

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE, LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI

ŠIKLŮV ÚSTAV PATOLOGIE



Autoreferát k doktorské disertační práci

**MOLEKULÁRNÍ GENETIKA NÁDORŮ UROGENITÁLNÍHO TRAKTU A JEJÍ VZTAH
K BIOLOGICKÉMU CHOVÁNÍ**

**TUMORS OF UROGENITAL TRACT, MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS
AND IMPACT ON BIOLOGICAL BEHAVIOR**

MUDr. KRISTÝNA PIVOVARČÍKOVÁ

Plzeň 2017
Obor patologie

Disertační práce byla vypracována v prezenční formě doktorského studijního programu D4PA5145 PATOLOGIE na Šiklově ústavu patologie LF UK v Plzni.

Uchazeč: **MUDr. Kristýna Pivovarčíková**
Šiklův ústav patologie LF UK v Plzni

Školitel: **Prof. MUDr. Ondřej Hes, Ph.D.**
Šiklův ústav patologie LF UK v Plzni

Předseda oborové rady: **Prof. MUDr. Alena Skálová, CSc.**
Šiklův ústav patologie LF UK v Plzni

Oponenti: **Prof. MUDr. Václav Mandys, CSc.**
*Ústav patologie 3. lékařské fakulty
Fakultní nemocnice Královské Vinohrady*

Doc. MUDr. Zdeňka Vernerová, CSc.
Ústav pro péči o matku a dítě, Praha, Podolí

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba disertační práce před komisí pro obhajobu disertačních prací studijního programu D4PA5145 PATOLOGIE se koná **dne 30.1.2018 v hodin v přednáškovém sále Bioptické laboratoře s.r.o.** v ulici Rejskova 855/10, v Plzni.

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátě Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Husova 3, Plzeň.

Obsah

1	Anotace v českém jazyce	2
2	Anotace v anglickém jazyce	3
3	Cíle prací.....	4
4	Výsledky	5
4.1	“Mucin”-secreting papillary renal cell carcinoma: Clinicopathological, immunohistochemical, and molecular genetic analysis of seven cases	5
4.2	Warthin-like papillary renal cell carcinoma: Clinicopathologic, morphologic, immunohistochemical and molecular genetic analysis of 11 cases	6
4.3	Biphasic squamoid alveolar renal cell carcinoma - a distinctive subtype of papillary renal cell carcinoma?	6
4.4	Solid papillary renal cell carcinoma: Clinicopathologic, morphologic, and immunohistochemical analysis of 10 cases and review of the literature.....	7
4.5	Cystic and necrotic papillary renal cell carcinoma: Prognosis, morphology, immunohistochemical, and molecular-genetic profile of 10 cases	8
4.6	Molecular-genetic analysis is essential for accurate classification of renal carcinoma resembling Xp11.2 translocation carcinoma	8
4.7	TFE3-fusion variant analysis defines specific clinicopathologic associations among Xp11 translocation (letter to the editor).....	9
5	Závěrem	11
6	Publikace	12
6.1	Publikace autorky, které jsou podkladem dizertační práce	12
6.2	Další publikace autorky se vztahem k tématu dizertační práce.....	13
6.3	Publikace autorky bez vztahu k tématu dizertační práce.....	15
7	Prezentace na vědeckých konferencích.....	16

1 Anotace v českém jazyce

Disertační práce je komentovaným souborem sedmi v anglické literatuře publikovaných prací zabývajících se problematikou molekulární genetiky nádorů urogenitálního traktu. Při velkém množství současných poznatků v tomto odvětví a při širokém spektru urogenitálních lézí je pak tato dizertační práce blíže zaměřena zejména na současný pohled na renální neoplázie charakterizované predominantně papilárním typem růstu. Po obecném úvodu jsou blíže prezentovány jednotlivé renální neoplázie s papilární morfologií, specifikovány jsou jejich morfologické, imunohistochemické a molekulárně-genetické vlastnosti, komentována je jejich diferenciální diagnostika. Ve výsledcích jsou představeny recentně publikované novinky v morfologickém spektru těchto lézí, poznatky o heterogenitě výsledků molekulárně-genetických metod u jednotlivých nádorových jednotek, zmíněna jsou úskalí běžné diagnostické praxe, komentován je též prognostický význam lézí. Závěrem je zhodnocen a komentován klinický dopad a užití těchto poznatků v běžné praxi.

