Daum<sup>1,2</sup>, M. Švajdler<sup>1,2</sup>, M. Michal<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Šiklův ústav patologie, LF UK a FN Plzeň

<sup>2</sup> Bioptická laboratoř, s.r.o., Plzeň

<sup>3</sup> Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň

<sup>4</sup> Lékařská fakulta, UK v Plzni

**Souhrn:** Cíl: Molekulární klasifikace endometriálních karcinomů (EK) dělí tyto tumory do čtyř distinktních skupin definovaných genetickým pozadím. Vzhledem k prokázanému klinickému významu se genetické vyšetření EK stává nedílnou součástí diagnostického postupu. Doporučený diagnostický algoritmus zahrnuje molekulárně genetický průkaz mutace genu *POLE*, přičemž všechny další potřebné parametry se vyšetřují pouze imunohistochemicky. Cílem této studie je sdílet naše zkušenosti s molekulární klasifikací EK, která je na našem pracovišti prováděna pomocí imunohistochemie a následně sekvenování nové generace (NGS). **Metodika:** Do studie byly zařazeny všechny EK diagnostikované na Šiklově ústavu patologie ve FN Plzeň a v Bioptické laboratoři, s.r.o., od roku 2020 do současnosti. Všechny EK byly prospektivně vyšetřeny nejprve imunohistochemicky (MMR proteiny, p53) a následně molekulárně geneticky pomocí NGS za použití „customizovaného Gyncore panelu“ (zahrnujícího geny *POLE*, *POLD1*, *MSH2*, *MSH6*, *MLH1*, *PMS2*, *TP53*, *PTEN*, *ARID1A*, *PIK3CA*, *PIK3R1*, *CTNNB1*, *KRAS*, *NRAS*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BCOR*, *ERBB2*), na jehož základě byly rozčleněny do čtyř molekulárně distinktních skupin [*POLE* mutované EK (typ 1), hypermutované (MMR deficientní, typ 2), EK bez specifického molekulárního profilu (NSMP, typ 3) a *TP53* mutované („copy number high“, typ 4)]. **Výsledky:** Soubor zahrnuje celkem 270 molekulárně klasifikovaných EK. Osmnáct případů (6,6 %) bylo klasifikováno jako *POLE* mutované, 85 případů (31,5 %) jako hypermutované (MMR deficientní), 137 případů (50,7 %) jako EK bez specifického molekulárního profilu, 30 případů (11,1 %) jako *TP53* mutované. Dvanáct případů (4,4 %) bylo zařazeno jako „multiple classifier“. Skupina NSMP se často vyznačovala mnohočetnými genetickými alteracemi, přičemž nejčastější byla mutace genu *PTEN* (44 % v rámci NSMP), následovaly *PIK3CA* (30 %), *ARID1A* (21 %) a *KRAS* (9 %). **Závěr:** Molekulární klasifikace EK pomocí metody NGS umožňuje v porovnání s doporučeným diagnostickým algoritmem spolehlivější klasifikaci EK do jednotlivých molekulárních skupin. Kromě toho dovoluje NGS vyšetření odkrýt komplexní genetické pozadí jednotlivých EK, což má význam zvláště v rámci skupiny „bez specifického molekulárního profilu“, kde jsou tato data podkladem pro výzkum léčebných schémat s příslibem cílené terapie tohoto typu nádorů.

**Klíčová slova:** endometrium – endometriální karcinomy – molekulární klasifikace – sekvenování nové generace – NGS

### Úvod

Tradiční klasifikace endometriálních karcinomů (EK) byla založena na morfolologii tumoru a gradingu. Na základě rizikových faktorů čítajících agresivní histologický subtyp, grade 3, hloubku invaze do myometria přesahující 50 %

tloušťky, extenzivní invazi do krevních/lymfatických cév, přítomnost metastáz v lymfatických uzlinách a průměr nádoru > 2 cm byly EK řazeny do rizikových skupin. To určovalo management pacientek (rozsah chirurgického zákroku, rozhodnutí o typu léčby apod.).

V roce 2013 byl publikován tzv. Genomový atlas nádorů (TCGA – The Cancer Genome Atlas [1]), který prokázal existenci čtyř molekulárně geneticky definovaných skupin EK:

1. ultramutované (mutované v exonukleázové doméně genu *POLE*), histolo-

**Summary: Objective:** Molecular classification of endometrial carcinomas (EC) divides these neoplasms into four distinct subgroups defined by a molecular background. Given its proven clinical significance, genetic examination is becoming an integral component of the diagnostic procedure. Recommended diagnostic algorithms comprise molecular genetic testing of the *POLE* gene, whereas the remaining parameters are examined solely by immunohistochemistry. The aim of this study is to share our experiences with the molecular classification of EC, which has been conducted using immunohistochemistry and next-generation sequencing (NGS) at our department. **Methods:** This study includes all cases of EC diagnosed at Šikl's Department of Pathology and Biopticka Laboratory Ltd. from 2020 to the present. All ECs were prospectively examined by immunohistochemistry (MMR, p53), followed by NGS examination using a customized Gyncore panel (including genes *POLE*, *POLD1*, *MSH2*, *MSH6*, *MLH1*, *PMS2*, *TP53*, *PTEN*, *ARID1A*, *PIK3CA*, *PIK3R1*, *CTNNB1*, *KRAS*, *NRAS*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BCOR*, *ERBB2*), based on which the ECs were classified into four molecularly distinct groups [*POLE* mutated EC (type 1), hypermutated (MMR deficient, type 2), EC with no specific molecular profile (type 3), and *TP53* mutated ("copy number high", type 4)]. **Results:** The cohort comprised a total of 270 molecularly classified ECs. Eighteen cases (6.6%) were classified as *POLE* mutated EC, 85 cases (31.5%) as hypermutated EC (MMR deficient), 137 cases (50.7%) as EC of no specific molecular profile, and 30 cases (11.1%) as *TP53* mutated EC. Twelve cases (4.4%) were classified as "multiple classifier" endometrial carcinoma. ECs of no specific molecular profile showed multiple genetic alterations, with the most common mutations being *PTEN* (44% within the group of NSMP), followed by *PIK3CA* (30%), *ARID1A* (21%), and *KRAS* (9%). **Conclusion:** In comparison with recommended diagnostic algorithms, NGS provides a more reliable classification of EC into particular molecular subgroups. Furthermore, NGS reveals the complex molecular genetic background in individual ECs, which is especially significant within ECs with no specific molecular profile. These data can serve as a springboard for the research of therapeutic programs committed to targeted therapy in this type of tumor.

**Key words:** endometrium – endometrial carcinoma – molecular classification – next generation sequencing – NGS

- gicky často maligně vyhlížející nádory (nejčastěji s morfologií „high-grade“ endometroidního karcinomu), které přesto ve většině případů vykazují vynikající prognózu [2];
2. hypermutované (MMR – mismatch repair deficientní), zahrnující asi 10 % EK spojených s Lynchovým syndromem, prognóza je intermediární [2];
  3. EK bez specifického molekulárního profilu (NSMP – no specific molecular profile, „copy number low“), definované absencí charakteristik určujících ostatní tři skupiny, s prognózou závislejší převážně na stadiu (stage) tumoru;
  4. EK s mutací genu *TP53* („copy number high“), zahrnují často agresivní histologické subtypy, bývají diagnostikovány v pokročilém stadiu a jsou spojeny se špatnou prognózou.

