

UNIVERZITA KARLOVA
LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI
ŠIKLŮV ÚSTAV PATOLOGIE



VZÁCNÉ LÉZE UROGENITÁLNÍHO TRAKTU, MĚKKÝCH
TKÁNÍ A VYBRANÝCH OBLASTÍ
UNCOMMON LESIONS OF UROGENITAL TRACT, SOFT TISSUES AND
SELECTED AREAS

HABILITAČNÍ PRÁCE

MUDr. KVĚTOSLAVA MICHALOVÁ, Ph.D.
(PECKOVÁ)

PLZEŇ 2019

OBSAH

ÚVOD	6
SOUHRN KOMENTOVANÝCH PUBLIKACÍ	7
1. ČÁST - VZÁCNÉ NÁDORY UROGENITÁLNÍHO TRAKTU	8
1.1. NÁDORY LEDVIN	9
1.1.1 RENÁLNÍ KARCINOMY S LEIOMYOMATÓZNÍM STROMATEM	9
1.1.1.A. The leiomyomatous stroma in renal cell carcinomas is polyclonal and not part of the neoplastic proces	9
1.1.1.B. Renal cell carcinoma with leiomyomatous stroma-further immunohistochemical and molecular genetic characteristics of unusual entity	9
1.1.1.C. Renal Cell Carcinoma With Leiomyomatous Stroma: A Group of Tumors With Indistinguishable Histopathologic Features, But 2 Distinct Genetic Profiles: Next-Generation Sequencing Analysis of 6 Cases Negative for Aberrations Related to the VHL gene	9
1.1.2. TRANSLOKAČNÍ RENÁLNÍ KARCINOMY	12
1.1.2.A. Molecular-genetic analysis is essential for accurate classification of renal carcinoma resembling Xp11.2 translocation carcinoma	12
1.1.2.B. Aggressive and nonaggressive translocation t(6;11) renal cell carcinoma: comparative study of 6 cases and review of the literature	12
1.1.3. PAPILÁRNÍ RENÁLNÍ KARCINOM A JEHO VARIANTY	15
1.1.3.A. Papillary renal cell carcinoma with cytologic and molecular genetic features overlapping with renal oncocytoma: Analysis of 10 cases	15
1.1.3.B. Cystic and necrotic papillary renal cell carcinoma: prognosis, morphology, immunohistochemical and molecular-genetic profile of 10 cases	15
1.1.3.C. Solid papillary renal cell carcinoma: clinicopathologic, morphologic, and immunohistochemical analysis of 10 cases and review of the literature	15
1.1.3.D. "Mucin"-secreting papillary renal cell carcinoma: clinicopathological, immunohistochemical, and molecular genetic analysis of seven cases	15
1.1.3.E. Biphasic Squamoid Alveolar Renal Cell Carcinoma: A Distinctive Subtype of Papillary Renal Cell Carcinoma?	15
1.1.3.F. Warthin-like papillary renal cell carcinoma: Clinicopathologic, morphologic, immunohistochemical and molecular genetic analysis of 11 cases	15
1.1.4. CHROMOFOBNI RENÁLNÍ KARCINOM A JEHO VARIANTY Chyba! Záložka není definována.	
1.1.4.A. Chromophobe renal cell carcinoma with neuroendocrine and neuroendocrine-like features. Morphologic, immunohistochemical, ultrastructural, and array comparative genomic hybridization analysis of 18 cases and review of the literature	20

1.1.4.B. Morphological, immunohistochemical, and chromosomal analysis of multicystic chromophobe renal cell carcinoma, an architecturally unusual challenging variant	20
1.1.5. ONKOCYTICKÉ RENÁLNÍ TUMORY, ONKOCYTOMY A TUBULOCYSTICKÉ RENÁLNÍ KARCINOMY	22
1.1.5.A Cystic Renal Oncocytoma and Tubulocystic Renal Cell Carcinoma: Morphologic and Immunohistochemical Comparative Study	22
1.1.5.B "High-grade oncocytic renal tumor": morphologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 14 cases	22
1.1.5.C Molecular Genetic Alterations in Renal Cell Carcinomas With Tubulocystic Pattern: Tubulocystic Renal Cell Carcinoma, Tubulocystic Renal Cell Carcinoma With Heterogenous Component and Familial Leiomyomatosis-associated Renal Cell Carcinoma. Clinicopathologic and Molecular Genetic Analysis of 15 Cases	22
1.1.6. SVĚTLOBUNĚČNÉ RENÁLNÍ KARCINOMY	25
1.1.6.A Low-grade spindle cell proliferation in clear cell renal cell carcinoma is unlikely to be an initial step in sarcomatoid differentiation	25
1.1.6.B High-grade renal cell carcinoma with emperipolesis: Clinicopathological, immunohistochemical and molecular-genetic analysis of 14 cases	25
1.1.6.C Papillary pattern in clear cell renal cell carcinoma: Clinicopathologic, morphologic, immunohistochemical and molecular genetic analysis of 23 cases.....	25
1.1.6.D Reactivity of CK 7 across the spectrum of renal cell carcinomas with clear cells ...	25
1.1.7. RŮZNÉ.....	29
1.1.7.A Mucinous spindle and tubular renal cell carcinoma: analysis of chromosomal aberration pattern of low-grade, high-grade, and overlapping morphologic variant with papillary renal cell carcinoma	29
1.1.7.B Foamy cell (hibernoma-like) change is a rare histopathological feature in renal cell carcinoma	30
1.1.7.C Mixed Epithelial and Stromal Tumor of the Kidney: Mutation Analysis of the <i>DICER 1</i> Gene in 29 Cases	31
1.1.7.D Programmed death-1 (PD-1) receptor/PD-1 ligand (PD-L1) expression in fumarate hydratase-deficient renal cell carcinoma	32
1.2. NÁDORY VARLAT	33
1.2.1 SOLIDNÍ PSEUDOPAPILÁRNÍ TUMOR VARLETE	33
1.2.1.A Primary signet ring stromal tumor of the testis: a study of 13 cases indicating their phenotypic and genotypic analogy to pancreatic solid pseudopapillary neoplasm	33
1.2.1.B Solid pseudopapillary neoplasm (SPN) of the testis: Comprehensive mutational analysis of 6 testicular and 8 pancreatic SPNs	33
1.2.1.C Solid pseudopapillary tumor: a new tumor entity in the testis?-reply	33
1.2.1.D Pseudo-"solid pseudopapillary neoplasms" of the testis: in reality Sertoli cell tumors-reply	33
1.2.2. RŮZNÉ.....	36

1.2.2.A Choriogonadotropin positive seminoma-a clinicopathological and molecular genetic study of 15 cases.....	36
1.3. NÁDORY MOČOVÉHO MĚCHÝŘE	37
1.3.1. Comparative study of TERT gene mutation analysis on voided liquid-based urine cytology and paraffin-embedded tumorous tissue.....	37
2. ČÁST - VZÁCNÉ NÁDORY MĚKKÝCH TKÁNÍ.....	38
2.1. LIPOMATÓZNÍ TUMORY	39
2.1.A. Lipoblasts in spindle cell and pleomorphic lipomas: a close scrutiny.....	39
2.1.B. Atypical multivacuolated lipoblasts and atypical mitoses are not compatible with the diagnosis of spindle cell/pleomorphic lipoma-reply	39
2.1.C. Dysplastic Lipoma: A Distinctive Atypical Lipomatous Neoplasm With Anisocytosis, Focal Nuclear Atypia, p53 Overexpression, and a Lack of MDM2 Gene Amplification by FISH; A Report of 66 Cases Demonstrating Occasional Multifocality and a Rare Association With Retinoblastoma.....	39
2.2. BENIGNÍ NÁDORY Z PERIFERNÍCH NERVŮ.....	42
2.2.A. Multivacuolated mucin-filled cells: a unique cell characteristic of plexiform neurofibroma. A report of 11 cases	42
2.2.B. Whorling cellular perineurioma: A previously undescribed variant closely mimicking monophasic fibrous synovial sarcoma.....	42
2.3. RŮZNÉ.....	44
2.3.1. Littoral cell angioma of the spleen: a study of 25 cases with confirmation of frequent association with visceral malignancies.....	44
2.3.2. EWSR1-SMAD3-rearranged Fibroblastic Tumor: An Emerging Entity in an Increasingly More Complex Group of Fibroblastic/Myofibroblastic Neoplasms	46
2.3.3. Histiocytosis With Raisinoid Nuclei: A Unifying Concept for Lesions Reported Under Different Names as Nodular Mesothelial/Histiocytic Hyperplasia, Mesothelial/Monocytic Incidental Cardiac Excrescences, Intralymphatic Histiocytosis, and Others: A Report of 50 Cases.....	47
2.3.4. Tenosynovitis With Psammomatous Calcifications: A Distinctive Trauma-associated Subtype of Idiopathic Calcifying Tenosynovitis With a Predilection for the Distal extremities of Middle-aged Women-A Report of 23 Cases	48
2.3.5. Spindle cell predominant trichodiscoma or spindle cell lipoma with adnexal induction? A study of 25 cases, revealing a subset of cases with <i>RBI</i> heterozygous deletion in the spindle cell stroma.....	49
3. ČÁST - NEOBVYKLÉ LÉZE VYBRANÝCH OBLASTÍ	50
3.1. SPEKTRUM LÉZÍ ŠTÍTNÉ ŽLÁZY ODVOZENÉ OD BRANCHIÁLNÍCH OBLOUKŮ	51
3.1.1 Spectrum of lesions derived from branchial arches occurring in the thyroid: from solid cell nests to tumors	51
3.1.2 Selected Case From the Arkadi M. Rywlin International Pathology Slide Seminar: Benign Warthin Tumor of the Thyroid	51

3.2. DIFERENCOVANÉ SKVAMÓZNÍ INTRAEPITELIÁLNÍ LÉZE.....	53
Differentiated squamous intraepithelial lesion (dSIL)-like changes in the epidermis overlying anogenital melanocytic nevi. A diagnostic pitfall.....	53
3.3. SMÍŠENÝ EPITELIÁLNÍ A STROMÁLNÍ TUMOR STŘEDNÍHO UCHA	54
Mixed Epithelial and Stromal Tumor of the Middle Ear: The First Case Report	54
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	55
SEZNAM CITACÍ	57
PODĚKOVÁNÍ.....	64

ÚVOD

Habilitační práce nazvaná “Vzácné léze urogenitálního traktu, měkkých tkání a vybraných oblastí” je sestavena formou komentovaných publikací. Zahrnuje celkem 44 v angličtině psaných prací, na nichž jsem se podílela jako první autor či spoluautor a jež vyšly v odborných zahraničních časopisech s impact faktorem. Konkrétně jde o:

- 33 publikací v amerických časopisech (15x v Annals of Diagnostic Pathology, 7x v Human Pathology, 5x v American Journal of Surgical Pathology, 4x v Applied Immunohistochemistry&Molecular Morphology, 1x v Advances in Anatomic Pathology, 1x American Journal of Dermatopathology)
- 11 publikací v evropských časopisech (7x ve Virchows Archiv, 3x v Histopathology, 1x v Histology Histopathology)

Habilitační práce je tematicky rozčleněna do tří částí:

1. část: vzácné nádory urogenitálního traktu
2. část: vzácné nádory měkkých tkání
3. část: neobvyklé léze vybraných oblastí

Jednotlivé části jsou dále rozděleny do subkapitol, které jsou uvedeny krátkým komentářem a následně komentářem jednotlivých prací. Některé studie jsou komentovány individuálně. Ke všem publikacím je přiložena kopie reprintu. Publikační činnost je převážně zaměřena na identifikaci nových nádorových jednotek, jejich histopatologických variant a využití studovaných poznatků v diagnostické patologii a potencionálně v terapii.

SOUHRN KOMENTOVANÝCH PUBLIKACÍ

1. ČÁST
VZÁCNÉ NÁDORY UROGENITÁLNÍHO
TRAKTU

1.1. NÁDORY LEDVIN

1.1.1 RENÁLNÍ KARCINOMY S LEIOMYOMATÓZNÍM STROMATEM

(komentář 3 publikací)

1.1.1.A. The leiomyomatous stroma in renal cell carcinomas is polyclonal and not part of the neoplastic proces

Petersson F, Branzovsky J, Martinek P, Korabecna M, Kruslin B, Hora M, Peckova K, Bauleth K, Pivovarcikova K, Michal M, Svajdler M, Sperga M, Bulimbasic S, Leroy X, Rychly B, Trivunic S, Kokoskova B, Rotterova P, Podhola M, Suster S, Hes O.
Virchows Arch. 2014 Jul;465(1):89-96. doi: 10.1007/s00428-014-1591-9. Epub 2014 May 18.

1.1.1.B. Renal cell carcinoma with leiomyomatous stroma-further immunohistochemical and molecular genetic characteristics of unusual entity

Peckova K, Grossmann P, Bulimbasic S, Sperga M, Perez Montiel D, Daum O, Rotterova P, Kokoskova B, Vesela P, Pivovarcikova K, Bauleth K, Branzovsky J, Dubova M, Hora M, Michal M, Hes O.
Ann Diagn Pathol. 2014 Oct;18(5):291-6. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2014.08.004. Epub 2014 Aug 15.

1.1.1.C. Renal Cell Carcinoma With Leiomyomatous Stroma: A Group of Tumors With Indistinguishable Histopathologic Features, But 2 Distinct Genetic Profiles: Next-Generation Sequencing Analysis of 6 Cases Negative for Aberrations Related to the VHL gene

Petersson F, Martinek P, Vanecek T, Pivovarcikova K, Peckova K, Ondic O, Perez-Montiel D, Skenderi F, Ulamec M, Nenutil R, Hora M, Svoboda T, Rotterova P, Dusek M, Michal M, Hes O.
Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2018 Mar;26(3):192-197.

Některé typy renálních epiteliálních neoplazií se vyznačují přítomností variabilního množství leiomyomatózního stromatu. Mezi tyto tumory lze zařadit světlobuněčný papilární renální karcinom (RK), světlobuněčný RK s leiomyomatózním stromatem, nedávno popsáný *TCEB1* mutovaný RK (1) a renální karcinom s leiomyomatózním stromatem. Renální karcinom s leiomyomatózním stromatem byl poprvé popsán skupinou italských autorů v roce 1993 pod názvem smíšený renální tumor s karcinomatózní a fibroleiomyomatózní komponentou (2). V nynější WHO klasifikaci (3) je zařazen do skupiny nově vznikajících jednotek (emerging entities). Histologicky se jedná o bifazický tumor složený z epitelové a stromální komponenty. Epitelovou složku tvoří solidně, papilárně nebo tubulárně uspořádané blandní světlé buňky podobné buňkám světlobuněčného RK či světlobuněčného papilárního RK, které jsou promíchány s nápadným (fibro)leiomyomatózním stromatem. Jak vyšlo v průběhu let najevo, nejedná se o jednu nádorovou jednotku, ale spíše o skupinu různých renálních tumorů o uniformní morfologii, ale odlišných molekulárně genetických a biologických vlastnostech (4). Doposud nebyl popsán případ agresivně se chovajícího RK s

leiomyomatózním stromatem (4), stejně tak je za indolentní považován světlobuněčný papilární RK (5). Odlišení světlobuněčného RK s reaktivním leiomyomatózním stromatem je však klinicky důležité, jelikož tento má identický klinický průběh jako konvenční světlobuněčný RK bez stromální složky. Biologické vlastnosti *TCEBI* mutovaného renálního karcinomu nejsou zatím příliš známé. *TCEBI* mutovaný RK nebyl v době publikace studií 1.1.1.A a 1.1.1.B znám a není v nich proto zahrnut.

Doposud nebylo stanoveno, je-li leiomyomatózní stroma součástí neoplastického procesu či pouze reaktivní příměsí. Ve studii 1.1.1.A jsme za použití human androgen receptor assay (HUMARA) zkoumali klonální status epitelové a leiomyomatózní komponenty u 14 renálních tumorů zahrnujících 5 světlobuněčných RK s leiomyomatózním stromatem, 4 světlobuněčné papilární RK, 2 papilární RK typu 1 s výraznou příměsí leiomyomatózního stromatu a 3 RK s leiomyomatózním stromatem. Stromální komponenta tvořila 10-30% objemu tumorů, histologicky měla charakter blandních větvenitých buněk a na několika místech bylo zřetelné jejich splývání se stěnou přilehlých cév. Imunohistochemicky reagovaly stromální buňky s hladkosvalovým aktinem, caldesmonem a vimentinem, reaktivita s desminem byla variabilní. Ve všech případech analyzovatelných metodou HUMARA (8/14) byla zjištěna polyklonalita leiomyomatózní komponenty. Na základě studie 1.1.1.A lze vyvodit, že leiomyomatózní stroma se může nacházet nejen u světlobuněčného papilárního RK, světlobuněčného RK a RK s leiomyomatózním stromatem, ale vyskytuje se například i u papilárního RK. Analýzou polyklonality jsme zjistili, že hladkosvalové stromální buňky jsou polyklonální a nejsou tedy součástí neoplastického procesu, nýbrž pouze reaktivní příměsí pocházející pravděpodobně ze stěny renálních žil, jakožto jediného zdroje hladké svaloviny v ledvinách.

Do studie 1.1.1.B bylo z plzeňského registru nádorů na základě morfologie (bifazické low-grade tumory složené z epitelových buněk s abundantní opticky prázdňou cytoplazmou, příměs větvenobuněčného stromatu) vybráno 15 případů RK s leiomyomatózním stromatem. Molekulárně genetické vlastnosti, jmenovitě mutace kódující sekvence genu *VHL*, *VHL* hypermetylace, ztráta heterozygoty na krátkém raménku 3. chromozomu (LOH 3p) a status chromozomů 7 a 17, byly za použití metody PCR vyšetřitelné u 12 případů. Pět případů postrádalo všechny výše vyjmenované abnormality a tyto byly následně diagnostikovány jako “pravé” RK s leiomyomatózním stromatem. Zbylých 7 tumorů vykazovalo mutace genu *VHL*, *VHL* hypermetylace, LOH 3p či kombinace mutace genu *VHL* a LOH 3p. Tyto případy byly hodnoceny jako světlobuněčné RK s reaktivním leiomyomatózním stromatem. V jednom případě byly detekovány zisky chromozomů 7 a 17 společně s hypermetylací *VHL* genu, tento byl následně diagnostikován jako světlobuněčný RK s reaktivním leiomyomatózním stromatem s aberantním statusem chromozomů 7 a 17. Imunohistochemicky byly všechny případy označené jako “pravé” RK s leiomyomatózním stromatem pozitivní s CANH9, CD10 a vimentinem, CK7 a AMACR byly pozitivní v 3/5, respektive ve 2/5 případů. Zbylých 10 případů diagnostikovaných jako světlobuněčný RK reagovalo pozitivně s vimentinem (10/10 případů), CANH9 (9/10 případů), CD10 (7/10), variabilně s CK7 (5/10) a AMACR (4/10). Reakce s HMB45 byla negativní ve všech případech, nehledě na jejich zařazení (15/15). Závěrem studie 1.1.1.B lze konstatovat, že RK s leiomyomatózním stromatem nemá žádné specifické morfologické ani imunohistochemické znaky a protože má velmi podobný histologický obraz jako světlobuněčný RK s reaktivním leiomyomatózním stromatem a světlobuněčný papilární RK, k jeho diagnóze je nutné molekulárně genetické vyšetření zaměřené na detekce mutace kódující sekvence genu *VHL*, *VHL* hypermetylace a LOH 3p. Jako RK s leiomyomatózním stromatem mohou být diagnostikovány pouze tumory s absencí výše uvedených abnormalit.

Cílem studie 1.1.1.C bylo za pomoci sekvenování nové generace (next generation sequencing; NGS) podrobněji prozkoumat molekulárně genetické pozadí RK s

leiomyomatózním stromatem, konkrétně vztah těchto tumorů k morfologicky identickému světlobuněčnému RK s leiomyomatózním stromatem a *TCEB1* mutovanému RK. Mutační analýza celé oblasti *VHL* genu, hotspot mutace genu *TCEB1*, genů často mutovaných ve světlobuněčných RK (*VHL*, *PBRM1*, *SETD2*, *BAP1*, *MTOR*, *TCEB1*, *PIK3CA*, *KDM5C*, *TP53*, *PTEN*) a genů účastnících se procesu angiogeneze (*CDH5*, *EPHB4*, *ERBB2*, *FGFR3*, *FLT1*, *FNI*, *HIF1A*, *ITGB3*, *KDR*, *MMP2*, *THBS1*, *TIMP3*) byla provedena na 6 případech s předem ověřenou absencí mutace kódující sekvence genu *VHL*, *VHL* hypermetylace a LOH 3p. V žádném z tumorů nebyly vyšetřované genetické abnormality detekovány. Tyto výsledky dále potvrzují fakt, že RK s leiomyomatózním stromatem je disktrinktní jednotkou a dokládají, že se světlobuněčným RK a *TCEB1* mutovaným RK může mít společnou pouze morfologii, ale genetický podklad s těmito jednotkami nesdílí.

1.1.2. TRANSLOKAČNÍ RENÁLNÍ KARCINOMY

(komentář 2 publikací)

1.1.2.A. Molecular-genetic analysis is essential for accurate classification of renal carcinoma resembling Xp11.2 translocation carcinoma

Hayes M, Peckova K, Martinek P, Hora M, Kalusova K, Straka L, Daum O, Kokoskova B, Rotterova P, Pivovarcikova K, Branzovsky J, Dubova M, Vesela P, Michal M, Hes O. *Virchows Arch.* 2015 Mar;466(3):313-22. doi: 10.1007/s00428-014-1702-7. Epub 2014 Dec 28.

1.1.2.B. Aggressive and nonaggressive translocation t(6;11) renal cell carcinoma: comparative study of 6 cases and review of the literature

Peckova K, Vanecek T, Martinek P, Spagnolo D, Kuroda N, Brunelli M, Vranic S, Djuricic S, Rotterova P, Daum O, Kokoskova B, Vesela P, Pivovarcikova K, Bauleth K, Dubova M, Kalusova K, Hora M, Michal M, Hes O.

Ann Diagn Pathol. 2014 Dec;18(6):351-7. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2014.10.002. Epub 2014 Oct 13. Review.

MiT rodina translokačních renálních karcinomů zahrnuje RK nesoucí genové fúze *TFE3* nebo *TFEB*. Do této skupiny patří častější Xp11.2 translokační renální karcinom (tRK) a translokační t(6;11) renální karcinom charakterizován splynutím genů *MALAT1* a *TFEB*.

Xp11.2 tRK je definován translokacemi chromozomu Xp11.2 vedoucími ke genové fúzi části krátkého raménka chromozomu X v lokusu 11.2 zahrnující promiskuitní *TFE3* gen. Jeho nejčastějšími fúzními partnery jsou geny *ASPL* (*ASPSCR1*), *PRCC*, *PSF* (*SFPQ*), vzácněji *CLTC*, *NONO*, *RBM10*, *PARP14*, *LUC7L3*, *KHSRP*, *DVL2*, *MED15* a *GRIPAP1* (6). V době své iniciální deskripce (7) se zdál být Xp11.2 tRK morfologicky distinktní, za typické se považovaly papily tvořené světlými buňkami s objemnou cytoplazmou, psammomatózní tělíska, hyalinní globule a příměs eosinofilních buněk. Nicméně, s přibývajícemi publikacemi je zřejmé, že tento typický histologický obraz je charakteristický převážně pro Xp11.2 tRK s *ASPL-TFE3* fúzí, kdežto karcinomy s *PRCC-TFE3* genovou fúzí jsou častěji tvořeny drobnějšími papilárními či hnízdovitými strukturami světlých buněk s méně objemnou cytoplazmou (6). Některé případy mohou být dokonce morfologicky neodlišitelné od světlobuněčného nebo papilárního renálního karcinomu (6), byly popsány i případy histologicky napodobující PCom, melanom anebo alveolární sarkom měkkých tkání (8). Imunohistochemicky (IHC) jsou Xp11.2 tRK negativní nebo jen fokálně pozitivní v reakci s cytokeratiny a EMA a negativní v průkazu CANH9 a AMACR, což je důležité v diferenciální diagnostice se světlobuněčným a papilárním RK. Specifická je nukleární pozitivita s TFE3, avšak tato protilátka je citlivá k fixaci a to s sebou nese časté falešně pozitivní či falešně negativní výsledky. Protože MiT rodina transkripčních faktorů hraje mimo jiné roli v diferenciaci osteoklastů, k diagnostice lze použít i pozitivitu s protilátkou proti cathepsinu K, která však v Xp11.2 tRK reaguje rozdílně v závislosti na typu fúzního partnera (např. *PRCC-TFE3* fúzované tumory jsou většinou pozitivní, karcinomy s fúzí *ASPL-TFE3* negativní (9, 10)).