2 Anotace v anglickém jazyce

The Ph.D. thesis is a collection of seven commented articles on the topic of molecular-genetic of urogenital tumors. The spectrum of urogenital lesions is very wide, there is lots of new insights in field of urogenital pathology. Therefore, presented Ph.D. thesis is focused only on small part of urogenital neoplasms - renal cell carcinomas characterized by papillary growing pattern. The introduction presents different entities with papillary morphology, there are specified basic morphological, immunohistochemical and molecular-genetic characteristic of these lesions, their differential diagnosis is commented. In the results, there are presented recently published studies dealing with newly described entities of renal neoplasias, heterogeneity of molecular genetic studies in individual tumorous groups is established, prognostic significance is commented, typical pitfalls are introduced. In the conclusions, the limitations of the use molecular-genetic methods are discussed and clinical outcome and significance is evaluated.

3 Cíle prací

1. Specifikovat neobvyklé, raritní či doposud nepopsané varianty PRCC (morfologicky, imunohistochemicky, molekulárně geneticky), stanovit diagnostické algoritmy a upřesnit diferenciální diagnostiku.
2. Stanovit prognostický význam přítomnosti nekrózy a cystických změn u PRCC typ 1.
3. Určit význam molekulárně genetického vyšetření (FISH) u lézí suspektních z diagnózy Xp11 TRCC, posoudit význam imunohistochemického vyšetření TFE3.
4. Zhodnotit a rozšířit morfologické spektrum Xp11 TRCC s fúzním partnerem *NONO-TFE3*.

4 Výsledky

Výsledky dizertační práce jsou prezentovány sedmi původními pracemi uvedenými níže, na kterých se autorka podílela (ať už jako první autor či členka širšího autorského kolektivu).

4.1 *“Mucin”-secreting papillary renal cell carcinoma: Clinicopathological, immunohistochemical, and molecular genetic analysis of seven cases*

Produkce mucínu a mucínu podobného materiálu není všeobecně považována za znak typický pro papilární renální karcinom (PRCC) a tato produkce pak bývá spíše spojována s jinými typy renálních karcinomů (RCC).

V této práci bylo sedm nádorů diagnostikovaných jako PRCC (se zaznamenanou extracelulární a/nebo intracelulární produkcí mucinózního/mucínu podobného materiálu) podrobeno morfologické, histochemické, imunohistochemické a molekulárně genetické analýze (FISH, arrayCGH).

Klinická data byla dostupná u šesti ze sedmi případů (5 mužů, 1 žena, věkové rozmezí pacientů 61-78 let). Dispenzarizační údaje byly k dispozici u čtyř pacientů (v trvání 2-4 roky), jeden z pacientů zemřel na generalizaci procesu. Velikost tumorů se pohybovala v rozmezí 3-5 cm (průměr 3,8 cm). U všech případů morfologicky dominovala papilární architektonika. Mucinózní/mucínu podobný materiál byl zaznamenán pouze extracelulárně (u jednoho z případů), pouze intracelulárně (ve třech případech) a intra- i extracelulárně (ve třech tumorech). Všechny nádory vykazovaly pozitivitu v imunohistochemickém průkazu racemázy (AMACR), vimentinu, cytokeratinu OSCAR, pouze u čtyř případů byla zaznamenána pozitivita cytokeratinu CK7. Barvení mucikarmínem bylo pozitivní u všech sedmi případů, barvení PAS prokázalo pozitivitu mucinózní produkce v šesti případech a barvení alcianovou modří bylo pozitivní u třech případů. Pět případů vykazovalo reaktivitu v imunohistochemickém průkazu MUC1. MUC2, MUC4 a MUC6 byly negativní ve všech případech. Pouze čtyři případy byly únosné pro provedení molekulárně genetických vyšetření. U dvou případů byla prokázána polysomie chromosomů 7 a 17, u jednoho případu pouze polysomie chromosomu 17. Ztráta heterozigosity 3p (LOH3p) společně s polysomií chromosomů 7 a 17 detekovalo molekulárně genetické vyšetření v jednom z případů. U žádného z tumorů nebyla zaznamenána abnormalita genu *VHL*, *FH* či translokace genu *TFE3*.