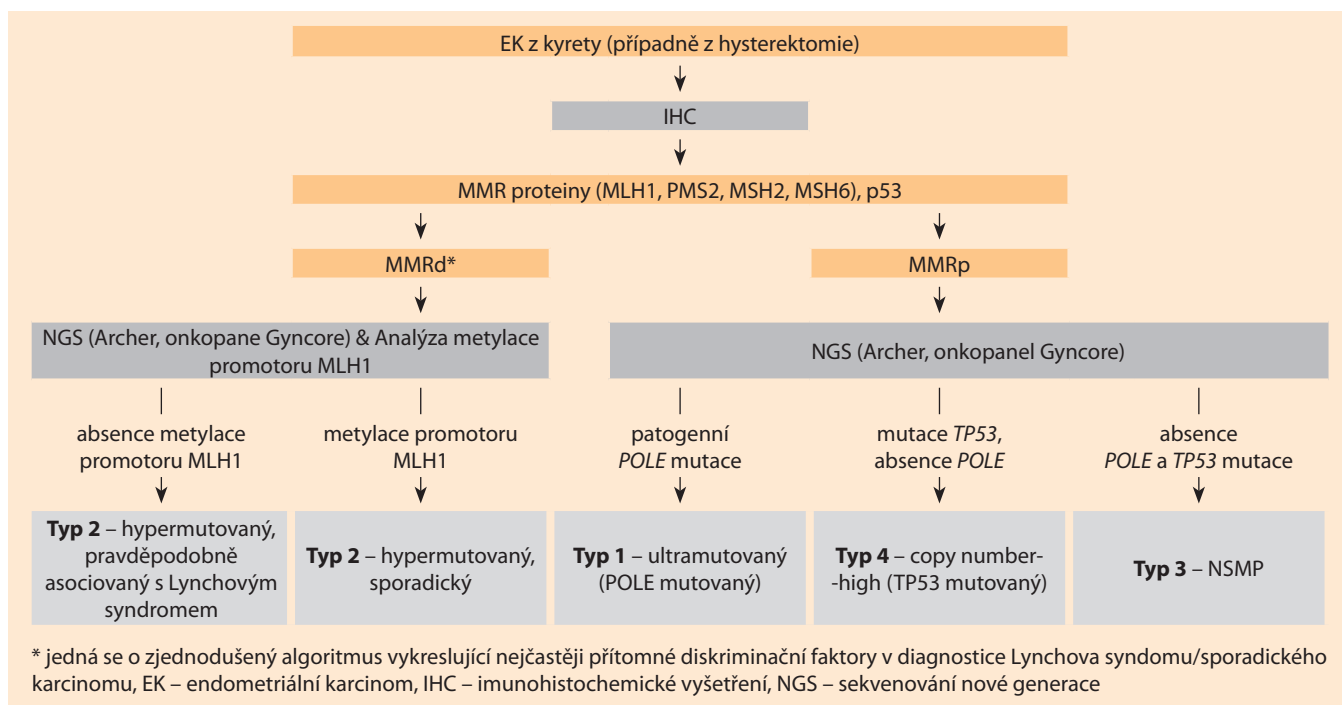
V průběhu let po publikaci TCGA se ukazuje, že molekulárně genetické vlastnosti EK v některých případech mají větší prognostický význam než výše uvedené a historicky dlouho uznávané rizikové faktory [3]. První praktický dopad získal projekt TCGA v roce 2020, kdy byla vydána 5. edice klasifikace Světové zdravotnické organizace (WHO – World

Health Organization) nádorů ženského genitálu [4], která molekulární testování EK doporučuje. V roce 2021 byly publikovány mezinárodní doporučené postupy včetně společného doporučení Evropské společnosti gynekologické onkologie (ESGO – European Society of Gynaecological Oncology), Evropské společnosti pro radioterapii a onkologii (ESTRO – European Society for Radiotherapy and Oncology) a Evropské společnosti patologů (ESP – European Society of Pathology), které zahrnuly molekulární klasifikaci do standardních diagnostických algoritmů EK [5]. V roce 2022 vydala Evropská společnost pro lékařskou onkologii (ESMO – European Society for Medical Oncology) praktická klinická doporučení pro diagnózu, léčbu a „follow-up“ pacientek s EK, které rovněž molekulární klasifikaci inkorporují [6]. Nejnověji byl v roce 2023 aktualizován stagingový systém Mezinárodní federace gynekologů a porodníků (FIGO – International Federation of Gynecology and Obstetrics), který se inspiroval změnami dříve představenými ESGO/ESTRO/ESP skupinami a navrhl stagingový systém s integrovanou molekulární klasifikací [7]. Nejvýraznější změny nastaly u EK stadia I a II, a to u těch podkategorií, jež vy-

kazují molekulární charakteristiky *POLE* mutovaného (*POLE*mut) a *TP53* mutovaného/p53 abnormálního EK (*TP53*mut/p53abn) endometriálního karcinomu. *POLE*mut EK, který je omezen na dělohu či invaduje do cervikálního stromatu, je nehledě na histologický typ či přítomnost invaze do krevních/lymfatických cév řazen jako stage IA (IA<sub>POLEmut</sub>), naproti tomu *TP53*mut/p53abn EK stejných parametrů je řazen jako stage IIC (IIC<sub>p53abn</sub>) [7].

V ČR byla v roce 2021 na základě konsenzu čtyř odborných společností České lékařské společnosti J. E. Purkyně (České onkologické společnosti; Onkogynekologické sekce České gynekologické a porodnické společnosti; Společnosti radiační onkologie, biologie a fyziky a Společnosti českých patologů) vydána společná doporučení pro implementaci molekulárního testování EK v rutinní diagnostické praxi [8].

V průběhu roku 2020 zavedla naše laboratoř testování všech EK. Cílem této práce je sdílet naše téměř 4leté zkušenosti s molekulární klasifikací EK prováděné pomocí imunohistochemie a NGS s důrazem na výhody, které toto komplexní genetické vyšetření přináší.



**Schéma 1. Algoritmus molekulární klasifikace endometriálních karcinomů ve FN Plzeň/Bioptické laboratoři.**

Scheme 1. Algorithm for Molecular Classification of Endometrial Carcinomas at Faculty Hospital Pilsen/Bioptic Laboratory, Ltd.

### Soubor a metodika

Do studie byly zařazeny všechny endometriální karcinomy diagnostikované na Šiklově ústavu patologie ve FN Plzeň od roku 2020 do současnosti, kdy jsou všechny EK reflexně testovány pomocí metody NGS a následně zařazeny do jedné ze skupin dle molekulární klasifikace EK (viz výše). Dále byly do souboru zařazeny všechny molekulárně klasifikované EK diagnostikované v Bioptické laboratoři, s.r.o., kde probíhá testování EK rovněž od roku 2020. Do nedávné doby zde testování probíhalo v závislosti na zasílajícím pracovišti buď reflexně, či na vyžádání, od počátku roku 2024 však i v Bioptické laboratoři testujeme EK reflexně. Molekulární klasifikace probíhá dle následujícího algoritmu (schéma 1): testován je vždy již vzorek z kyretáže (v případě její nedostupnosti se testuje materiál z hysterektomie), a to nejprve pomocí imunohistochemického (IHC) vyšetření za použití protilátek cílených na MMR proteiny (MSH2, MSH6, MLH1, PMS2) a p53. V případě IHC průkazu deficiencie proteinů MLH1 a PMS2 je za úče-