Z poměrně heterogenní morfologie a nespolehlivé imunohistochemie vyplývá, že diagnóza Xp11.2 tRK se neobejde bez molekulárně genetických metod. Tento fakt se stal předmětem studie 1.1.2.A. Vybrali jsme 20 případů morfologicky suspektních (avšak necharakteristických) Xp11.2 tRK, které byly vyšetřeny metodou FISH (break-apart sonda

pro *TFE3*, centromerické próby pro detekci enumerace chromozomů X, Y, 7, 17) a metodou PCR (mutační analýza genu *VHL*, metylace promotoru *VHL*, LOH3p). V devíti případech detekovala FISH analýza zlom genu *TFE3*, na základě toho byly tyto uzavřeny jako Xp11.2 tRK a následně vyloučeny z dalších analýz. Ze zbývajících 11 případů bylo 9 geneticky vyšetřitelných a tyto se staly předmětem naší studie. Zmíněné tumory se vyznačovaly diverzní morfologií a imunoprofilem, často bylo možno v jednom tumoru zastihnout rysy jak světlobuněčného, tak i papilárního RK. Z 5 případů, které byly převážně papilární, pouze 1 reagoval s CK7 a tento byl zároveň pozitivní s CANH9 (marker světlobuněčného RK). Tumory morfologicky spíše odpovídající světlobuněčnému RK byly pozitivní s AMACR (marker papilárního RK). Dva případy byly pozitivní v reakci s TFE3 a dva s cathepsinem K. Tumory byly následně diagnostikovány na základě výsledků molekulární genetiky, nehledě na morfologii a imunoprofil: případy vykazující zisky chromozomů 7 a 17 byly klasifikovány jako papilární RK (1 případ), případy s abnormalitami *VHL* genu jako světlobuněčný RK (1 případ), případy se zisky chromozomů 7 a 17 společně s odchylkami *VHL* genu jako kombinovaný světlobuněčný/papilární RK (3 případy) a konečně případy bez molekulárních aberací (2 případy) či se ziskem pouze jednoho z chromozomů 7 (1 případ) a 17 (1 případ) a bez abnormalit *VHL* genu jako neklasifikovatelné. Závěrem studie 1.1.2.A lze říci, že v případě tRK je molekulárně genetické vyšetření zásadní, cytogenetická analýza je nadřazena morfologickým znakům a IHC průkazu TFE3 a cathepsinu K. Obzvláště důležité je si uvědomit, že pokud narazíme na morfologicky neklasifikovatelný tumor, který by potenciálně mohl spadat do kategorie tRK, je imunohistochemické vyšetření značně nespolehlivé a spíše zmate. V tomto případě doporučujeme aplikovat FISH, konkrétně break-apart *TFE3* analýzu k vyloučení Xp11.2 tRK. V poslední době vychází najevo, že Xp11.2 tRK se svojí prognózou blíží konvenčnímu světlobuněčnému RK (11) a zdaleka se tudíž nejedná o indolentní tumor, jak se původně jevilo (7, 12). Z tohoto důvodu a díky současné cílené terapii a jejímu raketovému rozvoji považujeme diagnostiku Xp11.2 tRK za důležitou.

Druhým základním typem je translokační t(6;11) renální karcinom nesoucí *MALAT1-TFEB* genovou fúzi, která je způsobena onkogenní aktivací genu *TFEB* (13). Histologicky jsou tyto tumory charakteristické bifazickou morfologií: velké epitelooidní buňky, tvořící většinu tumoru, jsou promíchány s ostrůvky menších buněk obklopujících materiál bazální membrány a tvořících tak pseudorozety (3). Biologické chování t(6;11) RK se zdá být příznivé, vzhledem ke vzácnosti tohoto tumoru (doposud bylo publikováno pouze přibližně 60 případů (6)) je však příliš brzy na definitivní stanoviska. Navíc byly již popsány agresivně se chovající případy s metastázami (14-16) a je tudíž pravděpodobné, že klinicko-patologické spektrum této jednotky bude širší, než se myslelo, a že stojí za to ho prozkoumat.

Do studie 1.1.2.B. studii jsme zařadili 5 neagresivních tumorů a jeden agresivně se chovající t(6;11) RK. Z hlediska klinicko-patologických znaků, morfologie, imunoprofilu a genotypu jsme tyto dva typy t(6;11) RK porovnali. Navíc jsme provedli rešerši literatury, prostudovali všechny 4 doposud publikované agresivní případy t(6;11) RK (14-16) a porovnali je s jedním naším případem a mezi sebou. Agresivní tumory se v porovnání s neagresivní skupinou vyskytovaly u starší populace pacientů. Makroskopicky viditelné nekrózy byly detekovány pouze u agresivních případů a mohou tak sloužit jako potenciálně nepříznivý prognostický faktor (agresivní případ zařazený v naší studii vykazoval i mikroskopické nekrózy, tento údaj však nebyl v doposud publikovaných případech zaznamenán). Asi nejdůležitější poznatek, který přinesla tato studie, se týká genotypu. Jak neagresivní tumory, tak agresivní případ vykazoval translokaci *TFEB* genu, ale u agresivního tumoru byla kromě toho detekována i amplifikace genu *TFEB*. Jak se s odstupem po publikování studie 1.1.2.B. ukázalo, nešlo o náhodný nálezný, jelikož amplifikace genu *TFEB* a agresivní klinické chování spolu skutečně souvisí. V souhlase s naší publikací na toto poukázal Argani et al. ve studii

zahrnující 8 případů high grade t(6;11) RK, z nichž všechny vykazovaly amplifikaci genu *TFEB* a nepříznivé biologické chování (17). Dnes se již RK s amplifikací 6p (včetně *TFEB* genu) vyčleňuje ze skupiny t(6;11), kromě zmíněných genetických odchylek je charakterizován agresivním chováním, výskytem u starší populace, morfologií necharakteristickou pro t(6;11) RK (tubulopapilární architektonika) a nekrózami (6, 18).

1.1.3. PAPILÁRNÍ RENÁLNÍ KARCINOM A JEHO VARIANTY

(komentář 6 publikací)

1.1.3.A. Papillary renal cell carcinoma with cytologic and molecular genetic features overlapping with renal oncocytoma: Analysis of 10 cases

Michalova K, Steiner P, Alaghebandan R, Trpkov K, Martinek P, Grossmann P, Montiel DP, Sperga M, Straka L, Prochazkova K, Cempirkova D, Horava V, Bulimbasic S, Pivovarcikova K, Daum O, Ondic O, Rotterova P, Michal M, Hora M, Hes O.
Ann Diagn Pathol. 2018 Aug;35:1-6. doi: 10.1016/j.anndiagpa.2018.01.010. Epub 2018 Feb 3

1.1.3.B. Cystic and necrotic papillary renal cell carcinoma: prognosis, morphology, immunohistochemical and molecular-genetic profile of 10 cases

Peckova K, Martinek P, Pivovarcikova K, Vanecek T, Alaghebandan R, Prochazkova K, Montiel DP, Hora M, Skenderi F, Ulamec M, Rotterova P, Daum O, Ferda J, Davidson W, Ondic O, Dubova M, Michal M, Hes O
Ann Diagn Pathol. 2017 Feb;26:23-30. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2016.10.007. Epub 2016 Oct

1.1.3.C. Solid papillary renal cell carcinoma: clinicopathologic, morphologic, and immunohistochemical analysis of 10 cases and review of the literature

Ulamec M, Skenderi F, Trpkov K, Kruslin B, Vranic S, Bulimbasic S, Trivunic S, Montiel DP, Peckova K, Pivovarcikova K, Ondic O, Daum O, Rotterova P, Dusek M, Hora M, Michal M, Hes O.
Ann Diagn Pathol. 2016 Aug;23:51-7. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2016.04.008. Epub 2016 Apr 27. Review.

1.1.3.D. "Mucin"-secreting papillary renal cell carcinoma: clinicopathological, immunohistochemical, and molecular genetic analysis of seven cases

Pivovarcikova K, Peckova K, Martinek P, Montiel DP, Kalusova K, Pitra T, Hora M, Skenderi F, Ulamec M, Daum O, Rotterova P, Ondic O, Dubova M, Curik R, Dunatov A, Svoboda T, Michal M, Hes O.
Virchows Arch. 2016 Jul;469(1):71-80. doi: 10.1007/s00428-016-1936-7. Epub 2016 Apr 12.

1.1.3.E. Biphasic Squamoid Alveolar Renal Cell Carcinoma: A Distinctive Subtype of Papillary Renal Cell Carcinoma?

Hes O, Condom Mundo E, Peckova K, Lopez JI, Martinek P, Vanecek T, Falconieri G, Agaimy A, Davidson W, Petersson F, Bulimbasic S, Damjanov I, Jimeno M, Ulamec M, Podhola M, Sperga M, Pane Foix M, Shelekhova K, Kalusova K, Hora M, Rotterova P, Daum O, Pivovarcikova K, Michal M.
Am J Surg Pathol. 2016 May;40(5):664-75.

1.1.3.F. Warthin-like papillary renal cell carcinoma: Clinicopathologic, morphologic, immunohistochemical and molecular genetic analysis of 11 cases

Skenderi F, Ulamec M, Vanecek T, Martinek P, Alaghebandan R, Foix MP, Babankova I, Montiel DP, Alvarado-Cabrero I, Svajdler M, Dubinský P, Cempirkova D, Pavlovsky M, Vranic S, Daum O, Ondic O, Pivovarcikova K, Michalova K, Hora M, Rotterova P, Stehlikova A, Dusek M, Michal M, Hes O.
Ann Diagn Pathol. 2017 Apr;27:48-56. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2017.01.005. Epub 2017 Jan

S rozvojem nových diagnostických metod vychází najevo, že papilární renální karcinomy (RK) jsou jako celek morfologicky a genotypicky velmi heterogenní (19). Tradičně jsou děleny do dvou morfologických skupin na typ 1 (bazofilní), charakterizovaný papilárním/tubulopapilárním růstem s blandními buňkami chudými na cytoplazmu a typ 2 (eosinofilní), nejčastěji tvořen papilami lemovanými eosinofilními buňkami s objemnějším množstvím cytoplazmy, nukleární pseudostratifikací a vyšším nukleolárním gradem (20). Zatímco typ 1 papilární RK je poměrně monomorfní tumor s konzistentními cytogenetickými rysy (nejčastěji polysomie chromozomů 7 a 17 a ztráta chromozomu Y (3)), typ 2 papilární RK je heterogenní skupina nádorů s velmi variabilní morfologií i karyotypem (mnohočetné chromozomální imbalance čítající zisky či ztráty chromozomů 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 15, 18 a 22 (21, 22)). Aktuální WHO klasifikace renálních tumorů z roku 2016 uznává jako potencionální „typ 3“ onkocytickou variantu papilárního RK, kde jsou papily lemované onkocytickými buňkami s nepřekrývajícími se blandními jádry. Imunoprofil odpovídá papilárnímu RK, přičemž jeho molekulárně genetická definice zatím chybí. Jak dokazuje zvyšující se množství reportovaných případů, papilární RK se vyskytuje v mnoha podobách, byly popsány papilární RK s rysy na pomezí typu 1 a 2 papilárního RK (23) či varianty nespádající ani do jedné kategorie. Následující publikace popisují některé nové varianty či zpřesňují zařazení již popsaných variant do některé z kategorií papilárního RK. Naše studie přispívají k nyní stále více uznávanému pohledu, že papilární RK nelze striktně dělit na typ 1, 2 a potencionální typ 3, ale že morfologické a klinicko-patologické spektrum se s novými poznatky stále rozšiřuje. Ačkoliv prognóza a léčba pacientů odvisí hlavně od stadia (stage) tumoru v době diagnózy, rozpoznat, že se jedná o papilární RK, je důležité, a povědomí o spektru morfologických variant papilárních RK má tak klinický význam.

Studie 1.1.3.A. popisuje 10 případů papilárních RK s rysy renálního onkocytomu (RO). Námi prezentované případy byly podobné onkocytickému papilárnímu RK, sporné nádorové jednotce morfologicky na pomezí papilárního RK a RO (3, 24, 25), s doposud nejednoznačně definovanými chromozomálními odchylkami (24, 26-29)). Papilární RK karcinomy s rysy RO prezentované ve studii 1.1.3.A. se od onkocytických papilárních RK odlišovaly pseudostratifikací jader a jejich vyšším gradem (WHO/ISUP grade 2-3), architektonicky byly, podobně jako onkocytické papilární RK, papilární či tubulopapilární. V naší konzultační praxi jsme se opakovaně setkali s případy zasílanými s diagnózou „agresivní onkocytom.“ Tato studie byla koncipována s cílem objasnit morfologické, IHC a cytogenetické charakteristiky těchto „agresivních onkocytomů.“ K analýze jsme přistoupili z hlediska podobnosti našich případů jak s papilárním renálním karcinomem, tak renálním onkocytomem. Na morfologicky kompatibilní tumory s dobrou kvalitou DNA (23 případů) jsme aplikovali IHC panel složený převážně z protilátek charakterizujících papilární RK a RO (MIA, AMACR, PAX8, CK7, CK20, AE1-3, CAM5.2, OSCAR, cathepsin K, HMB45, SDHB, CD10 a CD117), stejným způsobem jsme přistoupili k FISH analýze (použity byly centromerické próby pro detekci enumerace chromozomů X, Y, 7, 17, lokus 1p36 a break-apart sonda pro *CCND1*). S cílem zařadit do studie 1.1.3.A. uniformní sestavu tumorů, byly po cytogenetické analýze dále vyřazeny případy vykazující karyotyp diagnostický pro papilární RK (trisomie chromozomů 7 a 17, ztráta Y) a předmětem se stalo pouze 10 případů s chromozomálním statutem charakteristickým pro renální onkocytom. Imunohistochemicky byly všechny případy pozitivní v průkazu AMACR, vimentinu, PAX8, OSCAR, CAM5.2 a MIA. Expresí SDHB byla ve všech případech zachována. Devět z deseti případů reagovalo s CD10, 7/10 s CK7, 4/10 s cathepsinem K a 2/10 s AE1-3. Všechny tumory byly negativní v reakci s CD117, HMB45 a CK20. Výsledky FISH analýzy odpovídaly ve všech deseti případech chromozomálním aberacím charakteristickým pro RO (ztráta genového lokusu 1p36, ztráta chromozomu Y, rearanže *CCND1* a numerické odchylky chromozomu 14).

Přestože cytogeneticky papilární RK karcinomy s rysy RO odpovídaly RO, zařadili jsme je do skupiny papilárních RK na základě histologické podobnosti (papilární/tubulopapilární architektura) a imunoprofilu (reaktivita s AMACR, vimentinem, CK7, PAX8 a negativita s CD117). Závěrem lze říci, že ne ve všech případech molekulárně genetické vlastnosti rozhodují o konečné diagnóze, konkrétně v této situaci by k nim nemělo být přihlíženo a diagnóza by se měla řídit morfologií s podporou imunoprofilu, obojí odpovídající papilárnímu RK. Rozlišení papilárního RK karcinomu s rysy RO od RO je klinicky významné, protože RO je indolentní tumor, který se chová agresivně pouze ve zcela výjimečných případech (30, 31), kdežto papilární RK karcinom s rysy RO je potenciaálně agresivní (1/10 pacientů v naší sérii jeho následkem zemřel).

Cílem studie 1.1.3.B. bylo demonstrovat, že papilární RK typu 1 se může vzácně prezentovat jako objemná cystická léze ohraničená silným fibroleiomyomatózním pouzdem, vyplněná hemoragickou/nekrotickou hmotou. Přítomnost nekrózy u renálních karcinomů je všeobecně uznávána jako nepříznivý prognostický faktor, ačkoliv její význam je pevně ustanoven pouze u světlobuněčných renálních karcinomů a zde platí, že pouze koagulační nekróza má vliv na prognózu (32-34). Význam přítomnosti nekrózy u papilárního RK není zatím zcela objasněn; dosavadní publikace prokazují nekonzistentní výsledky. Do naší studie jsme zařadili 10 cystických a rozsáhle nekrotických papilárních RK, které se, dle dostupných klinických informací, chovaly biologicky příznivě (bez agresivního lokálního růstu, bez metastáz). Zaměřili jsme se na precizní morfologická kritéria a zařadili pouze jednotné tumory: sférické, cystické, vyplněné hemoragickou/nekrotickou tekutinou. Tumory byly obklopeny výraznou kapsulou, v 8/10 případech bylo pouzdro tvořeno hypocelulární fibroleiomyomatózní tkání. Ve zbývajících 2 případech bylo pouzdro celulózní, s buněčnou komponentou zastoupenou myofibroblasty a výraznou lymfocytární příměsí, histologicky odpovídající inflamatornímu myofibroblastickému tumoru (IHC však negativní v průkazu ALK). Na vnitřní části pouzdra byl u všech tumorů mikroskopicky zastižen tenký lem neoplastických buněk, které odpovídaly typu 1 papilárnímu RK. Všechny případy byly IHC pozitivní s AMACR, OSCAR, CAM5.2, HIF-2 a vimentinem. Molekulárně genetický profil byl taktéž ve všech případech kompatibilní s diagnózou papilárního RK typu 1. Abnormality *VHL* genu nebyly v žádném z tumorů zjištěny. Nekróza, která ve všech případech měla kolikvační charakter, neměla vliv na biologické chování tumorů a pokud se tato vyskytne papilárního RK typu 1, neměla by být automaticky považována za nepříznivý prognostický faktor. Tato studie si však neklade za cíl ustanovit nová prognostická kritéria pro typ 1 papilární RK, jejím záměrem bylo vybrat skupinu morfologicky uniformních papilárních RK typu 1 s neobvyklými makroskopickými a mikroskopickými znaky (cystická léze s nekrotickým obsahem) a upozornit na fakt, že kolikvační nekróza u tohoto morfologického typu papilárního RK nemá pravděpodobně prognostický význam.

Ve vzácných případech vykazuje papilární RK solidní architekturu. Do studie 1.1.3.C. jsme nashromáždili 10 těchto tumorů, které byly vyšetřeny imunohistochemicky a cytogeneticky. Solidní papilární RK je složen z malých bazofilních buněk odpovídajících papilárnímu RK typu 1 (35, 36). Solidní vzhled byl v sérii našich tumorů dán převážně stlačenými tubuly a abortivními papilami, méně často šlo o "pravou" solidní architekturu. Nádorové buňky měly fokálně low-grade vřetenobuněčnou morfologii. Dle studie 1.1.3.C. a rešerše literatury postihuje solidní papilární RK častěji muže (poměr 3,5:1), a mívá indolentní průběh, většina případů byla odhalena ve stadiu pT1. Imunoprofil (reaktivita s protilátkami CK7, AMACR, EMA) a karyotyp (polysomie/trisomie chromozomů 7 a 17, ztráta chromozomu Y) v naší studii korespondoval s papilárním RK typu 1. Zaměřili jsme se převážně na diferenciální diagnostiku tohoto vzácného typu papilárního RK. Je třeba vyloučit zvláště metanefrický adenom, dále epiteloidní nefroblastom, mucinózní tubulární a vřetenobuněčný RK a případně i solidní onkocytický RK. Metanefrický adenom se vyskytuje

u mladších pacientů, převážně u žen. Ačkoliv oba typy tumorů se mohou morfolo­gicky výrazně překrývat, imunoprofil a molekulárně genetické znaky se liší: metanefrický adenom adenom je typicky CK7 a AMACR negativní, WT1 a CD57 pozitivní a vy­kazuje mutace genu *BRAF V600E* (37, 38). Aberace chromozomů 7, 17 a Y chybí (39). Epiteloidní nefroblastom lze též snadno odlišit pomocí IHC a genetiky (38), navíc se tento typ tumoru jen velmi raritně vyskytuje u dospělých pacientů. Protože epitelové buňky u solidního papilárního RK mohou nabývat až vřetenitého vzhledu, v diferenciální diagnostice připadá v úvahu i mucinózní tubulární a vřetenobuněčný RK. Tento tumor dle své definice obsahuje myxoidní stroma. Existují však i na hlen chudé mucinózní tubulární a vřetenobuněčné RK a tomto případě může být odlišení svízelné. Doporučujeme důkladné zabločkování tumoru, po kterém jsou většinou partie typické pro mucinózní tubulární a vřetenobuněčný RK objeveny. Solidní onkocytický RK uvádíme spíše z důvodu solidní architektiky, jinak platí, že tento tumor může být bez nesnáží od solidního papilárního RK odlišen na základě histologie.

Papilární renální karcinom může vzácně obsahovat mucinózní materiál a být tak snadno zaměnitelný za mucinózní tubulární a vřetenobuněčný RK, pro něhož je přítomnost intersticiálního hľenu typická (40). Distribuce hľenu je u papilárního RK nicméně odlišná, jedná se o intracytoplazmatický a/nebo intraluminální mucin, nikoliv intersticiální. Obecně však lze říci, že, vyjma mucinózního tubulárního a vřetenobuněčného RK, nález hľenového materiálu v renálních karcinomech (kromě papilárního RK se vzácně může vyskytnout ve světlobuněčném RK, RO nebo papilárním adenomu), vzbuzuje spíše podezření na sekundární neoplazii, zvláště uroteliálního či kolorektálního origa. Mucikarmin, empiricky užívané histochemické barvení na hľen a hľenu podobný materiál, je dokonce některými patologi v papilárních tumorech ledvin využíván na vyloučení renálního původu. Cílem studie 1.1.3.D. bylo prokázat, že vzácně existují i mucikarmin pozitivní primární papilární RK. Z plzeňského registru nádorů jsme na základě vhodných klíčových slov a morfolo­gie vybrali 7 mucikarmin pozitivních (intracytoplazmaticky a/nebo intraluminálně) případů papilárních RK, které byly dále analyzovány histochemicky, IHC a cytogeneticky (aCGH, FISH). Morfolo­gicky (papilární architektika) a imunohistochemicky (koexprese AMACR, vimentinu, CK7) zapadaly všechny tumory do vzorce papilárního RK, převážně typu 1. Karyotyp nebyl u případu 1 a 5 typický pro papilární RK, avšak kombinace typické morfolo­gie a imunoprofilu nám dovolila zařadit je mezi papilární RK. Ve studii 1.1.3.D. dáváme výraz mucin do uvozovek nebo používáme termín mucinu podobný materiál, jelikož dle IHC a histochemických výsledků jde pravděpodobně o heterogenní materiál: 5/7 případů bylo silně difúzně nebo fokálně pozitivních v reakci s MUC1, 2/7 slabě/slabě fokálně pozitivních s MUC5AC, průkaz MUC2, MUC4 a MUC6 byl u všech případů negativní. Všechny případy reagovaly pozitivně s mucikarminem a 6/7 případů s PAS, avšak s odlišnou intenzitou i distribucí. 3/7 případy byly slabě pozitivní v barvení alcianovou modří. Hlavní poslá­ní publikace 1.1.3.D. tkví v povědomí o této vzácné morfolo­gické variantě papilárního RK zejména díky snadné záměně za sekundární novotvar.

Jak dokazuje studie 1.1.3.E, bifazický skvamoidní alveolární RK též spadá do morfolo­gického spektra papilárních renálních karcinomů, ačkoliv se původně myslelo, že jde o samostatnou jednotku (41). Bifazický skvamoidní alveolární RK byl poprvé popsán naší institucí v sérii 2 případů v roce 2012 (41). Od té doby jsme shromáždili dalších 20 případů, které jsme zařadili do studie 1.1.3.E (jeden případ z původní studie (41) byl po molekulárně genetickém otestování předdiagnostikován na neklasifikovatelný RK a vyřazen), jejímž cílem bylo tuto jednotku lépe histopatologicky a biologicky definovat. Hodnotili jsme 21 případů, které byly histologicky charakterizovány nápadným solidně-alveolárním uspořádáním tvořeným dvěma typy buněk ve variabilním poměru: 1) malé blandní nádorové buňky chudé na cytoplazmu, které lemují vnitřní stranu alveolárních struktur; 2) větší skvamoidní buňky s objemnější cytoplazmou a větším měchýřkovitým jádrem, které jsou uspořádané do

kompaktních hnízd. Pravá skvamocelulární diferenciace nebyla morfologicky ani IHC prokázána (absence intercelulárních můstek a/nebo keratinových perel, negativita s p63), považujeme proto za vhodnější druhou skupinu buněk nazývat skvamoidními namísto skvamózními. Dalším nepřehlédnutelným a konstantním znakem byla přítomnost emperipolézy, která byla zastížena ve všech tumorech. V 9/21 tumorech jsme identifikovali přechod skvamóalveolárních struktur do partií vzhledu papilárního RK typu 1. IHC byly všechny tumory pozitivní s CK7, EMA, vimentinem, cyklinem D1, 20/21 tumorů s AMACR. Reakce s CK20 byla ve 20/21 případech negativní. FISH metodou jsme ve všech analyzovatelných tumorech detekovali nadbytečné chromozomy 7 a 17, ve 4/5 případech u mužských pacientů byla detekována ztráta chromozomu Y. Array komparativní genová hybridizace odhalila další chromozomální změny, nejčastěji zisk chromozomu 20. Z dostupných klinických dat je zřejmé, že bifazický skvamoidní alveolární RK má metastatický potenciál (metastazovalo 5 případů), nicméně na odhad prognózy je zatím sesbíráno málo případů. V diferenciální diagnóze připadá v úvahu zvláště uroteliální karcinom, všechny vyšetřované tumory však byly intrarenální, renální pánvička intaktní, uroteliální in situ léze nebyla zastížena, reakce s CK20 byla negativní. Nález histologických znaků charakteristických pro papilární RK společně s imunoprofilem a karyotypem podporují domněnku, že bifazický skvamoidní alveolární RK patří do morfologického spektra papilárního RK a není samostatnou jednotkou.