PRCC s mucinózní sekrecí je vzácná varianta PRCC. Mucinózní materiál obsažený v těchto tumorech vykazuje pozitivitu speciálního histochemického barvení mucikarmínem, avšak jiná konvenční histochemická a imunohistochemická barvení používaná pro mucinózní materiál nejsou u těchto nádorů konstantní ve své pozitivitě. Molekulárně genetický profil těchto tumorů je relativně konzistentní s molekulárně genetickými znaky považovanými za typické pro PRCC, avšak jeden z nádorů vykazoval molekulárně genetické znaky typické jak pro PRCC tak pro CCRCC. Je evidentní, že PRCC s mucinózní sekrecí má metastatický potenciál.

4.2 *Warthin-like papillary renal cell carcinoma: Clinicopathologic, morphologic, immunohistochemical and molecular genetic analysis of 11 cases*

Poslední WHO klasifikace renálních neoplázií (z roku 2016) již oficiálně připouští onkocytický PRCC jako možnou novou variantu PRCC. Morfologicky se tyto nádory vyznačují papilárním uspořádáním, kde papily jsou lemovány jednou vrstvou eosinofilních buněk s lineárně uspořádanými "onkocytoma-like" jádérky.

V této práci bylo 11 onkocytických PRCC s prominentním lymfocytárním infiltrátem, připomínajícím svým morfologickým vzhledem Warthinův tumor slinné žlázy, posuzováno klinickopatologicky, morfologicky, imunohistochemicky a molekulárně-geneticky. Převažovali tumory mužů (8/11), věk pacientů se pohyboval mezi 14-76 lety (průměr 59 let), maximální rozměr tumoru byl v rozmezí 1-22 cm (průměr 7 cm). Všechny tumory vykazovali vzhled typický pro onkocytický PRCC, s predominantně papilárním typem růstu. U všech nádorů byl přítomen nápadný denzní lymfocytární stromální infiltrát, u 8/11 neoplázií byla fokálně zastižena přítomnost pseudostratifikace. Nádorové struktury vykazovaly uniformní pozitivitu v imunohistochemickém průkazu AMACR, PAX8, MIA, vimentinu a cytokeratinu OSCAR. Naopak negativní byla většina nádorů v imunohistochemickém barvení CA-IX, CD117, CK20 a TTF-1. Imunohistochemické vyšetření MMR proteinů (status DNA mismatch repair proteinů) prokázalo zachovanou expresi MLH1 a PMS2 u všech tumorů, ztráta exprese MSH2 a MSH6 byla zastižena v jednom případě. Numerický status chromosomů prokázal variace v 5 případech (od ztráty jediného chromosomu až po komplexní genomovou alteraci), pouze u jediného případu byla prokázána polysomie chromosomů 7 a 17 (mimo jiné aberace přítomné u tohoto případu). Ve čtyřech případech nebyly za pomoci molekulárně genetických metod detekovány žádné numerické chromozomální aberace. Data o průběhu další dispenzarizace byla dostupná u devíti pacientů (v délce trvání 1-132 měsíců, průměr 47,6 měsíce). Tři pacienti zemřeli na následky generalizace, u šesti pacientů bylo zaznamenáno metastatické chování, prozatím bez letální progresy.

Warthin-like PRCC je subtypem PRCC morfologicky velmi blízkým onkocytickému PRCC, od kterého se liší přítomností denzního lymfoidního stromatu. Numerický chromozomální status je u těchto nádorů velmi různorodý. Warthin-like PRCC je nádor s agresivním chováním a letálním potenciálem, kdy u 3/9 pacientů zahrnutých v této studii byla generalizace tohoto onemocnění příčinou smrti.

4.3 *Biphasic squamoid alveolar renal cell carcinoma - a distinctive subtype of papillary renal cell carcinoma?*

Bifázický skvamoidní a alveolární renální karcinom (BSARCC) je v literatuře relativně recentně popsanou renální neoplázií.

V rámci této multiinstitucionální studie je prezentováno celkem 21 případů BSARCC, které byly analyzovány morfologicky, za použití imunohistochemie a molekulárně genetických metod (arrayCGH a FISH). V 11 případech se jednalo o tumory u mužů, ve zbylých 10 případech byly postiženy ženy. Věkové rozmezí pacientů se pohybovalo mezi 53 a 79 lety, rozptyl velikosti nádorů byl mezi 1,5 a 16 cm. Údaje o dispenzarizaci byly k dispozici u 14 pacientů (délka dispenzarizace činila 1-96 měsíců), z toho u pěti pacientů byla dokumentována přítomnost metastatického onemocnění. Morfologicky všechny nádory obsahovaly dvě různé populace buněk uspořádané do odlišných organoidních struktur: malé buňky s low-grade morfologií a malým množstvím cytoplasmy vytvářely alveolární struktury,