lem vyloučení možné asociace s Lynchovým syndromem navíc k níže popisované NGS analýze indikováno genetické vyšetření na průkaz metylace promotoru MLH1. Po IHC vyšetření jsou EK podrobeny molekulárně genetickému vyšetření pomocí metody sekvenování nové generace (NGS) za použití „customizovaného Gyncore panelu“ zahrnujícího geny *POLE*, *POLD1*, *MSH2*, *MSH6*, *MLH1*, *PMS2*, *TP53*, *PTEN*, *ARID1A*, *PIK3CA*, *PIK3R1*, *CTNBN1*, *KRAS*, *NRAS*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BCOR*, *ERBB2*. Případy jsou dále rozčleněny do čtyř molekulárně distinktních skupin navržených TCGA. Tumory s prokázanou mutací v exonukleázové doméně genu *POLE* jsou řazeny do *POLE*mut skupiny EK (typ 1), MMR deficientní (MMRd) tumory s absencí patogenní mutace genu *POLE* jsou klasifikovány jako hypermutované (typ 2), EK s prokázanou alterací genu *TP53* a současně MMR proficientní nádory bez patogenní *POLE* mutace jsou řazeny jako *TP53* mutované (typ 4) a nádory postrádající všechny výše uvedené abnormality spadají do skupiny NSMP (typ 3) [1]. U případů, kde byla deteko-

vána *POLE* mutace neznámého významu, se dodatečně vyšetřují extenzivnějším genetickým vyšetřením (NGS panel TruSight Illumina 500), jež umožňuje klasifikaci *POLE* mutace jako patogenní/nepatogenní. Až toto vyšetření rozhoduje o konečné klasifikaci těchto EK.

Skupina EK bez specifického molekulárního profilu (NSMP) vykazuje v rámci diagnostického postupu určitá specifika. Vzhledem k recentně navržené stratifikaci této skupiny na *PTEN*-mutované a *PTEN*-wild type karcinomy byla část EK (58 případů) v rámci skupiny NSMP dodatečně vyšetřena metodou FISH na přítomnost amplifikace chromozomu 1q32.1 a IHC exprese estrogenových receptorů, jelikož dle posledních vědeckých poznatků je absence *PTEN* mutace, přítomnost 1q32.1 amplifikace a absence IHC exprese estrogenových receptorů nepříznivým prognostickým faktorem v rámci skupiny NSMP [9].

### Výsledky

Do studie bylo zařazeno celkem 270 pacientek (213 z FN Plzeň a 57 z Bioptické

Tab. 1. Patologické znaky.

Tab. 1. Pathological features.

Molekulární typ nádoru	Počet případů	Histologické znaky		Imunohistochemie	
		histologický typ	grade (pouze u endometroidního ca)	MMR	p53
Typ 1 <i>POLE</i> mutovaný (ultramutovaný)	18	endometroidní ca (17 případů) (94 %)	grade 1 (4 případy) (24 %)	p (15 případů) (88 %)	normální pattern (13 případů) (76 %)
		karcinosarkom (1 případ) (6 %)	grade 2 (6 případů) (35 %)	d (MLH1 a PMS2) (1 případ) (5 %)	overexprese (3 případy) (18 %)
			grade 3 (7 případů) (41 %)	d (MSH6) (1 případ) (5 %)	kompletní negativita (1 případ) (6 %)
				ND (1 případ)	ND (1 případ)
Typ 2 Hypermutovaný (MMR deficientní)	85 [16/85 (19 %) asociováno s Lynchovým syndromem]	endometroidní ca (84 případů) (99 %)	grade 1 (51 případů) (61 %)	d (MLH1 and PMS2) (79 případů) (93 %)	normální pattern (71 případů) (91 %)
		dediferencovaný (1 případ) (1 %)	grade 2 (21 případů) (25 %)	d (MSH2, MSH6) (3 případy) (4 %)	subklonální pattern (4 případy) (9 %)
			grade 3 (12 případů) (14 %)	d MSH6 (4 případy) (4 %)	ND (7 případů)
Typ 3 Bez specifického molekulárního profilu („copy number low“)	137	endometroidní ca (131 případů) (96 %)	grade 1 (96 případů) (73 %)	p (137 případů) (100 %)	normální pattern (130 případů) (100 %)
		světlobuněčný ca (2 případy) (1 %)	grade 2 (24 případů) (18 %)		ND (7 případů)
		karcinosarkom (1 případ) (1 %)	grade 3 (11 případů) (8 %)		
		mesonephric-like ca (1 případ) (1 %)			
		nediferencovaný ca (1 případ) (1 %)			
		dediferencovaný ca (1 případ) (1 %)			
Typ 4 <i>TP53</i> mutovaný („copy number high“)	30	serózní ca (11 případů) (37 %)	grade 1 (3 případy) (27 %)	p (30 případů) (100 %)	overexprese (27 případů) (90 %)
		endometroidní ca (11 případů) (37 %)	grade 2 (2 případy) (18 %)		kompletní negativita (2 případy) (7 %)
		karcinosarkom (7 případů) (23 %)	grade 3 (6 případů) (55 %)		ND (1 případ) (1 %)
		nediferencovaný ca (1 případ) (3 %)			

ca – karcinom, d – deficientní, p – proficientní, ND – nedostupné

laboratoře) s diagnózou molekulárně klasifikovaného endometriálního karcinomu. Výsledky jsou shrnuty v tab. 1–3. Vzhledem k velkému množství nashromážděných dat bude slovní komentář výsledků omezen převážně na údaje chybějící v uvedených tabulkách.

### **POLE mutované EK (ultramutované, typ 1)**

Pacientky s *POLE* mutovaným EK tvořily 6,6 % z celého souboru. Pacientky

se známkami onemocnění (AWD – alive with disease, tři případy EK) vykazovaly: ve dvou případech inoperabilní nádor (z důvodu interních komorbidit a obezity, resp. věku spolu s pokročilostí nádorového onemocnění), v jednom případě se jednalo o EK prorůstající do retroperitonea, sigmatu, tenké kličky a břišní stěny, po chirurgickém výkonu s ponecháním lokálního rezidua a metastázy v lymfatické uzlině retroperitonea. Tato pacientka byla léčena adjuvantní che-

moterapií a má po 37 měsících follow-up neměnnou reziduální drobnou metastázu, bez známek lokální progresy či generalizace. Čtyři případy vykazovaly charakteristiky tzv. multiple classifier endometriálního karcinomu, ve třech případech se jednalo o *POLE*mut-*TP53*mut karcinom a v jednom případě o *POLE*mut-*MMRd* karcinom. Všechny tři pacientky, které měly veden follow-up jako „AWD“, vykazovaly charakteristiky „multiple classifier“ endometriálního

Tab. 2. Klinické znaky.

Tab. 2. Clinical features.