Další podtyp papilárních RK představuje studie 1.1.3.F. popisující 11 případů Warthin-like papilárních RK. Šlo o onkocytické papilární RK, které vykazovaly výraznou denzní lymfocytární stromální infiltraci a napodobovaly tak Warthinův tumor slinných žláz nebo Warthin-like variantu papilárního karcinomu štítné žlázy. Tumor infiltrující lymfocyty (TIL) a peritumorální lymfocyty jsou častým doprovodným znakem karcinomů spojených s Lynchovým syndromem. Imunohistochemická nukleární exprese tzv. mismatch repair proteinů MLH1 a PMS2 byla zachována ve všech námi studovaných případech, MSH2 a MSH6 byly v 1/11 případech negativní. Tento byl následně geneticky otestován na přítomnost mikrosatelitní instability, metylaci MLH1 promotoru a mutaci genu *BRAF V600E*, vše s negativním výsledkem, což nepoukazuje na spojitost TIL ve Warthin-like papilárních RK s Lynchovým syndromem a zároveň i vylučuje účast vyšetřovaných *MMR* genů na jejich tumorigenezi. Imunoprofil Warthin-like papilárních RK odpovídal onkocytickému papilárnímu RK (pozitivita s AMACR, MIA, vimentinem, negativita s CANH9, CD117). Reakce s TTF-1 byla negativní, což vyloučilo metastatický původ. Celogenomové sekvenování za účelem detekce copy number variations odhalilo v 5 případech komplexní genomové přestavby (mnohočetné chromozomální zisky a ztráty), přičemž pouze v 1 z těchto případů byly mimojiné zastíženy změny typické pro papilární RK (nadpočetné chromozomy 7 a 17), 4 případy byly bez numerických imbalancí (9/11 tumorů bylo analyzovatelných). Molekulární analýza nepodporuje klasifikaci námi vyšetřovaných tumorů ani do jedné z kategorií papilárního RK, karyotypem se spíše podobají chromofobnímu RK. Myslíme se však, že morfologická a IHC podobnost s onkocytickým papilárním RK dovoluje zařadit Warthin-like papilární RK právě pod tento subtyp. Tři případy z naší série měly metastatický potenciál, je tudíž možné, že se jedná o agresivní variantu papilárního RK.

1.1.4. CHROMOFBNÍ RENÁLNÍ KARCINOM A JEHO VARIANTY

(komentář 2 publikací)

1.1.4.A. Chromophobe renal cell carcinoma with neuroendocrine and neuroendocrine-like features. Morphologic, immunohistochemical, ultrastructural, and array comparative genomic hybridization analysis of 18 cases and review of the literature

Peckova K, Martinek P, Ohe C, Kuroda N, Bulimbasic S, Condom Mundo E, Perez Montiel D, Lopez JI, Daum O, Rotterova P, Kokoskova B, Dubova M, Pivovarcikova K, Bauleth K, Grossmann P, Hora M, Kalusova K, Davidson W, Slouka D, Miroslav S, Buzrla P, Hynek M, Michal M, Hes O.

Ann Diagn Pathol. 2015 Aug;19(4):261-8. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2015.05.001. Epub 2015 May 12.

1.1.4.B. Morphological, immunohistochemical, and chromosomal analysis of multicystic chromophobe renal cell carcinoma, an architecturally unusual challenging variant

Foix MP, Dunatov A, Martinek P, Mundó EC, Suster S, Sperga M, Lopez JI, Ulamec M, Bulimbasic S, Montiel DP, Alaghebandan R, Peckova K, Pivovarcikova K, Ondrej D, Rotterova P, Skenderi F, Prochazkova K, Dusek M, Hora M, Michal M, Hes O.

Virchows Arch. 2016 Dec;469(6):669-678. Epub 2016 Sep 15.

Chromofobní renální karcinom (RK) je indolentní tumor, histologicky v typickém případě složen ze solidně nebo solidně alveolárně uspořádané populace buněk s listovitým tvarem a objemnou světlou, ostře ohraničenou cytoplazmou, a příměsí menších onkocytických buněk. Jádro je hrozinkovitě tvarované, s perinukleárním projasněním. Rozeznávají se dvě základní varianty: klasická a eosinofilní. Chromofobní RK však může demonstrovat širší spektrum morfologických znaků, byla popsána mikrocystická adenomatoidní pigmentovaná varianta, chromofobní RK s neuroendokrinními znaky, s fokální papilární proliferací či varianta napodobující renální onkocytom (42-48).

Ve studii 1.1.4.A jsme porovnávali skupinu chromofobních RK s neuroendokrinní diferenciací s chromofobními RK se znaky pouze napodobujícími neuroendokrinní diferenciací s cílem zjistit, zda její přítomnost ovlivňuje klinický průběh a prognózu pacienta. Neuroendokrinní diferenciaci se v chromofobních RK vyskytuje pouze raritně, histologicky je definována příměsí malých uniformních buněk uspořádaných kribriformně, gyriformně, do pseudorozet, hnízdovitých struktur či palisádových pruhů. K průkazu pravosti neuroendokrinní diferenciaci je nutné tento morfologický obraz podpořit imunohistochemickou expresí neuroendokrinních markerů v malobuněčné komponentě. Pokud jsou negativní, jedná se o chromofobní RK se znaky napodobujícími neuroendokrinní diferenciací a nikoliv o pravou neuroendokrinní diferenciací. Do studie 1.1.4.A bylo vybráno 18 morfologicky uniformních případů, které byly na základě výše popsané reaktivity neuroendokrinních markerů rozděleny do dvou skupin: 4 případy chromofobních RK s pravou neuroendokrinní diferenciací a 14 případů chromofobních RK napodobujících neuroendokrinní diferenciací. Všechny chromofobní RK s pravou neuroendokrinní diferenciací reagovaly imunohistochemicky pozitivně s protilátkami proti synaptofyzinu, NSE a CD56, 1/4 tumorů byl pozitivní s chromograninem. Cytogeneticky byly detekovány ztráty chromozomů 1, 2, 6 a 10. Tumory zařazené do skupiny chromofobních RK napodobujících neuroendokrinní diferenciací byly

negativní v reakci s neuroendokrinními markery a karyotyp měly pestřejší, s mnohočetnými chromozomálními ztrátami (chromozomy 1, 2, 6, 10, 13, 17 a 21) i zisky (chromozomy 4, 11, 12, 14, 15, 16, 19 a 20). Všechny tumory zařazené do studie byly pozitivní v IHC průkazu CD117 a CK7. 2/4 chromofobních RK s pravou neuroendokrinní diferenciací metastazovalo, oproti tomu chromofobní RK napodobující neuroendokrinní diferenciaci měly benigní průběh. Z výsledků studie 1.1.4.A vyplývá, že ve většině případů chromofobních RK s morfologickými znaky určujícími neuroendokrinní diferenciaci se jedná pouze o růstovou variantu chromofobního RK a nikoliv o pravou neuroendokrinní diferenciaci. Ačkoliv naše série obsahuje malý počet vzorků na to, aby byly výsledky statisticky významné, klinický průběh obou skupin tumorů naznačuje, že přítomnost pravé neuroendokrinní diferenciace může mít negativní vliv na prognózu.

Studie 1.1.4.B si klade za cíl rozšířit morfologické spektrum chromofobních RK o dalšího člena: multicystickou variantu chromofobního RK. Do studie bylo na základě morfologického obrazu zařazeno 10 případů chromofobních RK s příznačnou multicystickou architektonikou, které byly následně vyšetřeny za pomoci IHC a aCGH. Histologicky vykazovaly všechny tumory růstové uspořádání dvojího typu: 1) různě velké cysty budící dojem multilokulární cystické neoplazie nízkého maligního potenciálu a 2) stlačené cysty a tubuly se štěrbinovitými prostory. Ve všech vyšetřených tumorech byla konzistentně přítomna hrozkovitě tvarovaná jádra patognomická pro chromofobní RK a ve čtyřech případech jsme zastihli depozita lipochromu. IHC vyšetření (pozitivita s EMA, CK7, OSCAR, CD117, parvalbuminem, MIA, PAX8 a negativita s vimentinem, TFE3, CANH9, HMB45, cathepsinem K, AMACR a Ki-67) bylo kompatibilní s diagnózou chromofobního RK, stejně tak jako molekulárně genetická analýza (2/5 analyzovatelných případů vykazovalo mnohočetné chromozomální ztráty a zbývající 3 byly bez numerických aberací). Dříve popsaná adenomatoidně mikrocystická pigmentovaná varianta chromofobního RK (43, 49), jak už název napovídá, roste adenomatoidně a mikrocysticky a obsahuje hnědý pigment odpovídající lipochromu. Na základě nálezu lipochromu u téměř poloviny případů a architektoniky spadající do „cystického“ spektra tohoto tumoru, vnímáme multicystické chromofobní RK jako extrémní formu adenomatoidně mikrocystické pigmentované varianty chromofobního RK. IHC, molekulárně i klinicky (žádný z tumorů nevykazoval agresivní chování) jsou zde popisované tumory kompatibilní s konvenčním chromofobním RK, avšak diferenciálně diagnosticky je třeba zvažovat odlišné jednotky, jmenovitě cystickou/multicystickou variantu RO, multilokulární cystickou neoplazii nízkého maligního potenciálu, granulární/eosinofilní high grade variantu světlobuněčného RK, tubulocystický RK nebo smíšený epiteliální a stromální tumor ledviny. Obecně lze říci, že výše zmíněné diferenciálně diagnostické jednotky lze od multicystické varianty chromofobního RK odlišit cytomorfoloogicky a imunohistochemicky.

1.1.5. ONKOCYTICKÉ RENÁLNÍ TUMORY, ONKOCYTOMY A TUBULOCYSTICKÉ RENÁLNÍ KARCINOMY

(komentář 3 publikací)

1.1.5.A Cystic Renal Oncocytoma and Tubulocystic Renal Cell Carcinoma: Morphologic and Immunohistochemical Comparative Study

Skenderi F, Ulamec M, Vranic S, Bilalovic N, Peckova K, Rotterova P, Kokoskova B, Trpkov K, Vesela P, Hora M, Kalusova K, Sperga M, Perez Montiel D, Alvarado Cabrero I, Bulimbasic S, Branzovsky J, Michal M, Hes O.

Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2016 Feb;24(2):112-9.

1.1.5.B "High-grade oncocytic renal tumor": morphologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 14 cases

He H, Trpkov K, Martinek P, Isikci OT, Maggi-Galuzzi C, Alaghebandan R, Gill AJ, Tretiakova M, Lopez JI, Williamson SR, Montiel DP, Sperga M, Comperat E, Brimo F, Yilmaz A, Pivovarcikova K, Michalova K, Slouka D, Prochazkova K, Hora M, Bonert M, Michal M, Hes O.

Virchows Arch. 2018 Dec;473(6):725-738. doi: 10.1007/s00428-018-2456-4. Epub 2018 Sep 19.

1.1.5.C Molecular Genetic Alterations in Renal Cell Carcinomas With Tubulocystic Pattern: Tubulocystic Renal Cell Carcinoma, Tubulocystic Renal Cell Carcinoma With Heterogenous Component and Familial Leiomyomatosis-associated Renal Cell Carcinoma. Clinicopathologic and Molecular Genetic Analysis of 15 Cases

Ulamec M, Skenderi F, Zhou M, Krušlin B, Martinek P, Grossmann P, Peckova K, Alvarado-Cabrero I, Kalusova K, Kokoskova B, Rotterova P, Hora M, Daum O, Dubova M, Bauleth K, Slouka D, Sperga M, Davidson W, Rychly B, Perez Montiel D, Michal M, Hes O.

Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2016 Aug;24(7):521-30.

Renální onkocytom (RO) je v typickém případě charakterizován velkými eosinofilními buňkami uspořádanými nejčastěji solidně nebo ve formě solidních hnízd rozptýlených v řídkém hypocelulárním stromatu (3), architektura i cytologické vlastnosti jsou však značně variabilní. Nedávno publikovaná rozsáhlá klinickopatologická studie potvrzuje benigní povahu RO; u 109 studovaných případů nebyla prokázána lokální recidiva, vzdálená metastáza ani smrt pacienta zapříčiněná tumorem (průměrný follow-up 51 měsíců) (30). RO je znám svou schopností histologicky napodobovat maligní tumory, jmenovitě chromofobní renální karcinom (RK), onkocytický papilární RK či granulární variantu světlobuněčného RK (24, 27, 42, 50). Kromě onkocytomu lze mezi onkocytické renální tumory zařadit hybridní onkocytický/chromofobní tumor s morfologií na pomezí RO a chromofobního RK. Tyto tumory se mohou vyskytovat jako solitární sporadická léze, častěji však rostou multifokálně buď v rámci Birt-Hogg-Dube syndromu či renální onkocytózy (50-52). Dle aktuální WHO klasifikace z roku 2016 jsou aktuálně řazeny jako podtyp chromofobního RK. Kromě vyjmenovaných jednotek lze mezi onkocytické tumory dále započítat onkocytický papilární RK či renální onkocytózu. Nicméně, existují případy složené z onkocytických buněk nezapadající ani do jedné kategorie (53).

Tubulocystický RK byl v roce 2016 uznán v nově publikované WHO klasifikaci uznán jako samostatná jednotka (3). Architektonicky je charakterizován tubulárně cystickým uspořádáním, cytologicky atypickými cvočkovitými buňkami často vysokého WHO/ISUP nukleolárního stupně. Je považován za níže maligní karcinom s potenciálem agresivního klinického průběhu.

Přibližně 5% RO roste ve formě multicystické léze, která může být snadno zaměněna za tubulocystický RK, zvláště pokud není k dispozici dostatek materiálu (nedostatečný sampling, punkční biopsie). Odlišení těchto dvou jednotek má význačný klinický dopad, a cílem studie 1.1.5.B tak bylo nalézt diferenciálně diagnostické aspekty. Porovnali jsme 24 cystických RO a 15 tubulocystických RK na základě architektiky, charakteru stromatu, cytomorfolgie, WHO/ISUP nukleolárního grade, přítomnosti nekróz, mitotické aktivity a IHC vlastností (použité protilátky: AE1-AE3, OSCAR, CAM5.2, CK7, vimentin, CD10, CD117, AMACR, CA-IX, MIA, EMA a Ki-67). RO vykazoval ve všech případech alespoň fokálně solidní růst, stroma bylo řídké, hypocelulární, WHO/ISUP nukleolární grade byl převážně 1 a 2, nekrózy a mitózy nebyly přítomné. Imunohistochemicky byly všechny RO silně pozitivní s CD117 a negativní nebo slabě pozitivní v průkazu vimentinu, negativní v reakci s CD10 a AMACR. Narozdíl od RO, tubulocystický RK nevykazoval solidní růst, stroma mělo fibrózní charakter, WHO/ISUP grade byl vyšší (převážně 2 a 3), fokálně byly přítomné nekrózy a mitózy. Imunohistochemický průkaz CD117 byl ve 14/15 tubulocystických RK negativní (1 případ se barvil slabě pozitivně). Vimentin reagoval silně a difuzně pozitivně, CD10, CK7 a AMACR byly pozitivní difuzně nebo fokálně. Protilátky AE1-AE3, OSCAR, CAM5.2, CA-IX, MIA a EMA byly bez diskriminačního významu. Ačkoliv se cystický RO a tubulocystický RK mohou morfologicky překrývat, při důkladném zhodnocení lze oba tumory odlišit na základě histologických znaků v kombinaci s imunohistochemií: přítomnost/absence solidního růstu, mitotické aktivity a nekrózy, typ stromatu, nukleolární grade, společně s aplikací IHC panelu zahrnujícího vimentin, CD117, CD10, CK7, AMACR a Ki-67 jsou dobrým vodítkem ke správné diagnóze.

Cílem studie 1.1.5.B bylo představit 14 high-grade onkocytických tumorů, které dle našeho názoru představují distinktní, dosud nepopsanou jednotku. Přes morfologické podobnosti s RO, chromofobním RK, hybridním onkocytickým/chromofobním tumorem, t(6;11) RK a dalšími vzácnými eosinofilními tumory, nespádají ani do jedné z těchto kategorií. Tumory byly histologicky uniformní, charakterizované převážně onkocytickými buňkami s high grade jádry (WHO/ISUP grade 3) a výraznými intracytoplazmatickými vakuolami. Dalším nápadným znakem byly tlustostěnné cévy a vmezeřené nenádorové tubuly, převážně na periferii lézí. IHC byla většina případů reaktivních s CD117, MIA, cathepsinem K, CD10 a negativní nebo fokálně pozitivní s CK7. Array komparativní genová hybridizace detekovala chromozomální numerické aberace na 19. chromozomu ve 4/9 analyzovatelných tumorů (3 tumory vykazovaly ztrátu pouze krátkého raménka (p) a 1 ztrátu obou (p a q)). Druhou nejčastější chromozomální alterací byla ztráta chromozomu 1 (3/9 případů). U 3/9 případů se nepodařilo detekovat žádné chromozomální abnormality. Metodou PCR a přímým sekvenováním byly vyloučeny mutace genu všech podjednotek genu *SDH*, metoda FISH za užití break-apart sond neprokázala zlomy v genech *TFE3* a *TFEB*. Jak je zřejmé, námi prezentované tumory sdílí znaky RO a chromofobního RK a tudíž se nabízí zařadit je mezi hybridní onkocytické/chromofobní tumory. Myslíme si však, že mezi nimi existuje řada odlišností vylučující jejich zařazení do jedné kategorie. Morfologicky se od hybridních tumorů lišily výraznými cytoplazmatickými membránami, intracytoplazmatickými vakuolami místy propůjčujícími buňkám vzhled pečetiho prstenu (signet ring cells), tlustostěnnými cévami a v neposlední řadě jádry s vysokým nukleárním grade a výraznými jádérky. Cytogeneticky byly nejčastěji detekovány ztráty chromozomu 19, ačkoliv žádném z případů nešlo o výpadky celých chromozomů typické pro chromofobní RK. Všechny tumory byly solitární, bez asociace s Birt-

Hogg-Dubé syndromem. Přes high grade jadernou morfológii se všechny chovaly benigně, což není u renálních tumorů nijak výjimečným jevem, jak mimo jiné dokazuje studie 1.1.2.B a další (54). Znalost morfológie diferenciatně diagnostických jednotek, jmenovitě t(6;11) tRK, onkocytického papilárního RK, eosinofilního solidního a cystického RK či SDH deficientního RK, v kontextu s imunoprofilem a molekulárně genetickými znaky by měly být dostačující k jejich odlišení od námi prezentovaných tumorů.

Studie 1.1.5.C si klade za cíl prezentovat morfológickou variabilitu tubulocystického RK a definovat karyotyp této mladé nádorové jednotky. Morfológie tubulocystického RK se může překrývat s papilárním RK a to v tom smyslu, že některé případy tubulocystického RK v sobě mohou skrývat struktury napodobující papilární RK. Někdy lze nalézt typický tubulocystický RK s dobře ohraničeným ložiskem „pravého“ papilárního RK: tato situace stále dovoluje tumor diagnostikovat jako tubulocystický RK. Tumory se složkami tubulocystického a papilárního RK bez ostrého ohraničení, promíchané mezi sebou, však již nejsou kompatibilní s diagnózou tubulocystického RK. Ten však může být morfológicky pestřejší a obsahovat i příměsi jiných tumorů než papilárního RK. Cytogeneticky není tubulocystický RK zatím nijak obšírně prozkoumán, nejčastěji pozorované abnormality zahrnují trizomie/polyzomie chromozomů 7 a 17, společně se ztrátou chromozomu Y, což jej sblízuje s papilárním RK. Studie 1.1.5.C zahrnuje 15 případů RK s tubulocystickým uspořádáním: 6 klasických tubulocystických RK, 6 tubulocystických RK s dobře ohraničenými ložisky papilárních RK (v 5 případech byla ložiska integrální součástí tumoru, v jednom případě bylo ložisko papilárního RK od tubulocystického RK 2 cm vzdáleno), 2 tubulocystické RK s komponentou solidního high-grade karcinomu (v 1 případě byla zastížena i dobře ohraničená ložiska papilárního RK-like tumoru) a 1 tubulocystický RK s komponentou napodobující světlobuněčný papilární RK/renální angiomyoadenomatózní tumor (RAT). Čtyři z patnácti případů mely agresivní klinický průběh, kdy pacienti na následky nádorového onemocnění zemřeli. 3/4 agresivně se chovajících případů byly histologicky tumory s heterogenní komponentou, 1/4 byl čistý tubulocystický RK. Molekulárně geneticky jsme v každé distinktní komponentě zvlášť vyšetřili numerické aberace chromozomů 7, 17 a Y, mutaci genu *VHL* a v některých případech i *fumarát hydratázy* (*FH*), LOH 3p. V komponentě tubulocystického RK byly v 9/15 případech detekovány dizomie chromozomu 7, v 7/15 případech polyzomie chromozomu 17 a v 1 případě ztráta chromozomu Y. V komponentě morfológicky odpovídající papilárnímu RK vykazovaly 2/3 vyšetřitelných případů dizomii chromozomu 7 a polyzomii chromozomu 17, status Y chromozomu byl nezměněn. Jeden případ high-grade tubulocystického RK vykazoval abnormality pouze chromozomu 7 (dizomie) a v jednom high grade tumoru s agresivním klinickým průběhem byla nalezena mutace genu *FH*. Tubulocystický RK s komponentou napodobující světlobuněčný papilární RK/RAT vykazoval polyzomie chromozomů 7, 17, mutace genu *VHL* a LOH3p. Ze studie 1.1.5.C plyne, že tubulocystický RK má variabilní status chromozomů 7, 17 a Y, a to dokonce i v morfológicky uniformních případech. Biologické chování tumorů s úseky napodobujícími papilární/high-grade RK není zatím zcela zřetelné. Dle našeho názoru tubulocystický RK s heterogenní komponentou spíše spadají do kategorie neklasifikovatelných RK, protože se chovají agresivněji než čisté tubulocystické RK. Dále je zřejmé, že v některých případech může být morfológicky velice heterogenní RK spojený s hereditární leiomyomatózou ukryt i v kategorii tubulocystického RK. Navrhujeme proto, aby byly všechny „high-grade tubulocystické RK“ testovány na přítomnost mutace genu *FH*.

1.1.6. SVĚTLOBUNĚČNÉ RENÁLNÍ KARCINOMY

(komentář 4 publikací)

1.1.6.A Low-grade spindle cell proliferation in clear cell renal cell carcinoma is unlikely to be an initial step in sarcomatoid differentiation

Tanas Isikci O, He H, Grossmann P, Alaghehbandan R, Ulamec M, Michalova K, Pivovarcikova K, Montiel DP, Ondic O, Daum O, Prochazkova K, Hora M, Michal M, Hes O. *Histopathology*. 2018 Apr;72(5):804-813. doi: 10.1111/his.13447. Epub 2018 Jan 31.

1.1.6.B High-grade renal cell carcinoma with emperipolesis: Clinicopathological, immunohistochemical and molecular-genetic analysis of 14 cases

Rotterova P, Martinek P, Alaghehbandan R, Prochazkova K, Damjanov I, Rogala J, Suster S, Perez-Montiel D, Alvarado-Cabrero I, Sperga M, Svajdler M, Michalova K, Pivovarcikova K, Daum O, Hora M, Dusek M, Ondic O, Stehlikova A, Michal M, Hes O. *Histol Histopathol*. 2018 Mar;33(3):277-287. doi: 10.14670/HH-11-925. Epub 2017 Sep 1.

1.1.6.C Papillary pattern in clear cell renal cell carcinoma: Clinicopathologic, morphologic, immunohistochemical and molecular genetic analysis of 23 cases

Alaghehbandan R, Ulamec M, Martinek P, Pivovarcikova K, Michalova K, Skenderi F, Hora M, Michal M, Hes O. *Ann Diagn Pathol*. 2018 Nov 22;38:80-86. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2018.11.004. [Epub ahead of print]

1.1.6.D Reactivity of CK 7 across the spectrum of renal cell carcinomas with clear cells

Gonzalez ML, Alaghehbandan R, Pivovarcikova K, Michalova K, Rogala J, Martinek P, Pane Foix M, Condom Mundo E, Comperat E, Ulamec M, Hora M, Michal M, Hes O. *Histopathology*. 2018 Nov 16. doi: 10.1111/his.13791. [Epub ahead of print]

Světlobuněčný renální karcinom (RK) je nejčastějším typem RK. Histologicky je v typickém případě tvořen solidní, alveolární či acinární populací světlých či eozinofilních buněk. Avšak, stejně jako u mnohých jiných typů renálních neoplazií, jde o nejednotnou skupinu maligních tumorů. Následující publikace přispívají k demonstraci morfologické (studie 1.1.6.A, B), architektonické (studie 1.1.6.C) a imunohistochemické (studie 1.1.6.D) heterogenity světlobuněčných RK.