větší skvamoidní buňky s objemnější cytoplasmou a vezikulárním jadérkem tvořily kompaktní okrsky/hnízda (okrsky větších skvamoidních buněk tvořily 10% - 80% z celkového objemu tumorů). U devíti nádorů byl dále zastižen i přechod výše popsaných solidních a alveolárních okrsků do papilární komponenty. Ve všech 21 případech byla histologicky zachycena přítomnost emperipoézy. Všechny případy reagovaly pozitivně v imunohistochemickém průkazu CK7, EMA, vimentinu a cyklinu D1. V analyzovatelných případech (11/21 případů) bylo detekováno různé spektrum chromozomálních numerických aberací, včetně polysomie chromosomů 7 a 17 (tedy molekulárně genetických znaků manifestujících příslušnost BSARCC k PRCC).

Na podkladě morfologie, imunohistochemického a molekulárně genetického profilu těchto lézí je evidentní, že BSARCC je zvláštní morfologickou variantou PRCC s relativně širokým morfologickým spektrem. Přítomnost emperipoézy je pro tuto nádorovou jednotku konstantním znakem. U některých z případů bylo popsáno agresivní chování, avšak prognóza této nádorové entity nemůže být s definitivní jistotou hodnocena z velmi omezeného množství doposud publikovaných dat.

4.4 *Solid papillary renal cell carcinoma: Clinicopathologic, morphologic, and immunohistochemical analysis of 10 cases and review of the literature*

Solidní PRCC je vzácným subtypem PRCC, který nezapadá do tradičně uznávaného konceptu dělení PRCC na typ 1 a typ 2. Tyto nádory sestávají z monomorfních epiteliálních buněk s malým množstvím cytoplasmy a malými jádry. Nádorové buňky jsou uspořádány do drobných komprimovaných tubulů a krátkých abortivních papil, což dává tumoru charakteristický solidní vzhled (s/bez přítomnosti pravých papilárních struktur, které pokud jsou v nádoru přítomny, nejsou četné). Tyto neoplasie vykazují imunohistochemické (pozitivita imunohistochemických barvení CK7, EMA, AMACR) i molekulárně genetické znaky (polysomie/trisomie chromosomů 7 a 17, ztráta chromosomu Y u mužů) typicky přisuzované „konvenčnímu“ PRCC. V literatuře bylo doposud popsáno celkem 53 případů solidních PRCC, s predominancí postižení mužů a věkovým rozmezím pacientů 17-82 let. Z literatury je též evidentní, že tyto nádory mají příznivý klinický průběh.

Ze 1311 PRCC v Plzeňském registru nádorů, bylo vyhledáno 10 tumorů kompatibilních s diagnózou solidního PRCC. Ve všech případech se jednalo o nádory mužů, věkové rozmezí pacientů 34-70 let. Téměř u všech nádorů byl stage onemocnění pT1 dle TMN 2009 (pouze jeden případ byl ve stádiu pT3). Velikost tumorů se pohybovala v rozmezí 1,4-5,5 cm (průměr 3,32 cm). Follow-up data byla dostupná u všech pacientů (v délce trvání 3-13 let). Osm pacientů bylo po úvodní chirurgické léčbě dlouhodobě bez známek recidivy či generalizace onemocnění, u jednoho pacienta byla diagnostikována rekurence tumoru a jeden pacient po úvodní oboustranné nefrektomii pro četné drobné PRCCs zemřel na generalizaci onemocnění do tří let od stanovení diagnózy. Mikroskopickým dominantním znakem byla solidní architektonika lézí, avšak při detailní morfologické analýze byly kromě „opravdových“ solidních okrsků zastiženy i okrsky s komprimovanými, krátkými abortivními papilami a komprimované tubuly (tyto okrsky do sebe vzájemně přecházely). Přítomnost „pravých“ papil byla relativně raritním jevem. Všechny nádory byly silně difúzně pozitivní v imunohistochemickém barvení CK7 a naopak negativní v průkazu WT-1.

Solidní PRCC je vzácným nádorem (s incidencí výskytu onemocnění méně než 1% všech RCC). Imunohistochemický a molekulárně genetický profil lézí je kompatibilní s profilem typicky přisuzovaným „konvenčnímu“ PRCC.