Molekulární typ nádoru	Počet případů	Věk (roky)	Follow-up (měsíce)	Klinický status	Stage (v době diagnózy)
<b>Typ 1</b> <b>POLEmutovaný</b> <b>(ultramutovaný)</b>	18	34–92 (průměr 63)	1–24 (průměr 25,6) FU dostupný pro 8/18 (44 %) pacientek	AW (5 případů) (62 %)	pT1 (7 případů) (64 %)
				AWD (3 případy) (38 %)	pT2 (1 případ) (9 %)
				DOD (0 případů)	pT3 (3 případy) (27 %)
				ND (10 případů)	ND (7 případů)
<b>Typ 2</b> <b>Hypermutovaný</b> <b>(MMR deficientní)</b>	85 [16/85 (19 %) asociováno s Lynchovým syndromem]	42–91 (průměr 68)	0–37 (průměr 12,2), FU dostupný pro 72/85 (85 %) pacientek	AW (58 případů) (81 %)	pT1 (67 případů) (87 %)
				AWD (10 případů) (14 %)	pT2 (6 případů) (8 %)
				DOD (3 případy) (4 %)	pT3 (4 případy) (5 %)
				DOUR (1 případ) (1 %)	PTx – inoperabilní/neoperována (1/6 případů)
<b>Typ 3</b> <b>Bez specifického</b> <b>molekulárního</b> <b>profilu</b> <b>(„copy number low“)</b>	137	28–90 (průměr 64)	1–45 (průměr 11), FU dostupný pro 109 pacientek (80 %)	NA (13 případů)	ND (13 případů)
				AW (95 případů) (87 %)	pT1 (81 případů) (80 %)
				AWD (7 případů) (6 %)	pT2 (12 případů) (12 %)
				DOD (0 případů)	pT3 (8 případů) (8 %)
				DOUC (3 případy) (3 %)	PTx – inoperabilní/neoperována (4/0 případů)
<b>Typ 4</b> <b>TP53 mutovaný</b> <b>(„copy number high“)</b>	30	46–90 (průměr 71)	1–36 (průměr 9,1), FU dostupný pro 24 pacientek (80 %)	ND (32 případů)	ND (32 případů)
				AW (16 případů) (67 %)	pT1 (14 případů) (58 %)
				AWD (6 případů) (25 %)	pT2 (2 případy) (8 %)
				DOD (2 případy) (8 %)	pT3 (3 případy) (13 %)
					metastazující (5 případů) (21 %) ND (6 případů)

AW – alive and well (bez známek onemocnění), AWD – alive with disease (se známkami onemocnění), DOD – death of disease (úmrť následkem onemocnění endometriálním karcinodem), DOUC – death of unrelated conditions (úmrť nesouvisející s onemocněním endometriálním karcinodem), FU – follow-up, ND – nedostupné

karcinomu (blíže viz diskuze). Ve zbylém případě „multiple classifier“ (POLEmut-TP53mut/p53abn) EK byla pacientka bez známek onemocnění (délka follow-up 21 měsíců), stage tumoru byl pT2. Další charakteristiky „multiple classifier“ EK jsou zobrazeny v tab. 4.

Stage (pT) tumoru byl znám u 11 případů a jednalo se o pT1 (pT1a: šest případů, pT1b: jeden případ), pT2 (jeden případ) a pT3 (pT3a: dva případy, pT3b: jeden případ). Žádný z případů nebyl zařazen jako stage pT4, pN1 či pN2.

### Hypermutované EK (MMR deficientní, typ 2)

Pacientky s hypermutovaným EK tvořily 31 % z celého souboru. Pacientky se známkami onemocnění (AWD) vykazovaly: inoperabilní nádor v jednom pří-

padě, lokální recidivu v jednom případě, metastatické postižení ve čtyřech případech (generalizace do plic ve dvou případech, nespecifikované metastatické postižení ve dvou případech). Šest pacientek nepodstoupilo chirurgický výkon z důvodu vysokého věku a komorbidit. Stage (pT) tumoru byl znám u 77 případů a jednalo se o pT1 (pT1a: 48 případů, pT1b: 19 případů), pT2 (šest případů) a pT3 (pT3a: tři případy, pT3b: jeden případ). Žádný z případů nebyl zařazen jako stage pN1, pN2 či jako pT4. Fokální imunohistochemická aberantní exprese s protilátkou p53 (tzv. subklonální exprese) korespondovala ve třech případech s „multiple classifier“ endometriálními karcinomy. V rámci hypermutované skupiny EK bylo osm případů určeno jako „multiple classifier“, v pěti

případech se jednalo o hypermutované EK v asociaci s Lynchovým syndromem (5/8 (62,5 %) hypermutovaných EK asociovaných s Lynchovým syndromem vykazovalo „multiple classifier“ charakteristiky), ve zbylých třech případech šlo o sporadické hypermutované EK. Follow-up byl v rámci „multiple classifier“ EK dostupný u čtyř pacientek, dvě pacientky byly bez známek onemocnění, zbylé dvě měly generalizovanou onemocnění s metastázami.

### EK bez specifického molekulárního profilu (NSMP, „copy number low“, typ 3)

Pacientky s EK bez specifického molekulárního profilu tvořily 50,7 % z celého souboru. Pacientky se známkami onemocnění (AWD) vykazovaly: inoperabilní

Tab. 3. Molekulárně genetické znaky.

Tab. 3. Molecular genetic features.

Molekulární typ nádoru	Počet případů	Metylace promotoru MLH1	Mutace genu <i>TP53</i>	Mutace genu <i>POLE</i>
Typ 1 <i>POLE</i> mutovaný (ultramutovaný)	18	přítomná (1 případ)	přítomná (3 případy) (17%)	patogenní mutace v 18 případech (100 %)
		ND (17 případů)	nepřítomná (15 případů) (83 %)	c.857C>G, p.(Pro286Arg) (8 případů) (44 %)
				c.1231G>T, p.(Val411Leu) (7 případů) (39 %)
				c.1376C>T, p.(Ser459Phe) (1 případ) (5 %)
				c.1100T>C, p.(Phe367Ser) (1 případ) (5 %)
			c.1366G>C, p.(Ala456Pro) (1 případ) (5 %)	
Typ 2 Hypermutovaný (MMR deficientní)	85 [16/85 (19 %) asociováno s Lynchovým syndromem]	přítomná (66 případů) (90 %)	přítomná (9 případů) (11 %)	wild type (83 případů) (98 %)
		nepřítomná (7 případů) (10 %)	absent (75 případů) (89 %)	nepatogenní [c.6775C>T, p.(Arg2259Trp)] (1 případ) (1 %)
		ND (12 případů)	ND (1 případ)	patogenní, mimo exonu- kleázovou doménu [c.3769C>T, p.(Gln1257Ter)] (1 případ) (1 %)
Typ 3 Bez specifického molekulárního profilu („copy number low“)	137	ND (137 případů)	nepřítomná (137 případů) (100 %)	wild type (137 případů)
Typ 4 <i>TP53</i> mutovaný („copy number high“)	30	ND (30 případů) (100 %)	mutace (30 případů) (100 %)	wild type (30 případů) (100 %)

ND – nedostupné

nádor v jednom případě, lokální recidivu v jednom případě, metastatické postižení ve třech případech. Dvě pacientky nepodstoupily chirurgický výkon z důvodu vysokého věku/komorbidit. Stage tumoru byl znám u 101 případů a jednalo se o pT1 (pT1a: 57 případů, pT1b: 24 případů), pT2 (12 případů) a pT3 (pT3a: pět případů, pT3b: tři případy). Žádný z případů nebyl zařazen jako stage pN1, pN2 či jako pT4. Nejčastější molekulární abnormalitou byla mutace genu *PTEN* (44 % v rámci NSMP), následovaly *PIK3CA* (30 %), *ARID1A* (21 %) a *KRAS* (9 %). Padesát osm případů bylo dodatečně vyšetřeno na přítomnost amplifikace 1q32.1. Třicet (51,7 %) případů vykazovalo amplifikaci 1q32.1, zbylých

28 případů tyto abnormality postrádal. Ve 18 případech (60 %) se amplifikace 1q32.1 vyskytla v *PTEN*-wild type EK. V této podskupině byla dále imunohistochemicky vyšetřena exprese estrogenových receptorů. Šestnáct případů bylo imunohistochemicky analyzovatelných, ve 12 případech byla nádorová populace s estrogenovými receptory pozitivní, čtyři případy byly negativní (ve třech případech se jednalo o agresivní histologický subtyp, což koresponduje s publikovanými poznatky [9], v jednom případě šlo o endometroidní karcinom grade 1). Detailní výčet klinicko-patologických znaků této podskupiny tumorů je shrnut v tab. 5. Šestnáct případů bylo *PTEN*-wild type bez přítomné amplifi-

kace 1q32.1, v 10 případech byla amplifikace 1q32.1 detekována u *PTEN* mutovaných EK a ve 12 případech se jednalo o *PTEN* mutovaný EK bez amplifikace 1q32.1.