Studie 1.1.6.A popisuje světlobuněčné RK s low-grade vřetenobuněčnou proliferací, morfologickou variantu odlišnou od známé sarkomatoidní přeměny. Sarkomatoidní přeměna ve světlobuněčných RK s sebou přináší agresivní klinický průběh. Biologický proces vedoucí k sarkomatoidní přeměně je nazýván epiteliálně-mezenchymální přechod. Buňky ztrácejí epitelový fenotyp a získávají mezenchymální, což vede ke zvýšené motilitě, schopnosti invadovat, zvýšené rezistenci k apoptóze a zvýšené produkci extracelulární matrix (55). Histologicky je charakterizován nespecifickou vřetenobuněčnou proliferací high-grade charakteru a/nebo morfologií disktinktních mezenchymálních tumorů (např. fibrosarkom, osteosarkom). Morfologická metamorfóza je doprovázena změnami v imunoprofilu. Například, ztráta reaktivity s E-cadherinem a pozitivita s N-cadherinem je považovaná za prototypický znak epiteliálně-mezenchymálního přechodu. Twist a Zeb1 způsobují down-

regulaci E-cadherinu a napomáhají tak nádorové invazi, ztráta exprese p63 značí ztrátu epiteliální diferenciace (56). Velmi vzácně existují i světlobuněčné RK s low-grade vřetenobuněčnou proliferací, odlišné od sarkomatoidního karcinomu. Tyto se staly předmětem studie 1.1.6.A. Biologické vlastnosti tohoto fenoménu, poprvé popsáno v roce 2001 jako „fokální vřetenobuněčná morfologie“ (focal spindle cell morphology), nejsou zatím příliš známé. Autoři prvopopisu upozorňují na fakt, že jeho přítomnost u světlobuněčných RK nezhoršuje jejich klinický průběh (57). Delahunt et al. nazval v roce 2007 tuto změnu „časná vřetenobuněčná přeměna“ (early spindle cell change) a naopak považuje tuto morfologickou změnu za počátek přechodu do sarkomatoidního karcinomu (58). Do studie 1.1.6.A bylo na základě morfologických kritérií (světlobuněčné RK s oblastmi tvořenými nespecifickými blandními vřetenitými buňkami, bez pleomorfie a mitóz) vybráno 11 tumorů, u kterých low-grade vřetenobuněčná proliferace tvořila 5-80% objemu. Nekróza byla přítomna ve všech tumorech a tvořila 5-30% jejich objemu. Bylo provedeno IHC vyšetření za použití markerů konvenčního světlobuněčného RK, markerů epiteliálně-mezenchymálního přechodu (N-cadherin, E-cadherin, Zeb1, p63, vimentin, claudin 1, claudin 7, FoxP3, Sparc a Twist) a mutační analýza *VHL* genu. Jako kontrolní skupina posloužilo 10 konvenčních světlobuněčných RK a 10 světlobuněčných RK s high-grade vřetenobuněčnou proliferací (sarkomatoidní světlobuněčné RK). Imunoprofil vyšetřovaných tumorů se nijak nelišil od konvenčních světlobuněčných RK. Stejně tak se v těchto dvou skupinách tumorů nelišila exprese markerů epiteliálně-mezenchymálního přechodu (slabá exprese N-cadherinu a Zeb1, silnější reakce s E-cadherinem), tato byla naopak odlišná u sarkomatoidního karcinomu. Mutační profil taktéž kopíroval konvenční světlobuněčný RK, v 6/11 případech byly prokázány mutace *VHL* genu či LOH3p. Ačkoliv limitujícím faktorem studie 1.1.6.A je malý počet vzorků, její výsledky nenasvědčují tomu, že by světlobuněčné RK s low-grade vřetenobuněčnou proliferací představovaly iniciální stadium sarkomatoidní diferenciace. Je pravděpodobnější, že spadají do morfologického spektra konvenčních světlobuněčných RK a mají podobné biologické chování. Devět tumorů, u kterých byl dostupný follow-up pacientů, mělo indolentní průběh.

Studie 1.1.6.B vyšetřuje četnost emperipolézy v RK a definuje spektrum tumorů nesoucí tento morfologický znak. Emperipoléza je neobvyklý fenomén vyskytující se v různorodých nádorových i nenádorových lézích, prototypická je pro Rosai-Dorfmanovu nemoc (59). Co se týká renálních tumorů, je konstantním znakem bifazického skvamoidního papilárního RK (viz studie 1.1.3.E). V jiných typech renálních neoplazií je její výskyt neprobádán, obecně je však považována za výjimečný jev. Za pomoci klíčových slov „renal cell“, „kidney“, „carcinoma“, „oncocytoma“, „emperipolesis“, „giant cells“ a „bizarre cells“ jsme elektronicky prohledali plzeňský registr nádorů, obsahující zhruba 20 000 renálních neoplazií. Z 65 tumorů splňujících kritéria výběru jsme jich na základě morfologie následně vybrali 14, které jsme zařadili do studie (26 případů s diagnózou bifazického skvamoidního papilárního RK bylo vyřazeno). Histologicky měly všechny tumory high-grade vzhled, solidně-alveolární, fokálně pseudopapilární uspořádání, konstantně obsahovaly velké buňky podobné rhabdoidním, s bizarními jádry a eosinofilní cytoplazmou. IHC i molekulárně geneticky splňovaly všechny případy kritéria světlobuněčného RK: IHC byly všechny pozitivní s CANH9, OSCAR, vimentinem, cyklinem D1 (nukleárně), INI-1 a negativní s melanocytárními markery, cathepsinem K, myoglobinem, CK7 a TFE3, molekulárně byly ve většině případů (6/9 analyzovatelných) zachyceny abnormality *VHL* genu, z čehož 2 navíc obsahovaly nadpočetné chromozomy 7 a 17 (hodnoceny jako světlobuněčné RK s aberantním počtem chromozomů 7 a 17). Většina (12/14) pacientů byli muži. Klinicky měly tumory velmi agresivní průběh (6/8 pacientů s dostupným follow-upem podleho metastatickému rozsevu). Odhadovaná četnost emperipolézy v renálních neoplaziích je velmi nízká, dle studie 1.1.6.B s incidencí menší než 0,1% a vyskytuje se u dvou typů renálních neoplazií,

bifazickém skvamoidním papilárním RK, jak bylo prokázáno dříve (viz studie 1.1.3.E) a high-grade světlobuněčném RK. V obou typech tumorů se emperipoléza vyskytuje pouze v high-grade komponentě. Nemyslíme si, že by přítomnost emperipolézy indikovala horší prognózu (vzorek tumorů zahrnutý do této studie není statisticky významný), pravděpodobně pouze ilustruje morfoloickou heterogenitu high-grade RK.

Studie 1.1.6.C prezentuje 23 případů světlobuněčných RK s papilární architektonikou. Jedná se o vzácný fenomén, který může, hlavně v punkčních biopsiích či jinak limitovaných vzorcích, vést k diagnostickým obtížím. Zvláště je na snadě záměna s Xp11.2 translokačním RK či světlobuněčným papilárním RK, což jsou jednotky, které by měly být odlišeny z důvodu odlišného biologického chování a terapie. Tumory v naší sestavě byly analyzovány z morfoloického, IHC (CK7, AMACR, CANH9, vimentin, CD10, TFE3, analýza non-papilárních a papilárních oblastí byla provedena zvláště) a molekulárního hlediska (NGS analýza). Dle aktuální WHO klasifikace renálních neoplazií (3) je fokální papilární uspořádání ve světlobuněčných RK přípustné, avšak v naší sestavě tvořily papilární oblasti značnou část objemu tumorů, konkrétně 40-100%. Imunohistochemicky jsme pozorovali v non-papilárních oblastech, například s protilátkou CK7 ve 3 případech fokální pozitivitu, zbývající tumory (20/23) byly negativní, protilátka AMACR vykazovala pozitivitu či fokální pozitivitu v 17/23 případech, zbývajících 6 případů bylo negativních, CANH9 byla pozitivní/fokálně pozitivní v 8/23 případech, zbývajících 15 bylo negativních. V papilární části tumorů byl CK7 většinou negativní (20/23 případů), 3 případy byly pozitivní/fokálně pozitivní, AMACR byla v těchto místech pozitivní/fokálně pozitivní (22/23 případů) 1 případ byl negativní, CANH9 byla pozitivní/fokálně pozitivní v 7/23 případech, 16 tumorů bylo negativních. Všechny případy byly negativní s protilátkou TFE3. Imunohistochemické vyšetření by mělo zásadně pomoci k vyloučení dvou výše zmíněných diferencially diagnostických jednotek: negativita s protilátkou TFE3 svědčí proti Xp11.2 translokačnímu RK; negativita či fokální pozitivita s CK7 proti světlobuněčnému papilárnímu RK, tento je s CK7 typicky difuzně silně pozitivní. Patnáct případů bylo analyzovatelných NGS metodou, nejčastěji mutovaný gen byl *VHL* (9 případů), následován genem *PRBM1* (2 případy), dále bylo nalezeno 29 dalších mutací různých genů. Studie 1.1.6.B dokládá, že papilární architektonika není ve světlobuněčných RK nikterak vzácným jevem. Že se vskutku jedná o světlobuněčné RK, dokazuje imunoprofil a zvláště NGS analýza detekující mutace genu *VHL* ve většině vyšetřených případech.

Imunohistochemickou heterogenitu světlobuněčných RK přibližuje studie 1.1.6.D. Světlobuněčný RK je charakterizován pozitivitou s protilátkami proti CANH9, CD10, nízkomolekulárním cytokeratinům (AE1/3, EMA, CAM5.2), RCC a vimentinu. Reaktivita s protilátkou CK7 je nejstejnější a výsledky jednotlivých publikací na toto téma jsou různorodé (3, 60-63). Dle aktuální WHO klasifikace renálních neoplazií (3) jsou s CK7 pozitivní pouze ojedinělé high-grade světlobuněčné RK, v low-grade renálních neoplaziích je pozitivita limitována pouze na oblasti kolem cystických přeměn. Pozitivita s CK7 je naopak typická pro světlobuněčné léze typu multicystické renální neoplazie nízkého maligního potenciálu a světlobuněčné papilárního RK (3, 61). Cílem studie 1.1.6.D bylo stanovit imunohistochemickou reaktivitu markeru CK7 ve spektru renálních neoplazií složených ze světlých buněk. Analyzovali jsme 2 klony (OV-TL12/30 a SP52) na 75 případech rozdělených dle morfoloie do pěti skupin: 1) low-grade světlobuněčné RK (WHO/ISUP grade 1-2), 2) high-grade světlobuněčné RK (WHO/ISUP grade 3), 3) multicystické renální neoplazie nízkého maligního potenciálu, 4) světlobuněčné RK s cystickými změnami (WHO/ISUP grade 2-3, s nekrozami a vaskulární invazí), 5) světlobuněčné RK napodobující světlobuněčné papilární RK (nesoucí alespoň 2 znaky světlobuněčné papilárního RK, u těchto byla pomocí metody PCR byla provedena mutační analýza genu *VHL* za účelem potvrzení diagnózy světlobuněčné RK). Z každého případu byly vyšetřeny 2 bloky.

Pozitivita s CK7 byla detekována u 60-66% low-grade a pouze u 6% high-grade světlobuněčných RK. Multicystické renální neoplazie nízkého maligního potenciálu a světlobuněčné papilární RK byly pozitivní v 86-93%, respektive v 80%. Reaktivita s CK7 se nelišila mezi klony protilátek ani mezi testovanými bloky. Z výsledků je zřejmé, že v kontrastu s historickým pohledem na světlobuněčné RK jako CK7 negativní tumory, jsou tyto velmi často pozitivní a že tato pozitivita koreluje s histologickým grade tumoru. Je však důležité zmínit, že pozitivita s CK7 u low-grade světlobuněčných RK, přestože silná, byla často fokální. V core cut biopsiích proto negativní reakce s CK7 nevylučuje low-grade lézi, naopak silná pozitivita téměř s jistotou vylučuje high-grade světlobuněčný RK. Jelikož agresivita a prognóza se mezi jednotlivými typy RK se světlými buňkami značně liší, považujeme precizní diagnózu za klinicky důležitou. Znalost reaktivity CK7 v jednotlivých typech světlobuněčných neoplazií může být důležitým diagnostickým pomocníkem.

1.1.7. RŮZNÉ

(komentář 4 publikací)

1.1.7.A Mucinous spindle and tubular renal cell carcinoma: analysis of chromosomal aberration pattern of low-grade, high-grade, and overlapping morphologic variant with papillary renal cell carcinoma

Peckova K, Martinek P, Sperga M, Montiel DP, Daum O, Rotterova P, Kalusová K, Hora M, Pivovarcikova K, Rychly B, Vranic S, Davidson W, Vodicka J, Dubová M, Michal M, Hes O. *Ann Diagn Pathol.* 2015 Aug;19(4):226-31. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2015.04.004. Epub 2015 May 6.

Cílem studie 1.1.7.A bylo za použití array komparativní genové hybridizace zmapovat spektrum chromozomálních aberací vyskytujících se u různých morfologických typů mucinózního tubulárního a vřetenobuněčného renálního karcinomu (RK) a tyto genetické odchylky s morfologickými variantami následně porovnat. Mucinózní tubulární a vřetenobuněčný RK je vzácná jednotka histologicky charakterizovaná proliferací blandních tubulárně uspořádaných kuboidálních buněk promíchaných s low-grade vřetenitými buňkami a myxoidním stromatem. Morfologie i imunoprofil těchto tumorů se často překrývá s papilárním RK, vzácněji se vyskytují i případy s high-grade histopatologickými znaky (64). Karyotyp této jednotky byl v době vzniku této publikace spoře definován, popsán jako různorodý, s mnohočetnými chromozomálními ztrátami i zisky (65-70). Do studie 1.1.7.A bylo zahrnuto 16 případů, které byly dle morfologie rozděleny na 3 skupiny: klasické, low-grade mucinózní tubulární a vřetenobuněčné RK (WHO/ISUP grade 2; 5 případů), high-grade mucinózní tubulární a vřetenobuněčné RK (WHO/ISUP grade 3; 5 případů) a tumory napodobující papilární RK (6 případů). Skupina klasických mucinózních tubulárních a vřetenobuněčných RK vykazovala ztráty chromozomů 1, 4, 8, 9, 14, 15 a 22 a žádné nadpočetné chromozomy, skupina high-grade tumorů měla ztráty chromozomů 1, 4, 6, 8, 9, 13, 14, 15 a 22 a rovněž žádné nadpočetné chromozomy a ve skupině tumorů napodobujících papilární RK vykazoval 1 případ ztráty chromozomů 1, 4, 6, 8, 9, 14, 15 a 22., 1 případ nesl normální karyotyp, 2 případy byly neanalyzovatelné a 2 případy měly mnohočetné nadpočetné chromozomy, včetně 7,17, tyto byly po důkladné morfologické kontrole následně překlasifikovány na papilární RK. Na základě této práce lze říci, že mucinózní tubulární a vřetenobuněčný RK má relativně uniformní chromozomální numerické aberace. Konkrétně jde o mnohočetné chromozomální ztráty, nejčastěji aberované chromozomy byly 1, 4, 8, 9, 14, 15 a 22. Případy napodobující papilární RK vykazovaly rozmanitější chromozomální aberace zahrnující ztráty i zisky mnohočetných chromozomů i normální karyotyp. Tyto tumory byly v případě mnohočetných chromozomálních ztrát a normálního karyotypu klasifikovány jako mucinózní tubulární a vřetenobuněčný RK a v případě detekce nadpočetných chromozomů včetně 7 a 17 jako papilární RK. U takovýchto tumorů je tudíž ke správné diagnóze vždy nezbytné provést chromozomální analýzu.

1.1.7.B Foamy cell (hibernoma-like) change is a rare histopathological feature in renal cell carcinoma

Petersson F, Sperga M, Bulimbasic S, Martinek P, Svajdler M, Kuroda N, Hora M, Simpson R, Tichy T, Peckova K, Branzovsky J, Pivovarcikova K, Rotterova P, Kokoskova B, Bauleth K, Martincok D, Nagy V, Michal M, Hes O.

Virchows Arch. 2014 Aug;465(2):215-24. doi: 10.1007/s00428-014-1600-z. Epub 2014 Jun 6.

Ve studii 1.1.7.B přinášíme popis hibernomu podobných (hibernoma-like) renálních karcinomů (RK). Pěnité buňky nebo mikrovakuolizace cytoplazmy prototypické pro hibernom se mohou vyskytnout v širokém okruhu různých neoplazií, nejčastěji v prostatickém adenokarcinomu, sebaceózních a adrenokortikálních tumorech, vzácně i v mnoha dalších. Do studie bylo zavzato 9 případů se signifikantní komponentou neoplastických epitelových buněk s nápadně mikrovakuolizovanou cytoplazmou. Sedm tumorů bylo klasifikováno jako papilární RK, not otherwise specified (NOS), zbývající 2 jako renální karcinom, NOS. Všechny tumory byly vyšetřeny elektronovou mikroskopií, imunohistochemicky (např. adipophilin, MIA, CD68, CK7, AMACR, CANH9, CD10, HMB45), byla provedena mutační analýza genu *SDHB* pomocí PCR a následného přímého sekvenování. Ultrastukturálně jsme v cytoplazmě hibernoma-like buněk pozorovali mitochondrie a mikrovezikly. Všechny případy vykazovaly signifikantní IHC pozitivitu s adipophilinem a MIA, což svědčí pro abnormální intracelulární akumulaci lipidů, respektive pro přítomnost distendovaných mitochondrií. Zároveň bylo potvrzeno, že hibernoma-like buňky jsou epitelie (pozitivita s cytokeratiny AE1/3, CAM5.2, OSCAR, CK7) a nikoliv makrofágy (negativita s CD68). Průkaz HMB45 byl negativní. Jelikož 2/9 tumorů, diagnostikovaných jako neklasifikované RK, vykazovaly solidně alveolární a nikoliv papilární architekturu, společně s přítomností bublinovité cytoplazmy se nabízela možnost, že by se mohlo jednat *SDHB* deficientní RK, avšak molekulární analýza tuto domněnku nepotvrdila (mutace genu *SDHB* nebyla detekována v žádném z tumorů). IHC byly všechny tumory kompatibilní s renální neoplazií a jednalo se o malé tumory (průměrná velikost 4,2 cm) omezené na ledvinu, což vylučuje, že by zde prezentované případy mohly být zaměněny za sekundární infiltraci parenchymu ledviny primárním retroperitoneálním dobře diferencovaným liposarkomem či adrenálním kortikálním karcinomem. V diferenciální diagnóze lze dále uvažovat především o renálním angiomyolipomu či o translokačních RK (Xp11.2 a t(6;11)), IHC panel protilátek zahrnující cytokeratiny, hladkosvalový aktin, HMB45, cathepsin K, TFE3 či TFEB by měl napomoci k odlišení těchto jednotek, v nadále sporných případech lze využít FISH analýzu a/nebo RT PCR k vyloučení translokace *TFE3* či *TFEB*. Na základě výsledků studie 1.1.7.B se domníváme, že mikrocystický, hibernoma-like vzhled popisovaných RK je dán abnormálním intracelulárním zpracováním lipidů.

1.1.7.C Mixed Epithelial and Stromal Tumor of the Kidney: Mutation Analysis of the *DICER 1* Gene in 29 Cases

Vanecek T, Pivovarcikova K, Pitra T, Peckova K, Rotterova P, Daum O, Davidson W, Montiel DP, Kalusova K, Hora M, Ondic O, Dubova M, Michal M, Hes O. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017 Feb;25(2):117-121.

Cílem studie 1.1.7.C bylo vyšetřit potencionální přítomnost mutace genu *DICER1* u smíšeného epitelového stromálního tumoru ledviny (mixed epithelial and stromal tumor of the kidney, MESTK). V poslední době je obecně uznáváno, že adultní cystický nefrom a MESTK tvoří morfologické spektrum jedné jednotky, s tím, že prvně jmenované tvoří cystickou část spektra a MESTK mají kromě cyst navíc variabilní množství solidní komponenty (71-75). Tyto tumory se vyskytují především u dospělých pacientů. Pediatrický cystický nefrom je pravděpodobně odlišná jednotka s prokázanou patognomickou bialelickou alterací genu *DICER1* (76). Nicméně, absence mutace genu *DICER1* u MESTK/adultního cystického nefromu, potvrzující tuto domnětku na molekulárně genetické úrovni, není prozatím doložena. Studie 1.1.7.C za tímto účelem analyzuje mutační status genu *DICER1* v hot-spot kodónech u 28 případů benigních a jednoho případu maligního MESTK/adultního cystického nefromu. U žádného ze studovaných tumorů nebyla metodou PCR a následného přímého sekvenování prokázána mutace genu *DICER 1* v hot-spot kodónech 1705, 1709, 1809, 1810, 1813 a 1814. Na základě výsledků této studie a dalších výzkumů provedených dříve je možné říci, že absence mutace *DICER 1* genu u MESTK v naší studii a její prokázaná přítomnost u pediatrického cystického nefromu v předchozích studiích (76) slouží jako další argument k oddělení těchto jednotek do dvou odlišných skupin. Termín cystický nefrom by měl být používán pouze pro tumory dětského věku a neměl by být považován za synonymum k MESTK. WHO klasifikace 2016 (studie 1.1.7.C vyšla před její publikací) v souladu se zde prezentovanými výsledky vyhrazuje termín cystický nefrom pouze pro pediatrické případy, zatímco termínem MESTK se myslí tumory dospělého věku, jmenovitě adultní cystický nefrom a MESTK.

1.1.7.D Programmed death-1 (PD-1) receptor/PD-1 ligand (PD-L1) expression in fumarate hydratase-deficient renal cell carcinoma

Alaghehbandan R, Stehlik J, Trpkov K, Magi-Galluzzi C, Condom Mundo E, Pane Foix M, Berney D, Sibony M, Suster S, Agaimy A, Montiel DP, Pivovarcikova K, Michalova K, Daum O, Ondic O, Rotterova P, Dusek M, Hora M, Michal M, Hes O.
Ann Diagn Pathol. 2017 Aug;29:17-22. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2017.04.007. Epub 2017 Apr 24.

Předmětem studie 1.1.7.D bylo vyšetřit přítomnost programmed death-1 (PD-1) receptoru/PD-1 ligandu (PD-L1) ve *fumarát hydratáza* (*FH*)-deficientních RK. Asociace exprese imunologických markerů PD-1/PD-L1 s prognózou pacientů a jejich potencionálním terapeutickým využitím je v poslední době ohniskem výzkumu. Interakce mezi PD-1 exprimovaným na T-lymfocytech a jeho ligandem PD-L1 aberantně exprimovaným na nádorových buňkách ústí v inhibici buněčné imunitní odpovědi. U světlobuněčných RK byla zjištěna korelace mezi expresí PD-L1 na nádorových buňkách a vyšším grade, stage a horší prognózou (77, 78). Institucí FDA (The Food and Drug Administration) byl pro metastatické světlobuněčné RK v nedávné době schválen preparát nivolumab, monoklonální protilátka proti PD-L1 (79). Není zatím spolehlivě objasněno, zda inhibitory PD-L1 hrají roli i v jiných typech RK. Do studie 1.1.7.D bylo zařazeno 13 *FH*-deficientních RK, u nichž byla imunohistochemicky vyšetřena exprese PD-1/PD-L1. Analýza byla provedena zvlášť na nádorových buňkách a tumor infiltrujících lymfocytech (TIL) a výsledky byly následně ověřeny molekulárně geneticky za použití kvantitativní PCR (qPCR). V nádorových buňkách byla IHC reakce s PD-1 negativní ve všech 13 případech, s PD-L1 byly 2 případy pozitivní, 7 slabě pozitivních a zbývající 4 negativní. V TIL byla reakce s PD-1 pozitivní v 1 případě, slabě pozitivní ve 3 případech a negativní ve zbývajících devíti. PD-L1 byl v TIL slabě pozitivní v 5 případech a negativní ve zbývajících 8. Metodou qPCR za účelem konfirmace positivity/negativity PD-1 a PD-L1 bylo vyšetřeno všech 13 vzorků. qPCR potvrdila výsledky u všech 7 PD-L1 imunohistochemicky slabě pozitivních vzorků (pozitivita v nádorových buňkách) a u 2 ze 3 PD-1 imunohistochemicky slabě pozitivních tumorů (pozitivita v TIL). Ze studie 1.1.7.D vyplývá, že většina případů *FH*-deficientních RK nevykazuje IHC expresi PD-1/PD-L1, což bylo následně potvrzeno molekulární analýzou. Dle této studie, která se jako první zabývala IHC expresí PD-1/PD-L1 ve *FH*-deficientních RK, bude z cílené terapie profitovat pouze malé procento pacientů stížených diagnózou tohoto agresivního RK. Cílená terapie tohoto agresivního tumoru by dle našich výsledků měla efekt u pacientů s *FH*-deficientními RK, u kterých je IHC pozitivita PD-1/PD-L1 následně potvrzena molekulárně geneticky.