4.5 Cystic and necrotic papillary renal cell carcinoma: Prognosis, morphology, immunohistochemical, and molecular-genetic profile of 10 cases

Prognostický dopad přítomnosti nekrózy v PRCC není jednoznačně stanoven a v literatuře publikovaná data se značně rozcházejí. Ve zcela obecné rovině je obvykle přítomnost nádorové nekrózy považována za špatný prognostický ukazatel.

V této práci bylo deset případů morfologicky uniformních PRCC typu 1 analyzováno morfologicky, konečná diagnóza byla podpořena imunohistochemickými a molekulárně-genetickými metodami. V osmi případech se jednalo o tumory mužů, ve dvou případech byly postiženy ženy, věk pacientů se pohyboval v rozmezí 32-85 let (průměrný věk 62,6 let). Nádory měřily 6-14 cm (průměrná velikost 9,4 cm). Dispenzarizační data byla dostupná v sedmi případech, s délkou trvání 0,5-14 let (průměr 4 roky). Všechny tumory byly sférického tvaru, cystické, ohraničené pomocí tlusté fibrózní kapsuly, vyplněné hemoragickým/nekrotickým obsahem. Pouze velmi limitované množství vitální nádorové tkáně bylo mikroskopicky zastiženo jako tenký lem vystylající vnitřní povrch stěny cysty, přičemž tyto nádorové hmoty byly konzistentní s diagnózou PRCC typ 1. Ve všech případech byly nádorové buňky pozitivní v imunohistochemickém průkazu racemázy (AMACR), cytokeratinu OSCAR, CAM 5.2, HIF-2 a vimentinu. Polysomie chromosomů 7 a 17 byla detekována u pěti z celkem osmi pro molekulárně genetickou analýzu vhodných případů (dva případy vykazovali disomický statut chromosomů 7 a 17 a u jednoho tumoru byla zastižena pouze polysomie chromosomu 17). Ztráta gonosomu Y byla detekována v pěti případech (z toho v jednom případě se jednalo o tumor s disomickým statutem chromosomů 7 a 17). Molekulárně genetické vyšetření neprokázalo abnormalitu *VHL* genu v žádném z případů.

PRCC typ 1 se může prezentovat jako objemná a rozsáhle hemoragicky/nekroticky změněná cystická léze s tlustým fibroleiomyomatózním pouzdrém. Většina případů vykazuje chromozomální numerické aberace „typické“ pro PRCC. Všechny tumory se prezentovaly neagresivním klinickým průběhem. Přítomnost kolikvační nekrózy tedy nemusí být nutně považována za špatný prognostický znak a to zejména u rozsáhle cysticky změněných PRCC typu 1.

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

Xp11.2 TRCC se prioritně vyskytuje u mladých pacientů a bývá popisován v souvislosti s předchozí expozicí chemoterapii.

U skupiny 20 případů, u nichž vyvstalo na podkladě morfologického vzhledu podezření na diagnózu TRCC (tzv. TRCC-like), byla za účelem stanovení přesné diagnózy provedena další vyšetření pomocí imunohistochemie a molekulárně genetických metod. U devíti případů byla potvrzena translokace TFE3 (pomocí FISH), tyto nádory byly na základě výsledků molekulárně genetických metod označeny za Xp11.2 TRCC. Ze zbylých 11 TRCC-like nádorů (7 mužů, 4 ženy, věkové rozmezí pacientů 22-84 let), pouze u devíti případů byl

k dispozici materiál pro další studii. Morfologické spektrum lézí bylo velmi různorodé, u šesti tumorů s přítomností buněk s eosinofilní či jasnou cytoplasmou v tubulárním, acinárním a papilárním uspořádání. Jeden z nádorů obsahoval epiteloidní větvenité buňky a sarkomatoidní okrsky, celkově tak nádor působil high-grade morfologií. Další nádor se prezentoval okrsky s tubulární, solidní a papilární architektonikou a okrsky větvenitých buněk, což celkově dávalo nádoru vzhled připomínající MTSRCC. Poslední z nádorů vykazoval na pozadí denzního lymfoplazmocytárního infiltrátu dyskohezivně rozprostřená hnízda velkých epiteloidních a histiocytárních buněk. Expresy cytokeratinových markerů (AE1/AE3) byla vyjádřena ve třech případech, cytokeratin CK7 reagoval silně u jednoho případu a u jednoho z tumorů byl exprimován pouze slabě fokálně. Imunohistochemický průkaz CD10 a PAX8 byl pozitivní v osmi případech, AMARC a vimentin vykazovaly pozitivitu u sedmi tumorů, exprese CA-IX byla zastižena ve čtyřech případech. Dva případy byly pozitivní při imunohistochemickém průkazu TFE3 a kathepsinu K. Molekulárně genetické vyšetření pak u jednoho z TFE3 imunohistochemicky pozitivních případů ukázalo polysomii chromosomu 7, druhý TFE3 imunohistochemicky pozitivní tumor vykazoval polysomii chromosomu 17, oba tyto tumory nevykazovaly VHL abnormality a finálně byly klasifikovány jako RCC NOS. Ze sedmi TFE3 imunohistochemicky negativních případů byly tři klasifikovány jako kombinovaný CCRCC a PRCC (u nádorů prokázána polysomie chromosomů 7/17 a VHL abnormality), jeden tumor byl označen jako CCRCC (normální status chromosomů 7/17 avšak při přítomnosti VHL abnormality – LOH 3p), jeden případ vykazoval změny typické pro PRCC (polysomie 7/17, normální VHL status) a byl tedy jako PRCC klasifikován a dva případy (normální statut chromosomů 7/17, bez VHL abnormalit) byly zařazeny do kategorie RCC NOS.