#### TP53 mutované EK („copy number high“)

Pacientky s *TP53* mutovanými EK tvořily 11,1 % z celého souboru. Pacientky se známkami onemocnění (AWD) vykazovaly: inoperabilní nádor v jednom případě, metastatické postižení v pěti případech. Stage tumoru (pT) byl znám u 19 případů a jednalo se o pT1 (pT1a: osm případů, pT1b: šest případů), pT2 (dva případy), pT3 (pT3a: jeden případ, pT3b: dva případy). Žádný

**Tab. 4. Znaky „multiple classifier“ endometriálních karcinomů.**

Tab. 4. Features of the "multiple classifier" of endometrial carcinomas.

Zařazení do skupiny dle molekulární klasifikace	POLE mutace	Histologický typ karcinomu, grade	MMR status	p53 IHC exprese	TP53 mutace	Stage	Věk (roky)	Follow-up	Follow-up-délka (měsíce)	Terapie
<b>Typ 1 POLEmutovaný</b>	c.1231G>T, p.(Val411 Leu)	endometroidní, 3	p	nulový pattern	c.637C>T, p.(Arg213Ter)	pTx	70	AWD, inoperabilní (obezita, interní komorbiditidy)	27	brachy-terapie
	c.1231G>T, p.(Val411 Leu)	endometroidní, 2	p	over-exprese	c.587G>A, p.(Arg196Gln)	pT2	76	AW	21	bez adjuvantní terapie
	c.1376C>T, p.(Ser459 Phe)	endometroidní, 3	d (MLH1 a PMS2)	normální pattern	wild type	pT3a	62	AWD, lokálně agresivní růst, metastáza do LU, nyní bez zn. recidivy/generalizace	34	chemo-terapie
	p.(Val411 Leu), p.(Ala-426Val)	endometroidní, 2	p	over-exprese	c.722C>T, p.(Ser241Phe)	pTx	92	AWD, lokálně agresivní růst, metastázy do LU, inoperabilní (věk, komorbiditidy, rozsah onemocnění)	22	bez adjuvantní terapie
<b>Typ 2 Hypermutovaný</b>	wild type	endometroidní, 1	d (MLH1 a PMS2)	normální pattern	c.1146del p.(Lys382AsnfsTer40)	ND	82	ND	ND	ND
	wild type	endometroidní, 1	d (MLH1 a PMS2)	ND	c.817C>T, p.(Arg273Cys)	pT1a	55	ND	ND	ND
	wild type	endometroidní, 2	d (MLH1 a PMS2)	subklo-nální pattern	c.733G>A, p.(Gly245Ser)	pT3a	79	AW	26	chemo-terapie, radio-terapie
<b>Typ 2 Hypermutovaný*</b>	wild type	endometroidní, 3	d (MLH1 a PMS2)	subklo-nální pattern	c.652_654del, p.(Val218del)	pT1a	59	AW	21	ND
	wild type	endometroidní, 1	d (MLH1 a PMS2)	normální pattern	c.328C>T, p.(Arg110Cys)	pTx	78	AWD – inoperabilní (věk, metastázy do inguinálních LU)	0	ND
	wild type	endometroidní, 3	d (MLH1 a PMS2)	ND	c.481G>A, p.(Ala161Thr) c.902del p.(Pro301Gln fsTer44)	pT1a	59	AWD	22	chemo-terapie
	wild type	endometroidní, 3	d (MSH6)	subklo-nální pattern	c.734G>A, p.(Gly245Asp)	pT1b	78	ND	ND	ND
	wild type	endometroidní, 3	d (MSH6, MSH2)	ND	c.743G>A, p.(Arg248Gln)	ND	69	ND	ND	ND

d – deficientní, p – proficientní, ND – nedostupné  
\* asociované s Lynchovým syndromem

**Tab. 5. Znaky endometriálních karcinomů skupiny 3 (NSMP) s absencí mutace genu *PTEN* a současně amplifikací chromozomu 1q32.1.**Tab. 5. Features of group 3 endometrial carcinomas (NSMP) with absence of *PTEN* gene mutation and simultaneous amplification of chromosome 1q32.1.

	Histologický typ karcinomu, grade	IHC: ER	Stage	Věk	Follow-up	Follow-up – délka (měsíce)	Adjuvantní terapie	Další mutované geny
1	endometroidní, 1	pozitivní	pT1	60	AW	36	žádná	žádné
2	endometroidní, 1	pozitivní	pT2	71	AW	8	radioterapie	<i>CTNNB1</i>
3	mezonephric-like	negativní	pT1b	72	DOUC (uzávěr AMS, cévní ileus)	15	žádná	<i>PIK3CA</i>
4	endometroidní, 1	pozitivní	pT2	46	AW	28	radioterapie	<i>CTNNB1</i>
5	endometroidní, 1	pozitivní	pT1a	66	AW	9	žádná	<i>BCOR</i>
6	endometroidní, 1	pozitivní	pT1b	59	AW	29	žádná	žádné
7	endometroidní	negativní	pTx	61	AWD – generalizace EC	45	chemoterapie, radioterapie	<i>PIK3CA, PMS2</i>
8	endometroidní, 1	pozitivní	pT2 N1	77	AW	24	chemoterapie, radioterapie	žádné
9	endometroidní, 1	pozitivní	NA	89	AWD – neoperována – věk	24	žádná – odmítá	<i>CTNNB1, PIK3CA</i>
10	endometroidní	negativní	pT2	63	AW	29	radioterapie	žádné
11	endometroidní, 1	pozitivní	pT1a	58	AW	26	chemoterapie	<i>KRAS</i>
12	endometroidní, 2	pozitivní	pT2	75	AW	4	radioterapie	<i>CTNNB1</i>
13	endometroidní, 2	pozitivní	pT3a	59	AW	23	radioterapie	<i>CTNNB1</i>
14	karcinosarkom	negativní	pT1b	73	AW	29	chemoterapie, radioterapie	žádné
15	endometroidní, 1	pozitivní	pT1b	58	AW	20	žádná	<i>CTNNB1</i>
16	endometroidní, 2	pozitivní	pT1b	65	AW	10	chemoterapie, radioterapie	<i>CTNNB1</i>
17	endometroidní, 1	ND	NA	69	AW	19	žádná	žádné
18	endometroidní, 2	ND	pT1a	51	AW	18	žádná	<i>CTNNB1</i>

AW – alive and well (bez známek onemocnění), AWD – alive with disease (se známkami onemocnění), ND – nedostupné

z případů nebyl zařazen jako stage pN1, pN2 či jako pT4.