1.2. NÁDORY VARLAT

1.2.1 SOLIDNÍ PSEUDOPAPILÁRNÍ TUMOR VARLETE

(komentář 4 publikací)

1.2.1.A Primary signet ring stromal tumor of the testis: a study of 13 cases indicating their phenotypic and genotypic analogy to pancreatic solid pseudopapillary neoplasm

Michalova K, Michal M Jr, Kazakov DV, Sedivcova M, Hes O, Hadravsky L, Agaimy A, Tretiakova M, Bacchi C, Hartmann A, Kuroda N, Bulimbasic S, Coric M, Antic T, Michal M. Hum Pathol. 2017 Sep;67:85-93. doi: 10.1016/j.humpath.2017.07.010. Epub 2017 Jul 21.

1.2.1.B Solid pseudopapillary neoplasm (SPN) of the testis: Comprehensive mutational analysis of 6 testicular and 8 pancreatic SPNs

Michalova K, Michal M, Sedivcova M, Kazakov DV, Bacchi C, Antic T, Miesbauerova M, Hes O, Michal M. Ann Diagn Pathol. 2018 Aug;35:42-47. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2018.04.003. Epub 2018 Apr 20

1.2.1.C Solid pseudopapillary tumor: a new tumor entity in the testis?-reply

Michalova K, Michal M, Kazakov DV, Michal M. Hum Pathol. 2017 Apr;62:243-245. doi: 10.1016/j.humpath.2016.08.012. Epub 2016 Nov 15.

1.2.1.D Pseudo-"solid pseudopapillary neoplasms" of the testis: in reality Sertoli cell tumors-reply

Michal M, Michalova K, Michal M Jr, Hes O, Kazakov DV. Hum Pathol. 2018 Aug 16. pii: S0046-8177(18)30304-6. doi: 10.1016/j.humpath.2018.07.034. [Epub ahead of print] No abstract available.

Publikace 1.2.1.A-D popisují tumory varlete analogické solidnímu pseudopapilárnímu tumoru (SPT) pankreatu. Na myšlenku, že existuje takováto spojitost, nás přivedl jeden případ, který se vyskytl v pravém varleti u 32letého muže. Tumor měl rozměry 4,8x3x4 cm a histologicky se skládal ze dvou distinktních komponent. Jedna komponenta byla solidně uspořádaná, neodlišitelná od SPT pankreatu, složená z monomorfní populace epiteloidních buněk s pravidelnými kulatými jádry. V některých částech tumoru byla k vidění i trabekulární či pseudopapilární architektonika. Druhá komponenta se skládala z prstenčitých buněk, tvořila většinu objemu tumoru a byla histologicky charakterizována uniformními epiteloidními buňkami s velkou prázdou cytoplazmatickou vakuolou, která odtlačovala jádro na periferii a propůjčovala tak buňkám vzhled pečetního prstene (signet ring cells). Obě komponenty byly low-grade vzhledu. Na mnoha místech tumoru bylo patrné jejich vzájemné promíchání, přecházely jedna v druhou. Další struktury, které jsme v tumoru viděli, byly hyalinní globule. Ačkoliv je nadnesené považovat je za specifické pro SPT pankreatu, je dobře známo, že jsou jejich charakteristickým histologickým znakem. Imunohistochemicky reagoval tumor pozitivně s β -kateninem, cyklinem D1 (nukleární pozitivita u obou protilátek), CD10, vimentinem,

galektinem-3, klaudinem7, α -1-antitrypsinem, CD56, NSE a byl negativní v průkazu chromograninu, inhibinu, kalretininu, NANOG, OCT3/4 a SALL4. Mutační analýza za použití metody PCR a následného přímého sekvenování detekovala onkogenní somatickou mutaci v exonu 3 *CTNNB1* genu kodujícího β -katenin. Jak imunoprofil, tak molekulární vlastnosti jsou shodné se SPT pankreatu (80), což jsme spolu s morfologickým překryvem považovali za průkaz, že jde o příbuzné tumory. Tento tumor byl pojmenován „pankreatický analog solidního pseudopapilárního tumoru paratestikulární oblasti“ a odpublikován naší institucí jako case report (81). Tumor byl následně prokrájen v mnohočetných sériových řezech, ve kterých bylo patrné, že ve skutečnosti vychází z varlete, nikoliv z paratestis. V následujícím textu bude proto nazýván pankreatický analog SPT varlete. Na základě tohoto zajímavého případu jsme se rozhodli vypátrat, co všechno ještě mají pankreatické SPT společného s testikulárními tumory. V plzeňském registru nádorů jsme nechali vyhledat všechny dostupné SPT pankreatu (22 případů) a všechny zrevidovali s cílem objevit další společné znaky. 20/22 SPT pankreatu obsahovalo prstenčité buňky, což dokazuje, že jde o jejich charakteristický a konstantní znak. Když jsme dali do souvislosti výše popsané postřehy, uvědomili jsme si, že pankreatický analog SPT varlete je stejný jako SPT pankreatu, kromě toho, že obsahuje komponentu prstenčitých buněk. Nicméně, jak jsme se později přesvědčili, prstenčité buňky jsou charakteristické i pro SPT pankreatu. Nabízela se tedy hypotéza, že SPT pankreatu mají možná nějakou souvislost s primárními stromálními tumory varlete z prstenčitých buněk (primary signet ring stromal tumor of the testis, PSRSTT). Tato hypotéza se stala předmětem našeho dalšího výzkumu.

Do studie 1.2.1.A bylo zařazeno 13 případů PSRSTT. Jejich velikost se pohybovala mezi 0,5 a 2 cm (průměr 1,2). Histologicky se daly rozdělit do dvou skupin: 7 případů se skládalo pouze z prstenčité komponenty, stejné, jakou disponoval pankreatický analog SPT varlete (tzv. čisté tumory) a 6 případů vykazovalo jak komponentu prstenčitých buněk, tak solidní, neprstenčitou. Jinými slovy, druhá skupina tumorů měla histologicky velmi blízko k pankreatickému analogu SPT varlete a pankreatickým SPT. Všechny tumory byly vyšetřeny IHC a molekulárně (PCR a přímé sekvenování), výsledky byly následně porovnány s pankreatickými SPT a jedním výše popsaným případem pankreatického analogu SPT varlete. IHC reagovaly PSRSTT pozitivně s β -kateninem, cyklinem D1 (nukleární pozitivita u obou), CD10, vimentinem, galektinem-3, klaudinem7, α -1-antitrypsinem, CD56, NSE a negativně s chromograninem, sex-cord markery (inhibinem, kalretininem, SF-1 a FOXL2), NANOG, OCT3/4 a SALL4. Mutační analýza u všech tumorů, které byly vyšetřitelné (10 případů), detekovala mutace v exonu 3 *CTNNB1* genu kodujícího β -katenin. Z výsledků je zřejmé, že pankreatický analog SPT testis a PSRSTT reprezentují morfologické spektrum stejné jednotky a že obě skupiny mají vztah k SPT pankreatu. Otázkou zůstává, proč i primární stromální tumor z prstenčitých buněk varlete nemá svůj protějšek v pankreatu? Vysvětlujeme si to rozdílnou velikostí testikulárních a pankreatických tumorů. Zatímco tumory varlete jsou malé (0,5-2 cm u tumorů v této studii), pankreatické tumory jsou typicky velké. Všechny „čisté“ tumory varlete z prstenčitých buněk měly nejmenší velikost (největší měřil 0,9 cm). Myslíme si, že „čisté“ tumory z prstenčitých buněk představují iniciální růstovou fázi a jak tumor roste, objevuje se i solidní komponenta, která se zvětšující se velikostí převažuje. Tuto domnětku podporuje pankreatický analog SPT varlete, který byl mnohem větší než PSRSTT (téměř 5 cm v největším rozměru) a jak je výše popsáno, solidní komponenta byla velmi dobře vyvinuta. Protože SPT pankreatu jsou resekovány objemné, pravděpodobně u nich „prstenčité“ stadium mineme a vidíme pouze solidní komponentu. Nemáme v plzeňském registru nádorů jediný malý SPT pankreatu a tak naše domněnka nemůže být věrohodně doložena. SPT byl již popsán v i ovariu (40, 82-84) a v nedávné době byl publikován jeden případ ovariálního stromálního ovariálního tumoru z prstenčitých buněk (85), který byl imunohistochemicky i geneticky identický s případy námi popisovanými testikulárními případy. Na základě výsledků studie 1.2.1.A předpokládáme, že SPT pankreatu, ovaria, pankreatický analog SPT varlete a PSRSTT varlete

a ovaria představují identickou jednotku vyskytující se v různých orgánech. Domníváme se, že primární stromální tumor z prstenčitých buněk varlete, ovaria a pravděpodobně i pankreatu představuje iniciační růstovou fázi SPT.

Studie 1.2.1.B rozšiřuje morfologické spektrum popisované skupiny neoplazií o 6 případů testikulárních tumorů, které se histologicky skládaly pouze ze solidní komponenty pankreatického analogu SPT varlete/PSRSTT. Jinými slovy, měly histologicky velmi blízko k SPT pankreatu. Nádorové buňky byly blandního epiteloidního vzhledu, bez cytoplazmatických vakuol, uspořádané do hnízd, plachet, trabekul či trámčů, ve většině případů rostoucích na pozadí fibrózního stromatu. Dva případy byly částečně, respektive zcela cystické. Pseudopapilární struktury jsme pozorovali u 3 případů. Jelikož jsme v předchozí studii 1.2.1.A ke srovnání testikulárních a pankreatických tumorů využili pouze morfologii pankreatických SPT (jejich IHC vlastnosti i mutační profil byl odvozen z literatury), cílem studie 1.2.1.B bylo přímo porovnat testikulární a pankreatické tumory za použití stejných IHC protilátek i genetických metod. Šest zmíněných případů testikulárních tumorů tak bylo konfrontováno s 8 pankreatickými SPT. Jak imunoprofil, tak molekulární vlastnosti byly v testikulárních i pankreatických tumorech identické a zároveň shodné s výše popisovanými PSRSTT a pankreatickým analogem SPT varlete. Považujeme toto přímé srovnání za definitivní důkaz toho, že jde o identické jednotky vyskytující se v různých orgánech. Pro histologickou podobnost až identitu námi prezentovaných tumorů s pankreatickými SPT jsme je nazvali solidní pseudopapilární tumory varlete. Jelikož je evidentní, že spolu s PSRSTT a pankreatickým analogem SPT varlete tvoří morfologické spektrum stejné jednotky, navrhuje pro celou tuto skupinu používat jednotný termín SPT varlete. Analogicky navrhuje PSRSTT ovaria a SPT ovaria sloučit pod termín SPT. Ve studii 1.2.1.A jsme vznesli hypotézu, že PSRSTT představují iniciační růstovou fázi SPT. Zde prezentované tumory byly rovněž malé velikosti (0,5-3 cm, průměr 1,7 cm) a přesto měly pouze solidní komponentu a prstenčité buňky chyběly. Je tudíž evidentní, že určité tumory rostou jako solidní léze již od svého počátku.

Studie 1.2.1.A a celý námi navržený koncept byly podpořeny kolektivem italských autorů, kteří publikovali 2 případy testikulárních tumorů, z nichž 1 odpovídal PSRSTT a 1 SPT varlete. Studie 1.2.1.C je naší odpovědí na dopis editorovi publikovaný Mengoli et al (86).

Naopak skupina autorů kolem Dr.Ulbrighta nesouhlasí s tím, že by SPT varlete byly disktrinktní jednotkou a řadí tyto tumory pod Sertoli cell tumory, NOS (87). Argumentují tím, že Sertoli cell tumory, NOS, jsou, stejně jako námi prezentované tumory, IHC často inhibin a kalretinin negativní a část z nich nese mutace v exonu 3 *CTNNB1* genu kodujícího β -katenin. Skupina Sertoli cell tumorů, NOS, je však velmi nesourodá. Morfologicky jsou velmi pestré, za jediný charakteristický znak je považována přítomnost tubulárních struktur. Dle aktuální WHO klasifikace urogenitálních neoplazií (3) je 50% Sertoli cell tumorů, NOS imunohistochemicky pozitivních s inhibinem a 60-70% s kalretininem, což stěží lze považovat za definici a pouze to reflektuje jejich heterogenitu. Rovněž molekulární charakteristika chybí, jak je zmíněno výše, některé nesou mutace genu *CTNNB1* kodujícího β -katenin a jiné ne. Naproti tomu námi prezentované tumory představují morfologicky uniformní skupinu tumorů s přesně definovaným imunoprofilem a genotypem, jež je identický se SPT pankreatu. Navíc, SPT je již dlouhodobě uznávanou jednotkou v ovariální patologii. Není tedy logické, aby tyto tumory byly v ovariu nazývány solidními pseudopapilárními tumory a stejné tumory ve varleti patřily pod Sertoli cell tumory, NOS. Rovněž se domníváme, že SPT varlete nebude tak raritní tumor, jak se nyní může jevit, ale že podstatná část z nich je diagnostikována právě jako Sertoli cell tumory, NOS a možná tak ještě více přispívá k jejich heterogenitě. Studie 1.2.1.D je odpovědí na dopis editorovi publikovaný Dr. Ulbrightem et al. a obsahuje výše nastíněnou argumentaci obhajující SPT varlete jako samostatnou jednotku.

1.2.2. RŮZNÉ

1.2.2.A Choriogonadotropin positive seminoma-a clinicopathological and molecular genetic study of 15 cases

Hes O, Pivovarcikova K, Stehlik J, Martinek P, Vanecek T, Bauleth K, Dolejsova O, Petersson F, Hora M, Perez Montiel D, Peckova K, Branzovsky J, Slouka D, Vodicka J, Kokoskova B, Matej R, Michal M.

Ann Diagn Pathol. 2014 Apr;18(2):89-94. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2013.12.004. Epub 2013 Dec 24.

Klasické čisté seminomy jsou typicky negativní v IHC průkazu lidského choriogonadotropinu (human choriogonadotropin; hCG). Je však dobře známou skutečností, že 10-20% seminomů bývá obohaceno roztroušenými syncytiotrofoblastickými buňkami a tyto potom vykazují s hCG pozitivní IHC reakci (88). Seminomy s extenzivní IHC pozitivitou s hCG a zároveň bez přítomnosti syncytiotrofoblastů jsou však raritou, na kterou jsme se zaměřili ve studii 1.2.2.A. Ze 168 seminomů dostupných v plzeňském registru nádorů jsme jich vybrali 15 a tyto následně rozdělili do 2 skupin. První byla tvořena 10 případy s extenzivní imunoreakcí s hCG ve více než 60% nádorových buněk a signifikantní expresí mRNA beta pojednotky hCG (detekováno pomocí RT-PCR). Osm případů bylo stage pT1 a dva pT3a. 6/10 pacientů mělo zvýšenou krevní hladinu hCG. Druhá skupina byla představována 5 případy s hCG imunoreaktivitou pouze v roztroušených nádorových buňkách a se slabou expresí mRNA beta pojednotky hCG. Čtyři případy byly stage pT1 a jeden pT2. Jeden pacient měl zvýšené hCG v séru. Jako negativní kontrolu jsme použili 4 případy seminomů areaktivních s hCG, které jsme již dále molekulárně nevyšetřovali a označili je jako skupina 3. Přibližně 7-25% pacientů s diagnózou seminomu má v době diagnózy zvýšené krevní hodnoty hCG, což je přičítáno přítomnosti syncytiotrofoblastů (89-91) či vyššímu stage tumoru. Případy zařazené do studie 1.2.2.A však byly prosty syncytiotrofoblastů a většina tumorů byla pT1. Náš výzkum poukazuje na fakt, že IHC exprese hCG v seminomech nemusí být omezena pouze na syncytiotrofoblasty, ale může být produkována přímo neoplastickými buňkami seminomu. IHC pozitivita s hCG může být v těchto tumorech buď difúzní (skupina 1 v naší studii) anebo omezena pouze na některé nádorové buňky (skupina 2 v naší studii). Zdá se, že hCG pozitivní seminomy bez syncytiotrofoblastů se svým biologickým chováním nijak neliší od častějších, hCG negativních seminomů. Zároveň bychom chtěli zdůraznit již známou, ale často opomíjenou důležitost extenzivního zablokování tumorů, které zůstává i přes rapidní rozvoj sofistikovaných diagnostických metod stále stěžejním diagnostickým pomocníkem v rukách patologa. Zvláště u pacientů se zvýšenými krevními hodnotami hCG by vždy měla být zvažována možnost přítomnosti neseminomové (zvláště choriokarcinomové) komponenty a vyloučena až na základě prohlednutí velkého množství bloků negativních na přítomnost neseminomové komponenty.

1.3. NÁDORY MOČOVÉHO MĚCHÝŘE

1.3.1. Comparative study of *TERT* gene mutation analysis on voided liquid-based urine cytology and paraffin-embedded tumorous tissue

Pivovarcikova K, Pitra T, Vanecek T, Alaghebandan R, Gomolcakova B, Ondic O, Peckova K, Rotterova P, Hora M, Dusek M, Michal M, Hes O.

Ann Diagn Pathol. 2016 Oct;24:7-10. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2016.06.002. Epub 2016 Jun 18.

Uroteliální karcinom močového měchýře je známý svojí tendencí k recidivám. Standardní follow-up metodu představuje konvenční cytologie, ultrasonografie a cystoskopie. Konvenční cytologie je rozšířená neinvazivní diagnostická a screeningová metoda užívaná pro dispenzarizaci pacientů po transuretrálních resekcích močového měchýře pro malignitu či u pacientů s hematurií. Jde o vysoce specifickou metodu, její senzitivita se však liší v závislosti na grade tumoru. U high-grade uroteliálních lézí dosahuje 79%, kdežto u low-grade se pohybuje pouze mezi 25-45% (92-94). Alternativou ke konvenční metodě je liquid-based cytologie (LBC), při které jsou vzorky díky odlišnému zpracování lépe zachované a hodí se tak k IHC vyšetřování a molekulárním analýzám. Mutace genu *TERT* je nejčastější somatickou mutací v maligních uroteliálních tumorech, naopak v benigních uroteliálních neoplaziích se nevyskytuje (95). Účelem studie 1.3.1 bylo porovnat záchyt mutace genu *TERT* ve vzorcích moči zpracovaných metodou LBC s následně odebranými resekáty tumoru močového měchýře zpracovanými parafinovou technikou. Do studie bylo zařazeno 29 uroteliálních karcinomů, přičemž 19 z nich bylo low-grade a 10 high-grade. Mutace genu *TERT* byla v parafinovém materiálu a LBC vzorcích vyšetřena za použití Sanger sekvenování, LBC materiál byl navíc analyzován metodou sekvenování nové generace (next generation sequencing; NGS). Sanger sekvenování detekovalo mutace *TERT* u 21/29 (74,4%) parafinových vzorků a u 17/29 (58%) LBC vzorků. Metodou NGS byly zjištěny *TERT* mutace v 19/28 (67,8%) LBC vzorků (1 vzorek byl neanalyzovatelný). Při porovnání výsledků Sanger sekvenování parafinových bloků s výsledky NGS na LBC materiálu jsme dosáhli 95% shody, což znamená, že u tumorů s již prokázanou *TERT* mutací lze LBC být použita jako neinvazivní metoda k dispenzarizaci pacientů s recidivujícím uroteliálním karcinomem. Spolehlivost genetické komparace parafinového bloku a LBC vzorku se však lišila v závislosti na grade karcinomu. U low-grade lézí byly Sanger sekvenováním zjištěny *TERT* mutace v 13/19 parafinových vzorcích a výsledky byly potvrzeny pouze v 9/19 LBC vzorcích, metodou NGS v 11/18 LBC vzorcích. Naproti tomu, u high-grade lézí byly *TERT* mutace v LBC materiálu potvrzeny u všech případů pozitivních v parafinovém materiálu (8/10, zbývající 2 případy byly *TERT* negativní). Výsledkem studie 1.3.1 byla 100% mutační shoda mezi parafinovým vzorkem a LBC odběrem u high-grade uroteliálních karcinomů, avšak u low grade lézí byla komparativní analýza nespolehlivá (nezávisle na použití Sanger sekvenování či NGS na LBC vzorku), senzitivita této metody se tedy výrazně neliší od použití konvenční cytologie. Je také třeba zdůraznit, že nikoliv u všech uroteliálních karcinomů byla prokázána mutace genu *TERT* (v naší studii pouze u 72%) a negativní výsledek mutační analýzy *TERT* tak nevylučuje přítomnost uroteliální neoplastické léze.

2. ČÁST

VZÁCNÉ NÁDORY MĚKKÝCH TKÁNÍ

2.1. LIPOMATÓZNÍ TUMORY

(komentář 3 publikací)

2.1.A. Lipoblasts in spindle cell and pleomorphic lipomas: a close scrutiny

Michal M, Kazakov DV, Hadravsky L, Michalova K, Grossmann P, Steiner P, Vanecek T, Renda V, Suster S, Michal M.

Hum Pathol. 2017 Jul;65:140-146. doi: 10.1016/j.humpath.2017.05.006. Epub 2017 May 23.

2.1.B. Atypical multivacuolated lipoblasts and atypical mitoses are not compatible with the diagnosis of spindle cell/pleomorphic lipoma-reply

Michal M, Kazakov DV, Michalova K, Michal M.

Hum Pathol. 2018 Apr;74:189. doi: 10.1016/j.humpath.2017.11.024. Epub 2018 Jan 7.

2.1.C. Dysplastic Lipoma: A Distinctive Atypical Lipomatous Neoplasm With Anisocytosis, Focal Nuclear Atypia, p53 Overexpression, and a Lack of MDM2 Gene Amplification by FISH; A Report of 66 Cases Demonstrating Occasional Multifocality and a Rare Association With Retinoblastoma

Michal M, Agaimy A, Contreras AL, Svajdler M, Kazakov DV, Steiner P, Grossmann P, Martinek P, Hadravsky L, Michalova K, Svajdler P, Szep Z, Michal M, Fetsch JF.

Am J Surg Pathol. 2018 Nov;42(11):1530-1540.

Lipomatózní tumory tvoří pestrou skupinu lézí histologicky definovanou přítomností variabilního množství buněk s lipomatózní diferenciací. Pokroky ve vývoji cytogenetických a molekulárně genetických metod vedou k lepšímu pochopení patogeneze a zdokonalování diagnostických kritérií. Náležitá klasifikace lipomatózních tumorů zahrnující v sobě molekulárně genetická data hraje v éře možnosti indikace cílené léčby důležitou roli. Nicméně, i přes rozvoj sofistikovaných metod zůstávají histologické preparáty obarvené hematoxylinem eosinem a znalost morfologických vlastností jednotlivých tumorů stále diagnosticky nejvíce cenné. Faktem však zůstává, že diagnostika mnohých lipomatózních tumorů je kvůli morfologickému překryvu jednotlivých lézí mnohdy svízelná, což platí např. v diferenciální diagnóze atypický lipomatózní tumor (ALT)/dobře diferencovaný liposarkom versus benigní lipomy různých kategorií. Další příčinou diagnostických obtíží je nekonzistentní terminologie způsobující problémy hlavně v komunikaci a porozumění mezi patologem a klinikem.