## Diskuze

Publikace tzv. Genomového atlasu nádorů (TCGA) v roce 2013 představovala iniciační moment ve studiu molekulárně genetického podkladu endometriálních karcinomů, a přestože se výzkum dal do pohybu velmi intenzivně již v minulých dekádách, nejspíše jsme stále ve fázi raného vědeckého porozumění v této oblasti. TCGA rozdělil EK do čtyř v úvodu zmíněných molekulárních skupin na základě celogenomového sek-

venování [1]. Vzhledem k potřebě zavádět molekulární klasifikaci EK do praxe je snaha o ekonomickou dostupnost tohoto procesu. Proběhlo několik studií zabývajících se tímto aspektem [10–12] a na základě jejich výsledků byl navržen široce používaný postup vyšetření čítající v prvním kroku molekulární vyšetření genu *POLE* [pomocí Sangerovského sekvenování genu *POLE* či sekvenováním exonukleázové domény genu *POLE* (exony 9–14)] a následně IHC vyšetření MMR proteinů a p53 (doporučený diagnostický algoritmus dle ESMO, schéma 1 [6]).

V ČR panuje odborná shoda v nutnosti integrace molekulární klasifikace EK do praxe. Diagnostický postup doporučený aktuálně v ČR kopíruje doporučený diagnostický algoritmus dle ESMO z roku 2022 [6]. Doporučuje se testovat definitivní materiál (ve většině případů jím je hysterektomie), indikace k vyšetření by měla probíhat na základě žádosti klinika z komplexního onkologického centra (KOČ) či onkogynekologického centra [8]. Testování by mělo být umožněno všem laboratorím patologie, které jsou součástí instituce se statutem KOČ či onkogynekologického centra nebo



v laboratořích s přímou návazností na tyto instituce (referenční laboratoře pro prediktivní diagnostiku se zavedenými, zvalidovanými a akreditovanými příslušnými laboratorními postupy umožňujícími plnohodnotnou molekulární klasifikaci EK dle doporučeného algoritmu) [8].

Ve FN Plzeň a v Biopstické laboratoři, s.r.o., se molekulární klasifikace EK mírně odchyluje od výše zmíněných doporučených diagnostických algoritmů. Molekulární klasifikaci provádíme reflexně u všech endometriálních karcinomů. Klasifikace je provedena většinou již z materiálu z kyretáže, vzhledem k adekvátnější fixaci vzorku a nezřídka většímu objemu nádorové tkáně. Pro molekulární analýzu nádorů indikujeme výhradně vyšetření NGS za použití „customizovaného Gyncore panelu“ navrženého speciálně pro molekulární klasifikaci EK. Gyncore panel zahrnuje analýzu mutací 18 relevantních genů (podrobněji viz výše). Ačkoli je pro molekulární klasifikaci EK považována jako dostatečná analýza mutace genu *POLE* a vyšetření statusu ostatních markerů (MMR proteiny, p53) se dle doporučení provádí pouze imunohistochemicky, z vědeckých poznatků [13] i z našich osobních zkušeností vyplývá, že analýza vícečetných relevantních genů pomocí metody NGS má v této fázi vývoje praktických zkušeností s převedením molekulárního testování EK do praxe své opodstatnění.

Převážná většina EK může být klasifikována na základě přítomnosti jednoho molekulárního klasifikačního znaku. Existuje malá, avšak klinicky významná podskupina nádorů (tvorí 3–6 % molekulárně klasifikovaných EK [10,12,14,15]), která nese více než jeden klasifikační znak a označuje se termínem „multiple classifier“ [13]. Jedná se o EK s *POLE* mutací (*POLE*mut) a současně *TP53* mutací/p53 abnormalitou (*TP53*mut/abn), *POLE*mut a MMR deficiencí (MMRd), MMRd a současnou *TP53*mut/abn (tzv. double classifier) či EK s *POLE*mut a současně *TP53*mut/abn a MMRd (tzv. triple classifier). Aktuálně panuje konsenzus,

že u nádorů s patogenní mutací genu *POLE* je tato mutace nadřazena všem ostatním abnormalitám a takové tumory by se měly klasifikovat jako *POLE*mut [16]. *TP53* mutace/p53 abnormality a/nebo MMR deficiencie jsou považovány pouze za doprovodné znaky přítomné pravděpodobně z důvodu obrovského množství mutací v těchto nádorech a dle aktuálních poznatků nemají klinický význam. Management těchto pacientek se v současné době řídí přítomností patogenní *POLE* mutace [13,16]. U případů, které byly analyzovány pouze Sangerovskou sekvenací *POLE* genu, která má nižší analytickou senzitivitu než NGS vyšetření [13], může být patogenní mutace genu *POLE* nedetekována a EK může být na základě přítomnosti p53 abnormality/MMR deficiencie chybně zařazen do *TP53*mut (typ 4)/hypermutovaných EK (MMRd, typ 2). Obdobně je u pacientek s MMRd karcinomy se současnou p53 aberantní IHC expresí správně zařazení do skupiny prováděno na základě MMR deficiencie, která je považována za dominantní znak, a takové nádory se správně klasifikují jako hypermutované (MMRd, typ 2) [13]. U „multiple classifier“ EK s doprovodnou (passenger) mutací genu *TP53* je často aberantní IHC exprese přítomna ve formě tzv. subklonální exprese (fokální aberantní IHC exprese p53). Interpretace imunohistochemického vyšetření s protilátkou p53 bývá často obtížná a molekulární analýza alterace genu *TP53* zaručí přesnější zařazení nádoru. Jelikož bylo opakovaně doloženo agresivní biologické chování *TP53*mut EK [1,12,14,17,18], je u takových tumorů indikace k eskalaci léčby [2]. *TP53*mut EK navíc jako jediné v rámci čtyř molekulárních skupin profitují z kombinace chemo- a radioterapie [2]. Chybně zařazení tumoru jako *TP53*mut má tudíž pro pacientku neblahé následky. V našem souboru se vyskytlo celkem 12 případů „multiple classifier“ endometriálních karcinomů (tři případy *POLE*mut/*TP53*mut, jeden případ *POLE*mut/MMRd, osm případů

MMRd/*TP53*mut) a lze zde poukázat na určité zajímavé aspekty (tab. 4). V rámci *POLE*mut skupiny EK žádné pacientky se „single classifier“ *POLE*mut EK nevykazovaly známky onemocnění, zatímco tři čtvrtiny „multiple classifier“ (dva případy *POLE*mut/*TP53*mut a jeden případ *POLE*mut/MMRd) měly lokálně pokročilý nádor, v jednom případě navíc se vzdálenými stacionárními (neprogredujícími) metastázami. Obdobně u skupiny MMRd/*TP53*mut měly dvě pacientky (follow-up byl dostupný u čtyř pacientek) metastatické onemocnění. Většina MMRd/*TP53*mut nádorů (5/8; 62,7 %) se vyskytovala u pacientek s Lynchovým syndromem. Ačkoli je ke spolehlivým závěrům jistě třeba větších studií s delší dobou follow-up (průměrný follow-up u této skupiny EK v naší studii je 24,7 měsíců), z našich dat vyplývá, že „multiple classifier“ endometriální karcinomy mají potenciál chovat se agresivně, a jejich kategorizace jako *POLE*mut EK s deeskalací léčby tudíž nemusí být bezpečná. U MMRd/*TP53*mut nádorů je navíc pravděpodobně tendence výskytu ve spojitosti s Lynchovým syndromem.

V rámci molekulární klasifikace EK je zásadní rozpoznat patogenní *POLE* mutaci od nepatogenní, která nezpůsobuje ultramutovaný fenotyp nádoru, nemá prognostický význam a nedovoluje EK zařadit jako *POLE*mut. Nepatogenní *POLE* mutace se vzhledem k vysoké mutační náloži většinou nachází ve skupině MMR deficientních nádorů (hypermutovaných) jako sekundární genetická událost, s odpovídajícím biologickým chováním EK této skupiny. Aktuálně je známo 12 mutací genu *POLE*, které jsou prokazatelně patogenní [16,19]. Toto spektrum se nepochybně bude dále rozšiřovat. Pouze NGS vyšetření je schopné (podle návodu Leon-Castillové et al. [16]) klasifikovat *POLE* mutace nejasného významu jako patogenní, či nepatogenní. V naší laboratoři se tato klasifikace provádí následným NGS vyšetřením nádorů za použití panelu TruSight Oncology 500 (Illumina) obsahujícího 523 „cancer-

-relevantních genů“ [20]. Sangerovské sekvenování odlišení patogenní od nepatogenní *POLE* mutace neumožňuje. V našem souboru je obsaženo 20 endometriálních karcinomů s *POLE* mutací. Většina případů (n = 18) byla diagnostikována na základě detekce jedné ze známých patogenních mutací a takové tumory byly kategorizovány jako *POLEmut* EK (typ 1). Ve dvou případech byla *POLE* mutace rozpoznána jako mutace neznámého významu a k určení její přesné povahy bylo zapotřebí následné NGS vyšetření. V obou případech byla povaha mutace vyhodnocena jako nepatogenní a tyto EK byly následně zařazeny do hypermutované skupiny (typ 2). Rozpoznání EK jako *POLEmut* je pro pacientku zcela zásadní. Přes často velmi alarmující morfologii těchto tumorů je prokázána jejich vynikající prognóza a u low-stage (stage I, II dle FIGO) nádorů není tudíž indikována adjuvantní terapie [6,21]. Vzácné pokročilejší případy *POLEmut* jsou dle studií adepty k imunoterapii check-point inhibitory (v ČR zatím není tato léčba schválena) [22–25].

V našem souboru máme tři pacientky s pokročilým *POLEmut* tumorem. Jak je zmíněno výše, ve všech případech se jedná o „multiple classifier“ endometriální karcinomy. Žádná z pacientek se „single classifier“ *POLEmut* EK nejeví známky onemocnění, což podporuje stanovisko ESMO [6] a FIGO 2023 [7] o bezpečnosti deeskalace léčby u low-stage *POLEmut* nádorů (naše případy měly stage pT1–2).

Komplexní genetické testování má dále vliv nejen na molekulární klasifikaci jako takovou, ale v určitých případech může mít rovněž prediktivní význam. Velká část EK v rámci skupiny „bez specifického molekulárního profilu“ nese genetické abnormality v PI3K/AKT/mTOR signální cestě, především se jedná o inaktivaci tumor supresorového genu *PTEN* (v naší sestavě přítomnou u 44 % NSMP) a mutace genu *PI3KCA* (u 30 % našich případů), které jsou terapeuticky ovlivnitelné mTOR inhibitory, popřípadě

CDK4/6 inhibitory [26–29]. V našem souboru byla *PI3KCA* mutace zastoupena ve 40 EK v rámci skupiny NSMP, avšak pouze v sedmi případech (17,5 %) jakožto jediná molekulární abnormalita. Ve většině případů byla doprovázena mutací alespoň jednoho dalšího genu s potenciálně onkogenním účinkem (*PTEN*, *CTNNB1*, *ARID1A*, *KRAS*, *BCOR*, *PMS2*), což v překladu do klinické praxe může znamenat možný efekt kombinované terapie [27]. U pacientek s EK mutovaným v genu *CTNNB1* může mít dle recentních studií efekt terapie inhibitory Wnt/ $\beta$ -catenin signální dráhy [30], bevacizumabem [31], everolimem a letrozolem [26]. EK v rámci skupiny *TP53* mutovaných EK (typ 4) mohou nést somatické či germinální mutace v genech *BRCA1/2*. Případná detekce germinální mutace *BRCA1/2* genu má, vzhledem k syndromatické asociaci charakterizované zvýšeným rizikem k rozličným nádorovým onemocněním, významný vliv na management pacientky a jejich příbuzných. Ve skupině *TP53* mutovaných EK se dále mohou vyskytovat karcinomy s HER2 aberací/mutací genu *ERBB2*, s případnou možností léčby trastuzumabem a podobnými preparáty, jako je tomu u karcinomů prsu (tato léčba rovněž není v současné době pro ČR schválena). Povědomí o přítomnosti genových alterací s prediktivním významem, případně výskytu vícečetných onkogenních „driverů“ v rámci jednoho tumoru, má význam z hlediska volby případné cílené (cílené kombinované) terapie a může ho být dosaženo pouze komplexním genetickým testováním.

### Závěr

Molekulární klasifikace endometriálních karcinomů se stává nedílnou součástí diagnostické praxe. Ačkoli doporučený diagnostický algoritmus zahrnuje testování genu *POLE* Sangerovským sekvenováním a vyšetření dalších relevantních parametrů imunohistochemicky, domníváme se, že imunohistochemické vyšetření v kombinaci s NGS vyšetřením je

v mnoha ohledech nezastupitelné. Jednak umožňuje spolehlivou klasifikaci tzv. „multiple classifier“ endometriálních karcinomů, u nichž je v této fázi vývoje nepostradatelný sběr dat k určení jejich biologického chování a správného zařazení. Dále je NGS vyšetření nezbytné ke spolehlivé klasifikaci *POLE* mutovaných EK, jejichž detekce má vzhledem k výborné prognóze rovněž výrazný ekonomický dopad (možnost ustoupení od adjuvantní terapie u „low-stage“ nádorů). V neposlední řadě se díky NGS vyšetření daří odhalovat komplexní genetické pozadí a onkogenní „drivery“ jednotlivých EK, zvláště v rámci skupiny bez specifického molekulárního profilu, kde se management pacientek doposud řídí „tradičně“, tzn. dle histologického typu, grade a stage nádoru. Ačkoli cílená terapie není pro tyto tumory doposud schválena, tato data jsou nezbytným podkladem pro výzkum léčebných schémat tohoto typu nádorů.

### Literatura

1. Kandoth C, Schultz N, Cherniack et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013; 497(7447): 67–73. doi: 10.1038/nature12113.
2. Corr B, Cosgrove C, Spinosa D et al. Endometrial cancer: molecular classification and future treatments. *BMJ Med* 2022; 1(1): e000152. doi: 10.1136/bmjmed-2022-000152.
3. Vermij L, Smit V, Nout R et al. Incorporation of molecular characteristics into endometrial cancer management. *Histopathology* 2020; 76(1): 52–63. doi: 10.1111/his.14015.
4. Female genital tumours. WHO classification of tumours. 5th ed. Lyon: IARC Publications.
5. Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2021; 31(1): 12–39. doi: 10.1136/ijgc-2020-002230.
6. Oaknin A, Bosse TJ, Creutzberg CL et al. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2022; 33(9): 860–877. doi: 10.1016/j.annonc.2022.05.009.
7. Berek JS, Matias-Guiu X, Creutzberg C et al. FIGO staging of endometrial cancer: 2023. *Int J Gynaecol Obstet* 2023; 162(2): 383–394. doi: 10.1002/ijgo.14923.
8. Dunder P, Cibula D, Doležel M et al. Molecular testing in endometrial carcinoma – joint recommendation of Czech Oncological Society, Onco-