Na důležitost morfologie v diagnostice lipomatózních tumorů je zaměřena studie 2.1.A, konkrétně poukazuje na častou přítomnost lipoblastů (LPB) v benigních vřetenobuněčných a pleomorfních lipomech (spindle cell lipoma/pleomorphic lipoma; SCL/PL). LBL, nezralá forma lipocytu histologicky charakterizována přítomností hyperchromního, zvlněného či zoubkovaného jádra, je často mylně považován za diagnostické kritérium maligního ALT/dobře diferencovaného liposarkomu. Ačkoliv se v těchto tumorech LPB často a hojně vyskytují, v odborné literatuře je v posledních letech opomíjeno, že i benigní lipomatózní léze mohou LPB obsahovat. Do studie 2.1.A jsme zařadili 129 případů SCL/PL, benigních lipomatózních tumorů tvořících morfologické spektrum téže jednotky. SCL tvořily 91 případů a PL 38. Kritériem k zařazení do studie byla přítomnost alespoň tří lipoblastů. Následně byly aplikovány IHC protilátky CD34 a RB-1 a

FISH próby *MDM2*, *CDK4* a *FUS*. Ve 41% SCL (37 případů) a v 66% PL (25 případů) byly nalezeny lipoblasty. Zatímco u většiny SCL jich bylo zastiženo poskrovnu a až po pečlivějším hledání, v PL byly značně častější, i difúzně přítomné. IHC vyšetření bylo ve všech případech kompatibilní s diagnózou SCL/PL (pozitivita CD34, ztráta Rb-1), stejně jako FISH analýza (bez průkazu amplifikace genů *MDM2*, *CDK4* či *FUS*). Studie 2.1.A dokazuje, že LPB jsou velmi běžným histologickým nálezem jak ve vřetenobuněčných, tak v pleomorfních lipomech. V diagnostickém rozhodování mezi lipomem a liposarkomem hrají roli spíše jiná klinicko patologická kritéria, jmenovitě lokalizace (malý tumor v podkožní tkáni na zadní části krku a ramen u SCL/PL, velký infiltrativně rostoucí, radiologicky suspektní tumor hluboké tukové tkáně u liposarkomu) a morfologie (silná kolagenní vlákna u SCL/PL, jemná kolagenní vlákna u liposarkomů), přítomnost LPB tedy není diskriminačním kritériem. Ačkoliv na skutečnost, že SCL/PL mohou LPB obsahovat, bylo poukázáno už při jejich prvopopisu, není to v odborné literatuře poslední doby zmiňováno. To jen dokresluje skutečnost, že podstatná část těchto lézí byla zaslána na naše pracoviště jako konzultační biopsie s diagnózou ALT či jiný typ liposarkomu (konkrétně 6/15 SCL a 8/13 PL). Povědomí o tom, že LPB jsou přítomny přibližně v polovině SCL/PL, považujeme za diagnosticky velmi podstatné. Dva tumory z naší studie zrecidivovaly, u zbytku jsme nezaznamenali agresivní průběh (follow-up byl dostupný u 44 pacientů).

Studie 2.1.A byla prezentována ve formě abstraktu na sjezdu amerických a kanadských patologů (United States and Canadian Academy of Pathology, USCAP) v San Antoniu. Na popud diskutujících u posterové sekce byla znovu zrevidována naše sestava 25 pleomorfních lipomů s cílem najít atypické mitózy. Našli jsme je ve 4 z nich (16%) (96). Dr. Creytens et al nesouhlasí s tím, že by nález atypických mitóz a multivakuolizovaných lipoblastů byl kompatibilní s diagnózou PL a navrhuje pro tyto léze termín atypický pleomorfní lipomatózní tumor (97). Studie 2.1.B je polemikou s tímto názorem a obhazuje atypické mitózy i multivakuolizované lipoblasty jako součást morfologického spektra pleomorfních lipomů.

Studie 2.1.C představuje termín dysplastický lipom (DL). Jde o neobvyklý lipomatózní tumor podkoží s nápadnou anizocytózou adipocytů, fokální tukovou nekrózou a ojedinělou, většinou mírnou jadernou atypií (zhrubění chromatinu, zvětšení jader, dvoj- nebo vícejadernost) tukových buněk, bez atypických stromálních buněk a silných kolagenních vláken. Pro tyto nejednoznačné histologické znaky je nasnadě záměna s atypickým lipomatózním tumorem, pod touto diagnózou byly tyto tumory ve velké většině případů na naše pracoviště zasílány ke konzultaci. Cílem studie 2.1.C bylo lépe definovat tuto jednotku, v odborné literatuře publikovanou ve 2 malých sestavách pod termíny „podkožní lipomatózní tumor s minimálními atypii“ či „anizometrický lipom“. Za tímto účelem bylo vybráno 66 morfologicky kompatibilních tumorů, které byly analyzovány IHC (p53, *MDM2*, *CDK4*, Rb-1, CD34, S100, CD163) a molekulárně geneticky (FISH metoda pro záchyt amplifikace *MDM2* a delece *Rb-1* genu, Sanger sekvenování detekující mutace genu *TP53* a NGS analýza vyšetřující panel 271 genů včetně *TP53*, *Rb-1* a *MDM2*). Naše sestava pacientů vykazovala výraznou mužskou predominanci (57 M/8 Ž). Většina (86%) tumorů byla lokalizována v horních partiích zad a krku nebo na ramenou. U deseti pacientů se DL vyskytly mnohčetně, 1 pacient měl od jednoho roku věku diagnostikovaný retinoblastom. Ve všech případech jsme zaznamenali imunoreaktivitu p53, nejvýrazněji v nejvíce atypických buňkách. 20/50 případů reagovalo s *MDM2* proteinem, většinou v méně než 1% buněk, u 4 případů se však jeho exprese blížila 10%. 22/32 testovaných případů vykazovalo téměř úplnou IHC ztrátu exprese Rb-1, u zbylých případů byla ztráta exprese částečná. Metodou FISH byla u 3/13 analyzovatelných případů prokázána delece *Rb-1* genu, zatímco amplifikace genu *MDM2* nebyla detekována v žádném z 60 testovaných případů. Sanger sekvenováním nebyly nalezeny mutace genu *TP53* (5 testovaných případů), NGS analýza byla též negativní, ačkoliv

vzhledem k nízké kvalitě materiálu byly analyzovatelné pouze 3 tumory. Žádný z tumorů nemetastazoval, pouze 2 recidivovaly (follow-up byl dostupný u 47 pacientů, průměr 27 měsíců). Ve studii 2.1.C. představujeme novou jednotku v patologii měkkých tkání, pro kterou navrhujeme název dysplastický lipom. Mezi jeho charakteristické znaky patří distinktní morfologie s mírně atypickými znaky, IHC reaktivita s p53, abnormality *Rb-1* genu a normální status genu *MDM2*. Vyznačuje se převahou mužských pacientů, multifokálním výskytem a charakteristickou anatomickou distribucí. Může se vyskytovat v souvislosti s retinoblastomem. Vzhledem k výše popsaným znakům je zřejmé, že se jedná o tumor odlišný od atypického lipomatózního tumoru (definován amplifikací *MDM2*), lipomu s tukovou nekrózou a „fat-rich“ vřetenobuněčného lipomu, od kterých by měl být odlišen. Jedná se o indolentní tumor, který nejspíše nemá metastatický potenciál, ale riziko lokální recidivy se zdá být signifikantně vyšší než u běžných typů benigních lipomů.

2.2. BENIGNÍ NÁDORY Z PERIFERNÍCH NERVŮ

(komentář 2 publikací)

2.2.A. Multivacuolated mucin-filled cells: a unique cell characteristic of plexiform neurofibroma. A report of 11 cases

Michal M, Kazakov DV, Hadravský L, Michalová K, Rychlý B, Michal M
Hum Pathol. 2017 Feb;60:167-173. doi: 10.1016/j.humpath.2016.10.010. Epub 2016 Nov 2.

2.2.B. Whorling cellular perineurioma: A previously undescribed variant closely mimicking monophasic fibrous synovial sarcoma

Michal M, Kazakov DV, Agaimy A, Hosova M, Michalova K, Grossmann P, Steiner P, Skenderi F, Vranic S, Michal M.
Ann Diagn Pathol. 2017 Apr;27:74-78. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2017.02.001. Epub 2017 Feb 2.

Proliferativní léze periferních nervů lze rozdělit na nonneoplastické (např. traumatický neurom), benigní (schwannom, neurofibrom a perineuriom) a maligní (souhrnně nazývány maligní tumory z pochev periferních nervů (malignant peripheral nerve sheath tumors, MPNST)). Tyto tumory se mohou vzájemně morfologicky překrývat nebo se vyskytovat současně v jedné lézi. Vzhledem k jejich odlišnému biologickému chování je nezbytné je od sebe umět odlišit. Komentované studie se zaměřují na morfologické varianty neurofibromu a perineuriomu.

Plexiformní neurofibrom (PN) je jedním z 5 základních typů neurofibromu vyskytující se až v 85% jako součást neurofibromatózy 1. typu (NF1). Více než ostatní typy neurofibromů bývá náchylný k maligní transformaci do MPNST. Do studie 2.2.A. bylo zařazeno 11 případů PN (ze 109 zrevidovaných PN), které vykazovaly příznačné, doposud nereportované histologické znaky ve formě multivakuolizovaných hlenových buněk. Tato buňka, připomínající svým vzhledem medúzu či fotbalový míč, byla charakterizována variabilně objemnou cytoplazmou s mnohočetnými vakuolami oddělenými jemnými septy a malým polygonálním či mírně zubatým jádrem odtlačeným na periferii. Některé tumory obsahovaly těchto buněk stovky, byly přítomny zvláště v myxoidních partiích PN. Jako důkaz produkce hleny posloužila histochemická reakce s Alcianovou modří, pozitivní ve všech těchto buňkách. IHC byly multivakuolizované hlenové buňky silně pozitivní v průkazu CD34 (9/9 analyzovatelných případů). 6/9 případů bylo podobně silně pozitivních v reakci s GLUT-1, 2 případy exprimovaly Claudin-1. S100 protein byl v multivakuolizovaných hlenových buňkách negativní, barvily se pouze Schwannovy buňky. Imunoprofil multivakuolizovaných hlenových buněk charakterizovaný pozitivitou CD34, GLUT-1 (a případně Claudinu-1) podporuje jejich původ na pomezí fibroblastů a perineuria. Vzhledem k velmi časté asociaci PN s NF1, riziku jeho maligní transformace do MPNST a morfologické podobnosti s maligními tumory jako myxofibrosarkom, myxoidní liposarkom či myxoinflamatorní fibroblastický sarkom, považujeme detailní znalost morfologické spektra za podstatnou. Povědomí o možném výskytu multivakuolizovaných hlenových buněk v PN, což je podle studie 2.2.A. asi v 10% PN, může být nápomocné zejména v biopsiích s limitovaným množstvím materiálu, jako např. v punkční biopsii.

Rovněž perineuriom se vyskytuje ve více morfologických variantách, mezi něž patří např. intraneurální, retiformní (retikulární) a sklerozující. Studie 2.2.B. představuje 4 případy potencionálně nové morfologické varianty, vírovitého celulárního perineuriomu (whorling cellular perineurioma, WCP). Tumory v naší sestavě byly malé velikosti (průměr 1,8 cm), lokalizované v distálních partiích končetin. Histologicky byly značně celulární, skládaly se z plachet uniformních blandních vřetenitých buněk s kulatými či oválnými jádry, bez pleomorfii a mitóz. Nápadným znakem byla fokálně patrná vírovitá architektonika. Ultrastrukturálně (bipolární cytoplazmatické výběžky, pinocytické váčky, zonula occludens) i IHC (pozitivita s EMA, Claudinem-1 a Glut-1, negativita s TLE-1 a cytokeratiny) byl prokázán perineurální původ. Hlavní význam povědomí o této variantě tkví hlavně ve snadné záměně se synoviálním sarkomem (SS), konkrétně jeho nejčastější monofazickou fibrózní variantou. SS je relativně častým high-grade sarkomem typicky se vyskytujícím v akrálních partiích končetin, kde bývá malé velikosti. Histologicky je monofazický SS tvořen monomorfní populací vřetenitých, na cytoplazmu chudých buněk s oválným zkoseným jádrem, uspořádaných typicky do kompaktních plachet. IHC exprimuje TLE-1, EMA, a často jsou pozitivní i protilátky Claudin-1 a Glut-1. Z uvedeného je zjevné, že morfologický i IHC překryv obou jednotek je značný. Přesto existuje několik morfologických a IHC odlišností užitečných v diferenciální diagnóze. Nejvíc nápomocným znakem je vírovitý růst u WCP, jež může být dále zvýrazněn aplikací protilátky EMA a který není znakem SS. V WCP byly fokálně rozeznatelné dlouhé tenké cytoplazmatické výběžky typické pro perineurální diferenciaci a těž chybějící u SS. Ačkoliv oba tumory jsou blandní, v SS mohou být na rozdíl od WCP nalezeny mitózy. Naopak, SS často obsahuje hemangiopericytomu podobné cévy, oblasti epiteloidních buněk, kalcifikace, žírné buňky, krvácení nebo nekrózy. Ani jeden z těchto znaků nebyl objeven v WCP. V IHC panelu je zásadní protilátka TLE-1 charakterizující SS, kdežto v WCP je negativní. Rovněž cytokeratiny (OSCAR, CK7) jsou ve většině SS alespoň fokálně pozitivní, kdežto WCP cytokeratiny neexprimuje. Diagnózu definitivně potvrdí molekulární analýza, konkrétně FISH metoda prokazující zlom genu *SYT/SSX* určující pro SS, nepřítomen v WCP. WCP je velmi vzácnou morfologickou variantou perineuriomu (z 208 zrevidovaných perineuriomů z plzeňského registru nádorů byl nalezen u 4, tedy 1,9%), o které je vzhledem k její výrazné podobnosti se synoviálním sarkomem dobré vědět.

2.3. RŮZNÉ

(komentář 5 publikací)

2.3.1. Littoral cell angioma of the spleen: a study of 25 cases with confirmation of frequent association with visceral malignancies

Peckova K, Michal M, Hadravsky L, Suster S, Damjanov I, Miesbauerova M, Kazakov DV, Vernerova Z, Michal M.

Histopathology. 2016 Nov;69(5):762-774. doi: 10.1111/his.13026

Littorální angiom sleziny (littoral cell angioma of the spleen, LCA) je vzácný tumor vyrůstající z buněk lemujících sinusy červené pulpy. Tyto buňky, nazývané se littorální, mají hybridní endoteliální a histiocytární fenotyp, čemuž odpovídá imunohistochemická koexprese endoteliálních a histiocytárních markerů. Za typickou se považuje pozitivita s CD31, ERG, faktorem VIII, CD68, CD163, CD21, cathepsinem D a (98) negativita s CD34, CD8 a WT-1. LCA byl poprvé popsán v roce 1991 (99) a od té doby bylo reportováno pouze asi 150 případů. Největší doposud publikovaná sestava zahrnuje 17 případů (99), většina reportovaných LCA jsou však case reporty či velmi malé série. V minulosti bylo poukázáno na asociaci LCA s viscerálními epiteliálními malignitami (100).

Cílem studie 3.2. bylo sesbírat co největší množství LCA s klinickými informacemi objasňujícími jejich vztah k viscerálním malignitám a důkladně vyšetřit imunofenotyp hybridních littorálních buněk za použití nově zavedených protilátek.

Do studie bylo zařazeno 25 případů LCA. Patnáct z nich bylo asociováno s maligním nádorem, nejčastěji s kolorektálním (5 případů) a renálním karcinomem (3 případy), dále po jednom případě s endometriodním endometriálním karcinomem, karcinomem štítné žlázy, prsu, prostaty, melanomem, chronickou lymfocytární leukemií, maligním lymfomem, mnohotným myelomem a GISTem žaludku. LCA se také poměrně často sdružuje s poruchami imunitního systému či systémovými chorobami vedoucími k poruchám imunity. V naší sestavě jsme zaznamenali asociaci s idiopatickou trombocytopenií, hemolytickou anemií, ulcerózní kolitidou, ankylozující spondylitidou či chronickou hepatitidou C, přičemž někteří pacienti měli jak imunitní dysregulaci, tak maligní nádor. Etiologie a patogenetický mechanismus sdružení LCA s maligními nádory či imunitními dysregulacemi není doposud spolehlivě objasněn. Možná právě poruchy imunitního systému hrají patogenetickou roli, jelikož jak tyto, tak LCA jsou velmi vzácnými onemocněními a jejich náhodný synchronní výskyt je tímto vysoce nepravděpodobný.

Kromě použití v littorálních angiomech diagnostických IHC protilátek (faktor VIII, CD31, ERG, LMO2, VEGFR-3, podoplanin, WT-1, CD8, CD163, lysozym a faktor XIIIa) jsme vyšetřili markery s dosud neznámou reaktivitou v littorálních buňkách, jmenovitě FLI-1 (člen ETS (E26 transformation-specific) rodiny transkripčních faktorů, exprese ve všech typech benigních a maligních endoteliálních tumorů či v lymfoblastickém lymfomu), VEGFR-2 (regulátor angiogeneze a vaskulární permeability, konstantně exprimován v hemangiomech, angiosarkomech, Kaposiho sarkomech, retiformních hemangioendoteliomech, asi v 50% epitelioidních hemangioendoteliomů), claudin-5 (člen rozsáhlé claudinové rodiny, pozitivní ve většině Kaposiho sarkomů, kaposiformních hemangioendoteliomů, angiosarkomů, epitelioidních hemangioendoteliomů, kapilárních a kavernózních hemangiomech a lymfangiomech), LYVE-1 (exprese ve většině Kaposiho sarkomů, pozitivita popsána i v

multifokální lymfangioendoteliomatóze a infantilním hemangiomu), CD4 (marker T-lymfocytů, pozitivní v blastických plazmacytoidních neoplaziích dendritických buněk), CD11c (transmembránový protein, exprese v dendritických buňkách, monocytech, makrofázích, B-lymfocytech, neutrofilech). Všechny vyšetřitelné případy byly pozitivní v průkazu LYVE-1, faktoru VIII, FLI-1, VEGFR-2, VEGFR-3, claudinu-5, ERG, LMO2, CD31, CD163, lysozymu a CD4 a negativní s podoplaninem, CD8 a faktorem XIIIa. Nicméně, přestože markery endoteliálních buněk reagovaly pozitivně s LCA, všechny rozhodně nejsou diagnosticky užitečné, jelikož např. faktor VIII, CD31, FLI-1, ERG a LMO2 byly pozitivní nejen v littorálních buňkách, ale i v non-neoplastických buňkách červené pulpy a jejich interpretace je tudíž obtížná. Jediné 2 endoteliální markery exprimované téměř výhradně v littorálních buňkách byly claudin-5 a VEGFR-2. Další užitečné protilátky se nám zdály být histiocytární markery CD4, CD11c a CD163. Ačkoliv značily i difúzně přítomné nenádorové histiocyty, jejich pozitivita v littorálních buňkách byla od těchto snadno odlišitelná.

Studie 3.2 představila doposud největší sestavu littorálních angiomů a potvrdila jejich častou asociaci s viscerálními malignitami, ježto více než 60% zde prezentovaných LCA s nimi bylo sdruženo. Nadto prokazujeme, že jde o celé spektrum maligních nádorů a nikoliv pouze o epiteliální. Aplikace doposud nepoužitých endoteliálních a histiocytárních IHC markerů rozšiřuje imunoprofil LCA. Pro praktické použití doporučujeme použít panel protilátek zahrnující VEGFR-2, FLI-1, claudin-5, CD4, CD11c, LYVE-1 a pro zvýšení specifity jako negativní diskriminátor podoplanin a WT-1.

2.3.2. *EWSR1-SMAD3*-rearranged Fibroblastic Tumor: An Emerging Entity in an Increasingly More Complex Group of Fibroblastic/Myofibroblastic Neoplasms

Michal M, Berry RS, Rubin BP, Kilpatrick SE, Agaimy A, Kazakov DV, Steiner P, Ptakova N, Martinek P, Hadravsky L, Michalova K, Szep Z, Michal M.
Am J Surg Pathol. 2018 Oct;42(10):1325-1333.

Studie 2.3.2. přidává další 4 případy ke 3 ve velmi nedávné době popsaným neoplaziím měkkých tkání s *EWSR1-SMAD3* genovou fúzí. Jedná se o tumory s charakteristickou bifazickou morfológií: hypercelulární komponenta tvořená pravidelně se křížícími snopci blandních vřetenitých buněk s protáhlými či kulatými jádry (záleží na rovině řezu) a hypocelulární, výrazně hyalinizovaná komponenta tvořená stejnou buněčnou populací; obě uspořádané buď v zónách anebo nepravidelně promíchány mezi sebou. Vzhledem k charakteristickému geno- a fenotypu jsme tumory deskriptivně pojmenovali *EWSR1-SMAD3* fibroblastické tumory. Cílem studie bylo rozšířit jejich klinickopatologické spektrum, detailně vyšetřit imunoprofil a zaměřit se na diferenciálně diagnostické aspekty této nové jednotky.

Všichni pacienti v naší sestavě byli ženy (5-68 let, průměrně 36,5). Follow-up byl k dispozici u 3 případů (7-18 let, průměr 11,7), v 1 případě byla po 10 letech zaznamenána recidiva, zbylé 2 pacientky byly bez komplikací. Dva případy byly lokalizované na ruce, 1 na noze a 1 na lýtku. Tumory byly malé velikosti (1-1,5 cm, průměrně 1,2). IHC vykazovaly všechny 4 případy silnou nukleární expresi protilátky ERG, 2/4 byly fokálně slabě pozitivní v průkazu SAT-B2. Všechny další protilátky z širokého panelu (OSCAR, CD34, Pan-TRK, neuroendokrinní, melanomové a svalové markery) byly negativní. Tři tumory byly analyzovatelné metodou NGS, s prokázanou genovou fúzí *EWSR1-SMAD3*. Metodou FISH byla u 1 případu zjištěna též nebalancovaná rearanže *EWSR1* genu.

V aktuální studii je podrobně zpracována diferenciální diagnóza *EWSR1-SMAD3* fibroblastických tumorů. Je zapotřebí vyloučit lipofibromatózu, kalcifikující aponeurotický fibrom, lipofibromatóze podobný neurální tumor, myofibrom, monofazický synoviální sarkom či infantilní digitální fibrom/fibromatózu. Všechny vyjmenované jednotky jsme IHC otestovali s protilátkou ERG a pouze kalcifikující aponeurotický fibrom byl v 9/10 případech pozitivní, avšak slabě, v kontrastu se silnou difúzní expresí v *EWSR1-SMAD3* fibroblastických tumorech. Kromě morfologických odlišností, podrobně diskutovaných v naší studii, není v žádné z vyjmenovaných jednotek prokázána *EWSR1-SMAD3* genová fúze. Dva měkkotkáňové tumory, které se vyznačují rearanží genu *EWSR1*, jmenovitě myoepiteliom a světlobuněčný sarkom, jsou snadno odlišitelné histologicky.

Studie 2.3.2. přináší podrobnou charakteristiku nově popsané distinktní nádorové jednotky měkkých tkání, pro kterou z praktických důvodů navrhuje termín *EWSR1-SMAD3* fibroblastický tumor. Tumory vykazují ženskou predominanci. Většina (6/7) doposud publikovaných případů se vyskytovala akrálně, naše studie přináší první případ mimo akrální oblast (lýtko). Při znalosti charakteristických morfologických znaků lze *EWSR1-SMAD3* fibroblastické tumory rozpoznat již ve světelném mikroskopu v hematoxylin-eosinovém barvení. Zdá se, že ve správném klinickopatologickém kontextu je difúzní a silná exprese protilátky ERG vysoce senzitivním a specifickým markerem. Pravděpodobně jde o benigní, nanejvýše lokálně agresivní tumory. Jednu recidivu zaznamenanou v naší sestavě přičítáme inkompletní inicální excizi. Dle našich informací je zmíněná studie jednou ze dvou publikací, na jejímž základě bude tato nádorová jednotka přidána do připravované nové WHO klasifikace nádorů kostí a měkkých tkání.

2.3.3. Histiocytosis With Raisinoid Nuclei: A Unifying Concept for Lesions Reported Under Different Names as Nodular Mesothelial/Histiocytic Hyperplasia, Mesothelial/Monocytic Incidental Cardiac Excrescences, Intralymphatic Histiocytosis, and Others: A Report of 50 Cases

Michal M, Kazakov DV, Dundr P, Peckova K, Agaimy A, Kutzner H, Havlicek F, Daum O, Dubova M, Michal M.
Am J Surg Pathol. 2016 Nov;40(11):1507-1516

Studie 2.3.3. nabízí sjednocující koncept pro léze nazývané nodulární mezoteliální/histiocytární hyperplazie, nodulární histiocytární agregáty, mezoteliální/monocytické incidentální kardiální exkrescence, reaktivní eosinofilní pleuritida, histioeosinofilní granulom thymu a intralymfatická histiocytóza. Všechny tyto rozličné termíny pojmenovávají reaktivní histiocytární proliferace různých lokalit a ačkoliv v minulosti bylo několikrát naznačeno, že některé z těchto lézí spolu mohou pravděpodobně souviset, doposud nikdo nepoukázal na spojitost všech dohromady.

Za tímto účelem jsme dali dohromady 50 případů histiocytárních proliferací různých lokalizací (peritoneum, vejcovod, štítná žláza, kolenní kloub, mediastinum, pleura, perikard, aorta, thymus a kůže). Všechny případy měly podobnou základní morfolonii, ve většině byla tendence k tvorbě dobře ohraničených celulárních nodulů složených z histiocytů se svrašťelým tvarem jádra připomínajícím rozinku či kávové zrno, smíchaných s variabilním množstvím fibrinu. Vzhledem k charakteristické nukleární morfolonii je budeme dále nazývat histiocytóza s rozinkovitými jádry. Některé léze však v závislosti na lokalizaci a mechanismu vzniku vykazovaly určité znaky navíc, což je zřejmě důvod, proč byly známy pod různými názvy. V případech, kde byla patogenetickým podkladem insuflace vzduchu (pneumothorax u reaktivní eosinofilní pleuritidy, pneumomediastinum u histioeosinofilního granulomu thymu) byla navíc příměs eozinofilů, v případech lokalizovaných na peritoneálních površích, mezotelie (nodulární histiocytární hyperplazie).