- gynecological Section of the Czech Gynecological and Obstetrical Society, Society of Radiation Oncology, Biology and Physics, and the Society of Czech Pathologists. *Ceska Gynekol* 2021; 86(4): 264–272. doi: 10.48095/cccg2021264.
9. Momeni-Boroujeni A, Nguyen B, Vanderbilt CM et al. Genomic landscape of endometrial carcinomas of no specific molecular profile. *Mod Pathol* 2022; 35(9): 1269–1278. doi: 10.1038/s41379-022-01066-y.
10. Stelloo E, Bosse T, Nout RA et al. Refining prognosis and identifying targetable pathways for high-risk endometrial cancer; a TransPORTEC initiative. *Mod Pathol* 2015; 28(6): 836–844. doi: 10.1038/modpathol.2015.43.
11. Talhouk A, McAlpine JN. New classification of endometrial cancers: the development and potential applications of genomic-based classification in research and clinical care. *Gynecol Oncol Res Pract* 2016; 3: 14. doi: 10.1186/s40661-016-0035-4.
12. Talhouk A, McConechy MK, Leung S et al. Confirmation of ProMisE: a simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer. *Cancer* 2017; 123(5): 802–813. doi: 10.1002/cncr.30496.
13. León-Castillo A, Gilvazquez E, Nout R et al. Clinicopathological and molecular characterisation of 'multiple-classifier' endometrial carcinomas. *J Pathol* 2020; 250(3): 312–322. doi: 10.1002/path.5373.
14. Stelloo E, Nout RA, Osse EM et al. Improved risk assessment by integrating molecular and clinicopathological factors in early-stage endometrial cancer-combined analysis of the PORTEC cohorts. *Clin Cancer Res* 2016; 22(16): 4215–4224. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2878.
15. Talhouk A, McConechy MK, Leung S et al. A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers. *Br J Cancer* 2015; 113(2): 299–310. doi: 10.1038/bjc.2015.190.
16. León-Castillo A, Britton H, McConechy MK et al. Interpretation of somatic *POLE* mutations in endometrial carcinoma. *J Pathol* 2020; 250(3): 323–335. doi: 10.1002/path.5372.
17. Bosse T, Nout RA, McAlpine JN et al. Molecular classification of grade 3 endometrioid endometrial cancers identifies distinct prognostic subgroups. *Am J Surg Pathol* 2018; 42(5): 561–568. doi: 10.1097/PAS.0000000000001020.
18. Brett MA, Atenafu EG, Singh N et al. Equivalent survival of p53 mutated endometrial endometrioid carcinoma grade 3 and endometrial serous carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2021; 40(2): 116–123. doi: 10.1097/PGP.0000000000000674.
19. Cui J, Chen X, Zhai Q, Chen N et al. A novel somatic mutation in *POLE* exonuclease domain associated with ultra-mutational signature and MMR deficiency in endometrial cancer: a case report. *Diagn Pathol* 2023; 18(1): 19. doi: 10.1186/s13000-023-01287-y.
20. Illumina. TruSight™ oncology 500 and TruSight oncology 500 high-throughput. 2024 [online]. Available from: [trusight-oncology-500-and-ht-data-sheet-1170-2018-010.pdf](https://www.illumina.com/products/bytype/trusight-oncology-500-and-ht-data-sheet-1170-2018-010.pdf).
21. McAlpine JN, Chiu DS, Nout RA et al. Evaluation of treatment effects in patients with endometrial cancer and *POLE* mutations: an individual patient data meta-analysis. *Cancer* 2021; 127(14): 2409–2422. doi: 10.1002/cncr.33516.
22. Veneris JT, Lee EK, Goebel EA et al. Diagnosis and management of a recurrent polymerase-epsilon (*POLE*)-mutated endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2019; 153(3): 471–478. doi: 10.1016/j.ygyno.2019.03.247.
23. Dong D, Lei H, Liu D et al. *POLE* and mismatch repair status, checkpoint proteins and tumor-infiltrating lymphocytes in combination, and tumor differentiation: identify endometrial cancers for immunotherapy. *Front Oncol* 2021; 11: 640018. doi: 10.3389/fonc.2021.640018.
24. Mehnert JM, Panda A, Zhong H et al. Immune activation and response to pembrolizumab in *POLE*-mutant endometrial cancer. *J Clin Invest* 2016; 126(6): 2334–2340. doi: 10.1172/JCI84940.
25. Wang F, Zhao Q, Wang YN et al. Evaluation of *POLE* and *POLD1* mutations as biomarkers for immunotherapy outcomes across multiple cancer types. *JAMA Oncol* 2019; 5(10): 1504–1506. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.2963.
26. Slomovitz BM, Jiang Y, Yates MS et al. Phase II study of everolimus and letrozole in patients with recurrent endometrial carcinoma. *J Clin Oncol* 2015; 33(8): 930–936. doi: 10.1200/JCO.2014.58.3401.
27. Barra F, Evangelisti G, Ferro Desideri L et al. Investigational PI3K/AKT/mTOR inhibitors in development for endometrial cancer. *Expert Opin Investig Drugs* 2019; 28(2): 131–142. doi: 10.1080/13543784.2018.1558202.
28. Konstantinopoulos PA, Lee EK, Xiong N et al. A phase II, two-stage study of Letrozole and Abemaciclib in estrogen receptor-positive recurrent endometrial cancer. *J Clin Oncol* 2023; 41(3): 599–608. doi: 10.1200/JCO.22.00628.
29. Mirza MR, Bjørge L, Marmé F et al. LBA28 a randomised double-blind placebo-controlled phase II trial of palbociclib combined with letrozole (L) in patients (PTS) with oestrogen receptor-positive (ER+) advanced/recurrent endometrial cancer (EC): NSGO-PALEO / ENGOT-EN3 trial. *Ann Oncol* 2020; 31: S1160.
30. Moroney MR, Woodruff E, Qamar L et al. Inhibiting Wnt/beta-catenin in CTNNB1-mutated endometrial cancer. *Mol Carcinog* 2021; 60(8): 511–523. doi: 10.1002/mc.23308.
31. Aghajanian C, Filiaci V, Dizon DS et al. A phase II study of frontline paclitaxel/carboplatin/bevacizumab, paclitaxel/carboplatin/temsirolimus, or ixabepilone/carboplatin/bevacizumab in advanced/recurrent endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2018; 150(2): 274–281. doi: 10.1016/j.ygyno.2018.05.018.

#### ORCID autorů

K. Michalová 0000-0003-3231-6870  
 J. Presl 0000-0001-7632-4069  
 O. Ondič 0000-0002-4038-5641  
 O. Daum 0000-0002-0930-7071  
 M. Švajdler 0000-0001-8052-4741  
 M. Michal 0000-0003-4403-7027

doc. MUDr. Květoslava Michalová, Ph.D.  
 Šiklův ústav patologie  
 LF UK a FN Plzeň  
 Alej Svobody 80  
 323 00 Plzeň  
 kveta.michalova@biopticka.cz

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

**Publication ethics:** The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE uniform requirements for biomedical papers.

**Konflikt zájmů:** Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie/práce nemají žádný konflikt zájmů.

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

**Dedikace:** Práce byla podpořena výzkumným grantem Ministerstva školství České republiky (SVV 260652).

**Dedication:** The work was supported by a research grant from the Ministry of Education of the Czech Republic (SVV 260652).