Studie 2.3.3., s podporou rozsáhlé rešerše literatury, poukazuje na reaktivní původ histiocytózy s rozinkovitými jádry, jejímž podkladem je trauma, zánětlivý stimul, infiltrativní malignita, chirurgický zákrok apod. V diferenciální diagnóze je na snadě záměna s histiocytózou z Langerhansových buněk a metastatickým karcinomem. Obojí lze vyloučit IHC vyšetřením. Histiocytóza s rozinkovitými jádry reagovala v naší studii negativně s CD1a, S100 a langerinem. Pozitivní reakce s histiocytárními markery, z nichž nejvíce senzitivní se ukázaly být CD68, CD163, CD64 a CD4, vyloučila epitelový původ. Naše studie přináší důkaz o tom, že v úvodu zmíněné léze sdílí morfologické, IHC a patogenetické znaky a že tudíž všechny představují společný patologický proces, pro který navrhuje společný termín „histiocytóza s rozinkovitými jádry.“

2.3.4. Tenosynovitis With Psammomatous Calcifications: A Distinctive Trauma-associated Subtype of Idiopathic Calcifying Tenosynovitis With a Predilection for the Distal extremities of Middle-aged Women-A Report of 23 Cases

Michal M, Agaimy A, Folpe AL, Zambo I, Kebrle R, Horch RE, Kinkor Z, Svajdler M, Vanecek T, Heidenreich F, Kazakov DV, Michalova K, Hadravsky L, Michal M.
Am J Surg Pathol. 2018 Oct 26. [Epub ahead of print]

Termínem idiopatická kalcifikující tenosynovitida se označují klinicky i radiologicky definované syndromy bolestivosti a kalcifikace šlach, postihující ve většině případů ramenní kloub. Na dolních končetinách se vyskytuje morfologicky charakteristický podtyp nazývaný tenosynovitida s psammomatózními kalcifikacemi. Jelikož bylo doposud reportováno pouze 14 případů, je tato léze pro mnohé pathology i kliniky těžko uchopitelná. Za účelem lépe charakterizovat tuto vzácnou jednotku jsme dali dohromady doposud největší reportovanou sérii sestávající z 23 případů. Léze se vyznačovaly výraznou predominancí ženských pacientů (F 21/M 1, v jednom případě bez dostupných informací) o průměrném věku 41 let, téměř výlučně se vyskytovaly na prstech a palci u nohy, kromě 2 případů lokalizovaných na lokti, respektive na kolenním kloubu. Šlo o malé léze o velikosti 0,2-3 cm, nejčastějším symptomem byla bolestivost. U 6/15 pacientů s dostupnou anamnézou jsme zaznamenali proběhlé trauma či pravidelnou aktivitu způsobující iritaci kloubu (sportovci či manuálně pracující lidé), u žádného z nich nebyla zaznamenána abnormalita sérové hladiny vápníku či fosfátu. Typickým histologickým znakem byla psammomatózní tělíska obklopena regresivně změněnou ligamentózní tkání a histiocytární reakcí typu z cizích těles (CD68, CD163, CD4 pozitivní buňky). V jednom případě byl metodou HUMARA potvrzen poklonální původ léze. Follow-up jsme znali u 19 pacientů, u žádného z nich jsme nezaznamenali recidivu.

Studie 2.3.4. potvrzuje predilekci tenosynovitidy s psammomatózními kalcifikacemi k výskytu na prstech a palci u žen středního věku. Je důležité odlišit tenosynovitidu s psammomatózními kalcifikacemi od jiných typů idiopatických kalcifikujících tenosynovitid a tumorální kalcinózy, jež typicky postihují velké, proximální klouby a vykazují dystrofické, nikoliv koncentrické kalcifikace. Tumorální kalcinóza se navíc vyznačuje poruchami metabolismu kalcia a/nebo fosfátu. Prokazujeme, že tenosynovitida s psammomatózními kalcifikacemi je reaktivní změnou vztaženou k proběhlému traumatu či dlouhotrvající aktivitě, terapeuticky řešitelná lokální excizí.

2.3.5. Spindle cell predominant trichodiscoma or spindle cell lipoma with adnexal induction? A study of 25 cases, revealing a subset of cases with *RB1* heterozygous deletion in the spindle cell stroma

Michalova K, Kutzner H, Steiner P, Hadravsky L, Michal M, Michal M, Kazakov DV
Am J Dermatopathol., March 11, 2019 - Volume Publish Ahead of Print

Předmětem studie 2.3.5 se stala hypotéza, že trichodiskomy s převahou vřetenitých buněk a s „lipomatózní metaplazií“ nejsou ve skutečnosti trichodiskomy, ale vřetenobuněčné/pleomorfní lipomy (spindle cell lipoma (SCL) / pleomorphic lipoma (PL)) s reaktivními změnami přilehlých sebaceózních žláz. Trichodiskomy, do jejichž morfologického spektra spadají též fibrofolikulomy, jsou kožní adnexální léze s predominantně sebaceózní diferenciací, histologicky tvořené převážně myxoidním vřetenobuněčným stromatem s příměsí kolagenních vláken, obklopeným trsy sebaceózních žláz. SCL/PL jsou skupina benigních subkutánních tumorů histologicky tvořených variabilním poměrem tukové tkáně, blandních vřetenitých buněk a silných kolagenních vláken, v případě PL navíc s pleomorfními buňkami bizarních tvarů či mnohojadernými „floret-like cells.“

V naší rutinní i konzultační praxi jsme zaznamenali nemálo případů trichodiskomů s „lipomatózní metaplazií“ a jelikož stromální složka trichodiskomů je v tomto případě morfologicky identická s SCL/PL, napadla nás v úvodu zmíněná hypotéza. Za tímto účelem jsme prohledali plzeňský registr nádorů. Za použití vhodných klíčových slov a následné detailní morfologické analýzy jsme těchto případů našli 25. Ve 24 případech mělo stroma charakter SCL, přičemž ve 14 z nich připomínalo fat poor/spindle cell predominant variantu SCL, ve 3 jsme zaznamenali stroma připomínající klasický SCL, v dalších 3 případech bylo stroma charakteru fat rich SCL, a konečně v 5 „smíšených“ případech stroma v horní části léze vypadalo jako fat poor/spindle cell predominant SCL a v dolní partii jako klasický SCL. V 1 případě stroma připomínalo PL. Co se týká sebaceózní složky, 20 případů byly klasické trichodiskomy, 3 případy vykazovaly znaky jak trichodiskomu, tak fibrofolikulomu a ve 2 zbylých šlo o čisté fibrofolikulomy. Všech 25 případů bylo dále vyšetřeno metodami cílicími na SCL/PL, jmenovitě imunohistochemicky za použití protilátek CD34 a retinoblastoma (Rb-1) proteinu, metodou FISH byla testována přítomnost delece *RB-1* genu. Imunoprofil ve většině případů odpovídal SCL/PL: lipomatózní stroma bylo v 16/20 testovaných případech IHC difuzně či fokálně pozitivní s CD34, v 16/19 případech byla prokázána úplná ztráta exprese Rb-1 proteinu, ve 2 případech ztráta částečná, ve zbývajícím případě zůstala exprese Rb-1 zachována. Heterozygotní delece *RB-1* genu byla však prokázána pouze v 6 případech, 14 zbývajících analyzovatelných tumorů bylo *RB-1* diploidních.

Ačkoliv stromální složka některých trichodiskomů morfologicky i imunohistochemicky věrně napodobuje SCL/PL, ve většině námi testovaných případů nebyla prokázána delece *RB-1* genu. Protože tato cytogenetická odchylka charakterizuje převážnou většinu SCL/PL, je pravděpodobné, že většina případů prezentovaných ve studii 2.3.5 jsou „pravé“ trichodiskomy a nikoliv SCL/PL s indukcí přilehlých adnexálních struktur. Jelikož jsme nepozorovali žádné morfologické ani IHC rozdíly mezi *RB-1* deletovanými a diploidními případy, závěrem lze říci to, že menšina případů s *RB-1* delecí jsou morfologicky identické léze reprezentující SCP/PL s indukcí přilehlých adnexálních struktur.

3. ČÁST

NEOBVYKLÉ LÉZE VYBRANÝCH OBLASTÍ

3.1. SPEKTRUM LÉZÍ ŠTÍTNÉ ŽLÁZY ODVOZENÉ OD BRANCHIÁLNÍCH OBLOUKŮ

(komentář 2 publikací)

3.1.1 Spectrum of lesions derived from branchial arches occurring in the thyroid: from solid cell nests to tumors

Srbecka K, Michalova K, Curcikova R, Michal M Jr, Dubova M, Svajdler M, Michal M, Daum O.

Virchows Arch. 2017 Sep;471(3):393-400. doi: 10.1007/s00428-017-2201-4. Epub 2017 Jul 20.

3.1.2 Selected Case From the Arkadi M. Rywlin International Pathology Slide Seminar: Benign Warthin Tumor of the Thyroid

Peckova K, Daum O, Michal M, Curcikova R, Michal M.

Adv Anat Pathol. 2016 Sep;23(5):339-42.

V oblasti hlavy a krku existuje skupina lézí odvozená od branchiálních oblouků a příbuzných struktur, která má pod zánětlivým vlivem tendenci k cystické přeměně. Léze se nazývají různě v závislosti na jejich lokalizaci: multilokulární thymická cysta, cysta branchiální štěrbin, lymfoepiteliální cysta slinných žláz a nejspíše i tajemná léze známá pod termínem ektopický hamartomatózní thymom. V případě intrathyroidální lokalizace se jedná o lézi podobnou cystě branchiální štěrbin (branchial cleft-like cyst) (101-103). Většinu cystických lézí štítné žlázy tvoří cysticky změněné neoplazie či degenerativní změny v multinodulární strumě. Nicméně, přestože embryonálním origem štítné žlázy je ductus thyreoglossus, výskyt lézí odvozených od branchiálních oblouků je zde také možný. Intrathyroidální přítomnost pozůstatků branchiálních oblouků a příbuzných struktur může mít původ v parathyroideální či thymické tkáni, jež se příležitostně mohou ve štítné žláze vyskytovat a jejichž embryonálním předchůdcem jsou právě branchiální oblouky. Dalším možným, a patrně pravděpodobnějším původcem je ultimobranchiální tělísko, struktura odvozená od spodních branchiálních oblouků. V thyroidey dává vznik parafolikulárním C-buňkám, jejím morfologickým korelátům zde jsou tzv. solidní buněčná hnízda (solid cell nests, SCN). SCN jsou většinou náhodným histologickým nálezem, mikroskopicky složené z velkých polygonálních buněk s objemnou, ostře ohraničenou cytoplazmou. Bývají promíchány s parafolikulárním C-buňkami, což jen dokládá jejich společný embryonální původ. Morfologická plasticita SCN je však poměrně značná a způsobuje diagnostické potíže. SCN mohou být tak zaměněny za metastatický karcinom, papilární mikrokarcinom, medulární karcinom, skvamózní metaplazii či hyperplazii C-buněk (102, 104, 105). Poměrně charakteristický imunoprofil SCN by měl pomoci odlišit morfologicky podobné léze. SCN jsou pozitivní v reakci s p63, p40, CK5/6, CEA, galectinem 3 a negativní s kalcitoninem a thyroglobulinem. Expres TTF-1 bývá variabilní, avšak většinou je negativní (105). Všechny v úvodu zmíněné léze oblasti hlavy a krku vyrůstají pod vlivem dlouhodobého zánětlivého stimulu, dalším společným jmenovatelem je jejich následná náchylnost k cystické přeměně a proliferaci epitelové komponenty, která může vést až k tvorbě papil. Histologicky jsou cysty lemovány skvamózním či glandulárním (někdy respiračním) epitelem, někdy dochází k

onkocytické přeměně. Cysty jsou typicky obklopeny výrazným zánětlivým infiltrátem bohatým na zárodečná centra.

Studie 3.1.1 představuje spektrum lézí štítné žlázy mající původ v ultimobranchiálním tělísku. Do studie bylo zařazeno 21 případů morfologicky odpovídajících SCN s různým stupněm cystické dilatace/epiteliální proliferace, s odpovídajícím imunoprofilem. Léze byly dle morfologie rozčleněny do 4 skupin: (hyperplastická) SCN (9 případů), SCN s fokálními cystickými změnami (5 případů), cystická SCN (2 případy), léze napodobující cystu branchiální štěrbinu (4 případy) a 1 případ Warthin-like tumoru thyroidey, obklopený strukturami napodobujícími cystu branchiální štěrbinu a SCN s různým stupněm cystické přeměny. 75% prezentovaných lézí vyrůstalo na pozadí Hashimotovy tyreoiditidy. Myslíme si, že všechny tyto léze jsou odvozeny od ultimobranchiálního tělíska a že vyrůstají ze SCN. Přítomnost Hashimotovy tyreoiditidy ve většině lézí dokládá význam dlouhodobého zánětlivého stimulu, jehož následkem dochází k různému stupni cystické přeměny, proliferaci a metaplazii epitelové komponenty dovolující vznik strukturám jako cystická SCN, branchial cleft-like cysty či dokonce léze napodobující Warthinův tumor slinné žlázy.

O tomto případě Warthin-like tumoru thyroidey pobrobně pojednává studie 3.1.2 (case report). Tumor se objevil u 58 leté ženy, která pro oboustrannou strumu podstoupila totální thyroidektomii. Mikroskopicky nesl parenchym štítné žlázy známky Hashimotovy tyreoiditidy, v pravém laloku byl navíc objeven nodule skládající se ze 3 částí: 1) SCN s různým stupněm cystické přeměny, 2) struktury podobné cystě branchiální štěrbinu lemované převážně dlaždicobuněčným epitelem s fokální přítomností cylindrického epitelu s řasinkami, obklopené denzní lymfoidní tkání s germinálními centry, 3) struktury napodobující Warthinův tumor slinných žláz s papilárně uspořádaným epitelem lemovaným dvěma vrstvami onkocytických buněk zasazených do lymfoidního stromatu bohatého na germinální centra. Myslíme si, že papilární proliferace epitelové komponenty a její onkocytická přeměna má též původ v dlouhodobé zánětlivé stimulaci a že i tento tumor patří do spektra lézí hlavy a krku zahrnujícího multilokulární thymickou cystu, cystu branchiální štěrbinu, lymfoepiteliální cystu slinných žláz, ektopický hamartomatózní thymom a konečně branchial cleft-like cystu štítné žlázy. Na základě toho se domníváme, že i Warthinův tumor slinné žlázy je možná jen další manifestací stejného fenoménu a že se spíše než o pravý tumor jedná o lymfoepiteliální cystu slinné žlázy s papilární proliferací epitelu a jeho onkocytickou přeměnou. Tato hypotéza byla podpořena výzkumem vyšetřujícím klonalitu epitelové komponenty Warthinova tumoru slinných žláz za použití metody HUMARA s výsledkem polyklonality, a tedy nenádorového původu epitelové komponenty Warthinova tumoru, což naši hypotézu podporuje (106). Naše výsledky nasvědčují tomu, že Warthin-like tumor štítné žlázy se spíše než ze 3 různých komponent skládá z intrathyroidálních embryonálních zbytků branchiálních struktur v různém stadiu cystické dilatace a epitelové proliferace a že tyto změny jsou indukovány zánětlivým stimulem.

3.2. DIFERENCOVANÉ SKVAMÓZNÍ INTRAEPITELIÁLNÍ LÉZE

Differentiated squamous intraepithelial lesion (dSIL)-like changes in the epidermis overlying anogenital melanocytic nevi. A diagnostic pitfall

Michalova K, Kazakov DV, Michal M, Hadravsky L, Kacerovska D, Rychly B, Miesbauerova M, Michal M

Ann Diagn Pathol. 2017 Feb;26:43-46. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2016.11.002. Epub 2016 Nov 14.

Existují 2 etiopatogenetické cesty vzniku skvamocelulárního karcinomu anogenitální oblasti, HPV dependentní a HPV independentní. Diferencované skvamózní intraepiteliální léze (dSIL) jsou morfologickým korelátem agresivnější HPV independentní cesty, původně byly popsány na vulvě (107) a posléze v celé anogenitální oblasti. dSIL zde bývá typicky asociován s lichen sclerosus et atrophicus, histologicky je pro nevyvíčené oko snadno přehlédnutelný, charakterizován atypickými keratinocyty v bazální vrstvě epidermis, přičemž ostatní části epidermální vrstvy jsou mikroskopicky zcela normálního vzhledu (odtud název diferencovaný). Imunohistochemický průkaz exprese proteinu p53 je často k potvrzení diagnózy nezbytný. Na úvod je třeba zdůraznit, že bazální keratinocyty jsou za normálních okolností p53 pozitivní, jde však o nesignifikantní, non-lineární slabou pozitivitu v ojedinělých buňkách (celkově do 10% buněk). Pro dSIL je diagnostická signifikantní pozitivita, za kterou se považuje nukleární difúzní lineární exprese v alespoň 12 po sobě jdoucích bazálních keratinocytech. Ta odráží molekulární pozadí dSIL, jímž jsou nejčastěji missense mutace genu *TP53* vedoucí k produkci stabilního mutantního proteinu rezistentního k degradaci. Méně často dochází k nonsense mutaci či delecii *TP53* vedoucí k poškození proteinu, ztrátě jeho funkce a tudíž ztrátě IHC barvitelnosti. Negativita je tudíž také určující pro diagnózu dSIL (samozřejmě pouze při pozitivní kontrole).

Studie 3.2. popisuje histologické změny epidermis imitující dSIL, které se vyskytly v kombinaci s melanocytárními névy v anogenitální oblasti. Cílem bylo seznámit pathology s tímto morfologickým fenoménem a předejít tak tomu, aby byl zaměněn za dysplastické premaligní změny typu dSIL. Z plzeňského registru nádorů bylo vybráno a následně histologicky zhodnoceno 70 případů anogenitálních melanocytárních névů. 30 případů, u kterých bazální vrstva epidermis vykazovala v oblasti nad névem atypie v bazální vrstvě morfologicky odpovídající dSIL, bylo zařazeno do studie a dále IHC vyšetřeno za použití protilátek p53, S100, HMB45, Melan A, AE1/3. IHC analýza prokázala u všech případů non-signifikantní (normální) pozitivitu p53. Melanocytární markery a cytokeratiny sloužily k odlišení melanocytů, respektive keratinocytů. Ze studie 3.2. vyplývá, že dSIL-like změny se v souvislosti s anogenitálními melanocytárními névy vyskytují poměrně často (43% ve studii 3.2.). V kontrolní skupině, do které byly zahrnuty melanocytární névy mimo anogenitální oblast, jsme dSIL-like změny nezaznamenali. Jelikož popisovaný fenomén je morfologicky identický jako „pravý“ dSIL, je k jejich odlišení nezbytné IHC vyšetření pomocí protilátky p53. dSIL-like změny nemají maligní potenciál, nikdo z 28 pacientů, u kterých byl dostupný follow-up, neměl známky epitelové malignity.

3.3. SMÍŠENÝ EPITELIÁLNÍ A STROMÁLNÍ TUMOR STŘEDNÍHO UCHA

Mixed Epithelial and Stromal Tumor of the Middle Ear: The First Case Report

Michal M, Skálová A, Kazakov DV, Pecková K, Heidenreich F, Grossmann P, Michal M.
Hum Pathol. 2017 Mar;61:199-204. doi: 10.1016/j.humpath.2016.09.020. Epub 2016 Oct 13.

Je známo, že tumory histologicky obsahující ovariální stroma se mohou vyskytnout i extraovariálně. Patří mezi ně mucinózní cystické léze pankreatu (108, 109), jater (110) a biliárního systému (111). Vzácně se mohou podobné tumory objevit i v retroperitoneu, slezině, mezenteriu a paratestikulárně (112, 113). Dalším příkladem je tzv. smíšený epiteliální a stromální tumor (mixed epithelial and stromal tumor, MEST) ledviny (114). Histologicky jde o bifazický tumor složený ze stromální a epitelové komponenty. Stroma je identické ovariálnímu, příležitostně IHC pozitivní s estrogenovými a progesteronovými receptory (ER, PR). Epitelová je charakterizována cystickými a žláзовými/tubulárními strukturami variabilní velikosti, lemovanými plochým, kubickým, dvočkovitým či cylindrickým epitelem pozitivním v IHC průkazu cytokeratinů. Epitel může fokálně vykazovat Mulleriánskou diferenciaci ve formě endometrioidního či tubárního epitelu.

Studie 3.3. představuje tumor náležící do rodiny extraovariálních tumorů s ovariálním stromatem. Vyskytl se ve středním uchu, tedy v lokalizaci, kde tyto tumory zatím nebyly popsány. Pacientce bylo v době diagnózy 56 let, udávala příležitostné poruchy rovnováhy a dlouhotrvající zhoršení sluchu. Byla naplánována explorativní tympanotomie, během níž byl tumor zresekován. V průběhu zákroku bylo evidentní, že tumor má polypózní charakter, vyplňoval celé středouší a odděloval od sebe sluchové kůstky. Histologicky byl nález odečten jako otitis media chronica. Tumor po 3,5 letech zrecidivoval, byl zresekován, opět s histologickou diagnózou otitis media chronica. Tři roky po druhém zákroku je pacientka bez obtíží, bez známek recidivy. Mikroskopicky byly oba tumory identické, složeny z polypoidních struktur obsahujících různě velké cysty lemované plochým, kubickým či cylindrickým epitelem, na většine povrchu s mucinózní diferenciací a občasnými pohárkovými buňkami. Cysty byly obklopeny ovariálním stromatem s variabilně vyjádřenou hyalinizací, fokálně jsme našli struktury připomínající corpora albicantia. Ve stromatu byly rozptýleny mucinózní a seromucinózní žlázy různých velikostí. IHC byla epiteliální složka pozitivní s cytokeratiny (AE1/3, CK7, CK8, CK18, CK19), EMA, v malém rozsahu exprimovala S100. Stromální část byla pozitivní v průkazu CD34 a některé oblasti s hladkosvalovým aktinem. Pouze slabou fokální pozitivitu jsme pozorovali v reakci s PR. ER, calponin, inhibin, desmin, CD56, HMB45, TLE-1, CK20, CDX2, PAX8 a „muciny“ (MUC2, 5AC a 6) byly negativní. Metodou FISH za použití break-apart sondy byl vyloučen zlom genu *SYT* a metodou RT-PCR genová fúze *NAB2-STAT6*, což vylučuje 2 nejdůležitější diferenciaciálně diagnostické jednotky, bifazický synoviální sarkom a solitární fibrózní tumor. Analýzou klonality jsme prokázali monoklonální, a tedy neoplastický původ léze. Ačkoliv měl námi prezentovaný případ histopatologicky nejbližší k mucinózní cystické neoplazii jater, preferujeme název smíšený epiteliální a stromální tumor. V minulosti byly tumory různých lokalizací nazývány mucinózní cystické neoplazie, a to i ty s absencí ovariálního stromatu. Vedlo to ke smíšení různých jednotek pod tento diagnostický termín a považujeme ho tudíž za matoucí, jelikož zcela přesně nevypovídá o klinickopatologických vlastnostech tumoru. Naproti tomu, MEST ledviny byl od svého prvopopisu jasně definován benigním chováním a přítomností ovariálního stromatu.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

aCGH – array komparativní genová hybridizace

dSIL – diferencovaná skvamózní intraepiteliální léze

ER – estrogenové receptory

FISH – fluorescenční in situ hybridizace

hCG – human chorionic gonadotropin; lidský choriogonadotropin

IHC – imunohistochemie, imunohistochemický

LBC – liquid based cytologie

LCA – littoral cell angioma of the spleen, litorální angiom sleziny

LOH 3p – ztráta heterozygoty (loss of heterozygoty) na krátkém raménku 3. chromozomu

LPB - lipoblast

MEST - mixed epithelial and stromal tumor, smíšený epiteliální a stromální tumor

MPNST - malignant peripheral nerve sheath tumor, maligní nádor ze šlachových pochev periferních nervů

NF-1 – neurofibromatóza 1. typu

NGS – next generation sequencing, sekvenování nové generace

NOS – not otherwise specified

PCR – polymerase chain reaction, polymerázová řetězová reakce

PD-1/PD-L1 - programmed death-1 receptor/ programmed death-1 ligand

PN – plexiformní neurofibrom

PR – progesteronové receptory

PSRSTT - primary signet ring stromal tumors of the testis; primární stromální tumor varlete z prstenčitých buněk

qPCR - kvantitativní PCR

RAT – renální angiomyoadenomatózní tumor

RK – renální karcinom

RO – renální onkocytom

RT-PCR – polymerázová řetězová reakce spojená s reverzní transkripcí

SCN – solid cell nests, solidní buněčná hnízda

SCL/PL - spindle cell lipoma/pleomorphic lipoma; vřetenobuněčný/pleomorfní lipom

SPT –solid pseudopapillary tumor, solidní pseudopapilární tumor

SS – synoviální sarkom

TIL – tumor infiltrující lymfocyty

tRK – translokační renální karcinom

WCP – whorling cellular perineurioma, vírovitý celulární perineuriom

SEZNAM CITACÍ

1. Hakimi AA, Tickoo SK, Jacobsen A, et al. TCEB1-mutated renal cell carcinoma: a distinct genomic and morphological subtype. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2015;28:845-853.
2. Canzonieri V, Volpe R, Gloghini A, et al. Mixed renal tumor with carcinomatous and fibroleiomyomatous components, associated with angiomyolipoma in the same kidney. *Pathology, research and practice.* 1993;189:951-956; discussion 957-959.
3. Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, et al. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. *European urology.* 2016;70:93-105.
4. Trpkov K, Hes O. New and emerging renal entities: a perspective post-WHO 2016 classification. *Histopathology.* 2019;74:31-59.
5. Hes O, Comperat EM, Rioux-Leclercq N. Clear cell papillary renal cell carcinoma, renal angiomyoadenomatous tumor, and renal cell carcinoma with leiomyomatous stroma relationship of 3 types of renal tumors: a review. *Annals of diagnostic pathology.* 2016;21:59-64.
6. Inamura K. Translocation Renal Cell Carcinoma: An Update on Clinicopathological and Molecular Features. *Cancers.* 2017;9.
7. Argani P, Antonescu CR, Illei PB, et al. Primary renal neoplasms with the ASPL-TFE3 gene fusion of alveolar soft part sarcoma: a distinctive tumor entity previously included among renal cell carcinomas of children and adolescents. *The American journal of pathology.* 2001;159:179-192.
8. Argani P, Aulmann S, Illei PB, et al. A distinctive subset of PEComas harbors TFE3 gene fusions. *The American journal of surgical pathology.* 2010;34:1395-1406.
9. Martignoni G, Gobbo S, Camparo P, et al. Differential expression of cathepsin K in neoplasms harboring TFE3 gene fusions. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2011;24:1313-1319.
10. Argani P, Zhong M, Reuter VE, et al. TFE3-Fusion Variant Analysis Defines Specific Clinicopathologic Associations Among Xp11 Translocation Cancers. *The American journal of surgical pathology.* 2016;40:723-737.
11. Sukov WR, Hodge JC, Lohse CM, et al. TFE3 rearrangements in adult renal cell carcinoma: clinical and pathologic features with outcome in a large series of consecutively treated patients. *The American journal of surgical pathology.* 2012;36:663-670.
12. Argani P, Antonescu CR, Couturier J, et al. PRCC-TFE3 renal carcinomas: morphologic, immunohistochemical, ultrastructural, and molecular analysis of an entity associated with the t(X;1)(p11.2;q21). *The American journal of surgical pathology.* 2002;26:1553-1566.
13. Argani P, Hawkins A, Griffin CA, et al. A distinctive pediatric renal neoplasm characterized by epithelioid morphology, basement membrane production, focal HMB45 immunoreactivity, and t(6;11)(p21.1;q12) chromosome translocation. *The American journal of pathology.* 2001;158:2089-2096.
14. Smith NE, Illei PB, Allaf M, et al. t(6;11) renal cell carcinoma (RCC): expanded immunohistochemical profile emphasizing novel RCC markers and report of 10 new genetically confirmed cases. *The American journal of surgical pathology.* 2014;38:604-614.
15. Inamura K, Fujiwara M, Togashi Y, et al. Diverse fusion patterns and heterogeneous clinicopathologic features of renal cell carcinoma with t(6;11) translocation. *The American journal of surgical pathology.* 2012;36:35-42.
16. Camparo P, Vasiliu V, Molinie V, et al. Renal translocation carcinomas: clinicopathologic, immunohistochemical, and gene expression profiling analysis of 31 cases with a review of the literature. *The American journal of surgical pathology.* 2008;32:656-670.

17. Argani P, Reuter VE, Zhang L, et al. TFEB-amplified Renal Cell Carcinomas: An Aggressive Molecular Subset Demonstrating Variable Melanocytic Marker Expression and Morphologic Heterogeneity. *The American journal of surgical pathology*. 2016;40:1484-1495.
18. Williamson SR, Grignon DJ, Cheng L, et al. Renal Cell Carcinoma With Chromosome 6p Amplification Including the TFEB Gene: A Novel Mechanism of Tumor Pathogenesis? *The American journal of surgical pathology*. 2017;41:287-298.
19. Linehan WM, Spellman PT, Ricketts CJ, et al. Comprehensive Molecular Characterization of Papillary Renal-Cell Carcinoma. *The New England journal of medicine*. 2016;374:135-145.
20. Delahunt B, Eble JN. Papillary renal cell carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 105 tumors. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 1997;10:537-544.
21. Antonelli A, Tardanico R, Balzarini P, et al. Cytogenetic features, clinical significance and prognostic impact of type 1 and type 2 papillary renal cell carcinoma. *Cancer genetics and cytogenetics*. 2010;199:128-133.
22. Saleeb RM, Brimo F, Farag M, et al. Toward Biological Subtyping of Papillary Renal Cell Carcinoma With Clinical Implications Through Histologic, Immunohistochemical, and Molecular Analysis. *The American journal of surgical pathology*. 2017;41:1618-1629.
23. Chevarie-Davis M, Riazalhosseini Y, Arseneault M, et al. The morphologic and immunohistochemical spectrum of papillary renal cell carcinoma: study including 132 cases with pure type 1 and type 2 morphology as well as tumors with overlapping features. *The American journal of surgical pathology*. 2014;38:887-894.
24. Hes O, Brunelli M, Michal M, et al. Oncocytic papillary renal cell carcinoma: a clinicopathologic, immunohistochemical, ultrastructural, and interphase cytogenetic study of 12 cases. *Annals of diagnostic pathology*. 2006;10:133-139.
25. Lefevre M, Couturier J, Sibony M, et al. Adult papillary renal tumor with oncocytic cells: clinicopathologic, immunohistochemical, and cytogenetic features of 10 cases. *The American journal of surgical pathology*. 2005;29:1576-1581.
26. Kunju LP, Wojno K, Wolf JS, Jr., et al. Papillary renal cell carcinoma with oncocytic cells and nonoverlapping low grade nuclei: expanding the morphologic spectrum with emphasis on clinicopathologic, immunohistochemical and molecular features. *Human pathology*. 2008;39:96-101.
27. Mai KT, Kohler DM, Robertson SJ, et al. Oncocytic papillary renal cell carcinoma with solid architecture: mimic of renal oncocytoma. *Pathology international*. 2008;58:164-168.
28. Okada A, Sasaki S, Fujiyoshi Y, et al. A case of oncocytic papillary renal cell carcinoma. *International journal of urology : official journal of the Japanese Urological Association*. 2009;16:765-767.
29. Park BH, Ro JY, Park WS, et al. Oncocytic papillary renal cell carcinoma with inverted nuclear pattern: distinct subtype with an indolent clinical course. *Pathology international*. 2009;59:137-146.
30. Trpkov K, Yilmaz A, Uzer D, et al. Renal oncocytoma revisited: a clinicopathological study of 109 cases with emphasis on problematic diagnostic features. *Histopathology*. 2010;57:893-906.
31. Cacciamani G, Cima L, Ficial M, et al. Liver Metastases From Renal Oncocytoma With Vascular Extension. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM*. 2017.
32. Srigley JR, Delahunt B, Eble JN, et al. The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver Classification of Renal Neoplasia. *The American journal of surgical pathology*. 2013;37:1469-1489.
33. Delahunt B. Advances and controversies in grading and staging of renal cell carcinoma. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2009;22 Suppl 2:S24-36.
34. Delahunt B, Bethwaite PB, Nacey JN. Outcome prediction for renal cell carcinoma: evaluation of prognostic factors for tumours divided according to histological subtype. *Pathology*. 2007;39:459-465.

35. Renshaw AA, Zhang H, Corless CL, et al. Solid variants of papillary (chromophil) renal cell carcinoma: clinicopathologic and genetic features. *The American journal of surgical pathology*. 1997;21:1203-1209.
36. Ngan KW, Ng KF, Chuang CK. Solid variant of papillary renal cell carcinoma. *Chang Gung medical journal*. 2001;24:582-586.
37. Udager AM, Pan J, Magers MJ, et al. Molecular and immunohistochemical characterization reveals novel BRAF mutations in metanephric adenoma. *The American journal of surgical pathology*. 2015;39:549-557.
38. Kinney SN, Eble JN, Hes O, et al. Metanephric adenoma: the utility of immunohistochemical and cytogenetic analyses in differential diagnosis, including solid variant papillary renal cell carcinoma and epithelial-predominant nephroblastoma. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2015;28:1236-1248.
39. Brunelli M, Eble JN, Zhang S, et al. Metanephric adenoma lacks the gains of chromosomes 7 and 17 and loss of Y that are typical of papillary renal cell carcinoma and papillary adenoma. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2003;16:1060-1063.
40. Zhao M, He XL, Teng XD. Mucinous tubular and spindle cell renal cell carcinoma: a review of clinicopathologic aspects. *Diagnostic pathology*. 2015;10:168.
41. Petersson F, Bulimbasic S, Hes O, et al. Biphasic alveolosquamoid renal carcinoma: a histomorphological, immunohistochemical, molecular genetic, and ultrastructural study of a distinctive morphologic variant of renal cell carcinoma. *Annals of diagnostic pathology*. 2012;16:459-469.
42. Kuroda N, Tanaka A, Yamaguchi T, et al. Chromophobe renal cell carcinoma, oncocytic variant: a proposal of a new variant giving a critical diagnostic pitfall in diagnosing renal oncocytic tumors. *Medical molecular morphology*. 2013;46:49-55.
43. Hes O, Vanecek T, Perez-Montiel DM, et al. Chromophobe renal cell carcinoma with microcystic and adenomatous arrangement and pigmentation--a diagnostic pitfall. Morphological, immunohistochemical, ultrastructural and molecular genetic report of 20 cases. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2005;446:383-393.
44. Dunder P, Pesl M, Povysil C, et al. Pigmented microcystic chromophobe renal cell carcinoma. *Pathology, research and practice*. 2007;203:593-597.
45. Kuroda N, Iiyama T, Moriki T, et al. Chromophobe renal cell carcinoma with focal papillary configuration, nuclear basaloid arrangement and stromal osseous metaplasia containing fatty bone marrow element. *Histopathology*. 2005;46:712-713.
46. Thoenes W, Storkel S, Rumpelt HJ, et al. Chromophobe cell renal carcinoma and its variants--a report on 32 cases. *The Journal of pathology*. 1988;155:277-287.
47. Mokhtar GA, Al-Zahrani R. Chromophobe renal cell carcinoma of the kidney with neuroendocrine differentiation: A case report with review of literature. *Urology annals*. 2015;7:383-386.
48. Parada DD, Pena KB. Chromophobe renal cell carcinoma with neuroendocrine differentiation. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2008;116:859-865.
49. Michal M, Hes O, Svec A, et al. Pigmented microcystic chromophobe cell carcinoma: a unique variant of renal cell carcinoma. *Annals of diagnostic pathology*. 1998;2:149-153.
50. Petersson F, Gatalica Z, Grossmann P, et al. Sporadic hybrid oncocytic/chromophobe tumor of the kidney: a clinicopathologic, histomorphologic, immunohistochemical, ultrastructural, and molecular cytogenetic study of 14 cases. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2010;456:355-365.
51. Delongchamps NB, Galmiche L, Eiss D, et al. Hybrid tumour 'oncocytoma-chromophobe renal cell carcinoma' of the kidney: a report of seven sporadic cases. *BJU international*. 2009;103:1381-1384.
52. Hes O, Petersson F, Kuroda N, et al. Renal hybrid oncocytic/chromophobe tumors - a review. *Histology and histopathology*. 2013;28:1257-1264.

53. Williamson SR, Gadde R, Trpkov K, et al. Diagnostic criteria for oncocytic renal neoplasms: a survey of urologic pathologists. *Human pathology*. 2017;63:149-156.
54. Li Y, Reuter VE, Matoso A, et al. Re-evaluation of 33 'unclassified' eosinophilic renal cell carcinomas in young patients. *Histopathology*. 2018;72:588-600.
55. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *The Journal of clinical investigation*. 2009;119:1420-1428.
56. Kuroda N, Toi M, Hiroi M, et al. Review of sarcomatoid renal cell carcinoma with focus on clinical and pathobiological aspects. *Histology and histopathology*. 2003;18:551-555.
57. de Peralta-Venturina M, Moch H, Amin M, et al. Sarcomatoid differentiation in renal cell carcinoma: a study of 101 cases. *The American journal of surgical pathology*. 2001;25:275-284.
58. Delahunt B, Bethwaite PB, McCredie MR, et al. The evolution of collagen expression in sarcomatoid renal cell carcinoma. *Human pathology*. 2007;38:1372-1377.
59. Foucar E, Rosai J, Dorfman R. Sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy (Rosai-Dorfman disease): review of the entity. *Seminars in diagnostic pathology*. 1990;7:19-73.
60. Brimo F, Atallah C, Li G, et al. Cystic clear cell papillary renal cell carcinoma: is it related to multilocular clear cell cystic neoplasm of low malignant potential? *Histopathology*. 2016;68:666-672.
61. Williamson SR, Halat S, Eble JN, et al. Multilocular cystic renal cell carcinoma: similarities and differences in immunoprofile compared with clear cell renal cell carcinoma. *The American journal of surgical pathology*. 2012;36:1425-1433.
62. Langner C, Wegscheider BJ, Ratschek M, et al. Keratin immunohistochemistry in renal cell carcinoma subtypes and renal oncocytomas: a systematic analysis of 233 tumors. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2004;444:127-134.
63. Skinnider BF, Folpe AL, Hennigar RA, et al. Distribution of cytokeratins and vimentin in adult renal neoplasms and normal renal tissue: potential utility of a cytokeratin antibody panel in the differential diagnosis of renal tumors. *The American journal of surgical pathology*. 2005;29:747-754.
64. Bulimbasic S, Ljubanovic D, Sima R, et al. Aggressive high-grade mucinous tubular and spindle cell carcinoma. *Human pathology*. 2009;40:906-907.
65. Alexiev BA, Burke AP, Drachenberg CB, et al. Mucinous tubular and spindle cell carcinoma of the kidney with prominent papillary component, a non-classic morphologic variant. A histologic, immunohistochemical, electron microscopic and fluorescence in situ hybridization study. *Pathology, research and practice*. 2014;210:454-458.
66. Kuroda N, Naroda T, Tamura M, et al. High-grade mucinous tubular and spindle cell carcinoma: comparative genomic hybridization study. *Annals of diagnostic pathology*. 2011;15:472-475.
67. Ferlicot S, Allory Y, Comperat E, et al. Mucinous tubular and spindle cell carcinoma: a report of 15 cases and a review of the literature. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2005;447:978-983.
68. Rakozy C, Schmahl GE, Bogner S, et al. Low-grade tubular-mucinous renal neoplasms: morphologic, immunohistochemical, and genetic features. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2002;15:1162-1171.
69. Brandal P, Lie AK, Bassarova A, et al. Genomic aberrations in mucinous tubular and spindle cell renal cell carcinomas. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2006;19:186-194.
70. Dhillon J, Amin MB, Selbs E, et al. Mucinous tubular and spindle cell carcinoma of the kidney with sarcomatoid change. *The American journal of surgical pathology*. 2009;33:44-49.
71. Moch H, Humphrey, P.A., Ulbright, T.M., Reuter, V.E. WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Fourth edition. 2016:400.
72. Michal M. Benign mixed epithelial and stromal tumor of the kidney. *Pathology, research and practice*. 2000;196:275-276.
73. Adsay NV, Eble JN, Srigley JR, et al. Mixed epithelial and stromal tumor of the kidney. *The American journal of surgical pathology*. 2000;24:958-970.

74. Jevremovic D, Lager DJ, Lewin M. Cystic nephroma (multilocular cyst) and mixed epithelial and stromal tumor of the kidney: a spectrum of the same entity? *Annals of diagnostic pathology*. 2006;10:77-82.
75. Turbiner J, Amin MB, Humphrey PA, et al. Cystic nephroma and mixed epithelial and stromal tumor of kidney: a detailed clinicopathologic analysis of 34 cases and proposal for renal epithelial and stromal tumor (REST) as a unifying term. *The American journal of surgical pathology*. 2007;31:489-500.
76. Doros LA, Rossi CT, Yang J, et al. DICER1 mutations in childhood cystic nephroma and its relationship to DICER1-renal sarcoma. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2014;27:1267-1280.
77. Thompson RH, Gillett MD, Chevillie JC, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101:17174-17179.
78. Krambeck AE, Thompson RH, Dong H, et al. B7-H4 expression in renal cell carcinoma and tumor vasculature: associations with cancer progression and survival. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103:10391-10396.
79. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *The New England journal of medicine*. 2015;373:1803-1813.
80. Tanaka Y, Kato K, Notohara K, et al. Frequent beta-catenin mutation and cytoplasmic/nuclear accumulation in pancreatic solid-pseudopapillary neoplasm. *Cancer research*. 2001;61:8401-8404.
81. Michal M, Bulimbasic S, Coric M, et al. Pancreatic analogue solid pseudopapillary neoplasm arising in the paratesticular location. The first case report. *Human pathology*. 2016;56:52-56.
82. Deshpande V, Oliva E, Young RH. Solid pseudopapillary neoplasm of the ovary: a report of 3 primary ovarian tumors resembling those of the pancreas. *The American journal of surgical pathology*. 2010;34:1514-1520.
83. Kominami A, Fujino M, Murakami H, et al. beta-catenin mutation in ovarian solid pseudopapillary neoplasm. *Pathology international*. 2014;64:460-464.
84. Cheuk W, Beavon I, Chui DT, et al. Extrapneumatic solid pseudopapillary neoplasm: report of a case of primary ovarian origin and review of the literature. *International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists*. 2011;30:539-543.
85. Kopczyński J, Kowalik A, Chlopek M, et al. Oncogenic Activation of the Wnt/beta-Catenin Signaling Pathway in Signet Ring Stromal Cell Tumor of the Ovary. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM / official publication of the Society for Applied Immunohistochemistry*. 2016;24:e28-33.
86. Mengoli MC, Bonetti LR, Intersimone D, et al. Solid pseudopapillary tumor: a new tumor entity in the testis? *Human pathology*. 2017;62:242-243.
87. Ulbright TM, Young RH. Pseudo-"solid pseudopapillary neoplasms" of the testis: in reality Sertoli cell tumors. *Human pathology*. 2018.
88. von Hochstetter AR, Sigg C, Saremaslani P, et al. The significance of giant cells in human testicular seminomas. A clinico-pathological study. *Virchows Archiv A, Pathological anatomy and histopathology*. 1985;407:309-322.
89. Javadpour N. Human chorionic gonadotropin in seminoma. *The Journal of urology*. 1984;131:407.
90. Mann K, Siddle K. Evidence for free beta-subunit secretion in so-called human chorionic gonadotropin-positive seminoma. *Cancer*. 1988;62:2378-2382.
91. Scheiber K, Mikuz G, Frommhold H, et al. Human chorionic gonadotropin-positive seminoma: is this a special type of seminoma with a poor prognosis? *Progress in clinical and biological research*. 1985;203:97-104.
92. Koss LG, Deitch D, Ramanathan R, et al. Diagnostic value of cytology of voided urine. *Acta cytologica*. 1985;29:810-816.

93. Bastacky S, Ibrahim S, Wilczynski SP, et al. The accuracy of urinary cytology in daily practice. *Cancer*. 1999;87:118-128.
94. Raab SS, Lenel JC, Cohen MB. Low grade transitional cell carcinoma of the bladder. Cytologic diagnosis by key features as identified by logistic regression analysis. *Cancer*. 1994;74:1621-1626.
95. Zhong M, Tian W, Zhuge J, et al. Distinguishing nested variants of urothelial carcinoma from benign mimickers by TERT promoter mutation. *The American journal of surgical pathology*. 2015;39:127-131.
96. Michal M, Babaoglu B, Kazakov DV, et al. Atypical mitoses in pleomorphic lipomas. *Human pathology*. 2017;70:143.
97. Creytens D, Mentzel T, Ferdinande L, et al. Atypical multivacuolated lipoblasts and atypical mitoses are not compatible with the diagnosis of spindle cell/pleomorphic lipoma. *Human pathology*. 2018;74:188-189.
98. O'Malley DP, Kim YS, Weiss LM. Distinctive immunohistochemical staining in littoral cell angioma using ERG and WT-1. *Annals of diagnostic pathology*. 2015;19:143-145.
99. Falk S, Stutte HJ, Frizzera G. Littoral cell angioma. A novel splenic vascular lesion demonstrating histiocytic differentiation. *The American journal of surgical pathology*. 1991;15:1023-1033.
100. Bisceglia M, Sickel JZ, Giangaspero F, et al. Littoral cell angioma of the spleen: an additional report of four cases with emphasis on the association with visceral organ cancers. *Tumori*. 1998;84:595-599.
101. Bhaskar SN, Bernier JL. Histogenesis of branchial cysts; a report of 468 cases. *The American journal of pathology*. 1959;35:407-443.
102. Suster S, Rosai J. Multilocular thymic cyst: an acquired reactive process. Study of 18 cases. *The American journal of surgical pathology*. 1991;15:388-398.
103. Weissferdt A, Kalhor N, Petersson F, et al. Ectopic Hamartomatous Thymoma-New Insights Into a Challenging Entity: A Clinicopathologic and Immunohistochemical Study of 9 Cases. *The American journal of surgical pathology*. 2016;40:1571-1576.
104. Michal M, Mukensnabl P, Kazakov DV. Branchial-like cysts of the thyroid associated with solid cell nests. *Pathology international*. 2006;56:150-153.
105. Asioli S, Erickson LA, Lloyd RV. Solid cell nests in Hashimoto's thyroiditis sharing features with papillary thyroid microcarcinoma. *Endocrine pathology*. 2009;20:197-203.
106. Honda K, Kashima K, Daa T, et al. Clonal analysis of the epithelial component of Warthin's tumor. *Human pathology*. 2000;31:1377-1380.
107. Abell MR. Intraepithelial carcinomas of epidermis and squamous mucosa of vulva and perineum. *The Surgical clinics of North America*. 1965;45:1179-1198.
108. Compagno J, Oertel JE. Mucinous cystic neoplasms of the pancreas with overt and latent malignancy (cystadenocarcinoma and cystadenoma). A clinicopathologic study of 41 cases. *American journal of clinical pathology*. 1978;69:573-580.
109. Jang KT, Park SM, Basturk O, et al. Clinicopathologic characteristics of 29 invasive carcinomas arising in 178 pancreatic mucinous cystic neoplasms with ovarian-type stroma: implications for management and prognosis. *The American journal of surgical pathology*. 2015;39:179-187.
110. Zen Y, Pedita F, Patcha VR, et al. Mucinous cystic neoplasms of the liver: a clinicopathological study and comparison with intraductal papillary neoplasms of the bile duct. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2011;24:1079-1089.
111. Devaney K, Goodman ZD, Ishak KG. Hepatobiliary cystadenoma and cystadenocarcinoma. A light microscopic and immunohistochemical study of 70 patients. *The American journal of surgical pathology*. 1994;18:1078-1091.
112. Shiono S, Suda K, Nobukawa B, et al. Pancreatic, hepatic, splenic, and mesenteric mucinous cystic neoplasms (MCN) are lumped together as extra ovarian MCN. *Pathology international*. 2006;56:71-77.
113. Michal M, Kazakov DV, Kacerovska D, et al. Paratesticular cystadenomas with ovarian stroma, metaplastic serous Mullerian epithelium, and male adnexal tumor of probable wolffian origin: A

series of 5 hitherto poorly recognized testicular tumors. *Annals of diagnostic pathology*. 2013;17:151-158.

114. Michal M, Hes O, Bisceglia M, et al. Mixed epithelial and stromal tumors of the kidney. A report of 22 cases. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2004;445:359-367.

PODĚKOVÁNÍ

Prof. MUDr. Michalovi Michalovi

Prof. MUDr. Ondřejovi Hesovi, Ph.D.

Prof. MUDr. Aleně Skálové, CsC.

MUDr. Michaelovi Michalovi, Ph.D.

Univerzitě Karlově v Praze, Lékařské fakultě v Plzni

Svým spolupracovníkům Šiklova ústavu patologie a Bioptické laboratoře, s.r.o. v Plzni

Své rodině a nejbližším

Autor souhlasí se zapůjčením práce.

MUDr. Květoslava Michalová, Ph.D.

V Plzni, dne 25.3.2019