Ve výsledku, při své morfologické a imunohistochemické heterogenitě, je přesná klasifikace a odlišení TRCC a TRCC-like nádorů možné pouze na základě posouzení morfologie a zejména provedením molekulárně-genetické analýzy, imunohistochemické vyšetření má jen relativně omezený význam. TRCC jsou tedy jednotkou diagnostikovanou na základě morfologických a molekulárně genetických metod. Je evidentní, že v minulosti řada nádorů označených jako TRCC byly renální karcinomy, které skutečné translokační karcinomy pouze napodobovaly.

4.7 TFE3-fusion variant analysis defines specific clinicopathologic associations among Xp11 translocation (letter to the editor)

Argani a kol. publikovali v červenci 2016 v periodiku „American Journal of Surgical Pathology“ práci s názvem “TFE3-Fusion variant analysis defines specific clinicopathologic associations among Xp11 translocation cancers”. V této studii bylo analyzováno celkem 60 případů Xp11 translokačního karcinomu (za použití FISH), z čehož v 47 případech jednalo o Xp11 TRCC. Autoři v této práci popsali široké spektrum fúzních partnerů genu *TFE3*, mimo jiné byl u pěti tumorů detekován fúzním partnerem gen *NONO* (také nazývaný *p54nrb*). U těchto pěti *NONO-TFE3* TRCC byl dále nově popsán i typický morfologický vzhled. *NONO-TFE3* RCCs byly charakterizovány predominantně papilární architektonikou, buňkami s jasnou až slabě eosinofilní cytoplasmou a nápadnými subnukleárními vakuolami, vedoucími k efektu tzv. jaderného palisádování (zešikování jader).

V Plzeňském registru nádorů je zařazeno 41 Xp11.2 translokačních RCC, z nichž u tří případů byla molekulárně geneticky potvrzena přítomnost *NONO-TFE3* genové fúze. Pacienti

byli dva muži a jedna žena s věkovým rozmezím 34-66 let (průměr 49,7 let). Dva z těchto případů se manifestovaly lokalizovanou, na ledvinu omezenou lézí, velikosti 0,8 cm a 6 cm (v největším rozměru). Histologicky oba nádory vykazovaly papilární architekturu s papilami krytými neoplastickými buňkami se světlou až mírně eosinofilní cytoplasmou. Subnukleární vakuolizace a jaderné palisádování popisované Arganím a kol. byly v nádorech zastíženy alespoň fokálně. V obou případech byly dále zastíženy psammoma a dystrofické kalcifikace. Třetí případ byl lehce odlišný. Tumor měřil 2,3 cm (v největším rozměru) a byl léčen parciální nefrektomií. Histologicky tumor vykazoval tubulopapilární architekturu s drobnými okrsky nekrózy. Neoplastické buňky byly spíše eosinofilní, s menším množstvím cytoplasmy, s protáhlými jádry (příležitostně i s nukleárními zářezy). Buňky tvořili pseudotubulární a papilární struktury, na periferii s uspořádáním připomínajícím palisádování. V materiálu byly zastíženy dystrofické kalcifikace. S odstupem čtyř měsíců byla u pacienta detekována rekurence onemocnění (nádor byl lokalizován v oblasti dolní renální dřeně a protrudoval do renální pánvičky). Tumor vykazoval stejné morfologické rysy jako primární léze s mírnou akcentací palisádování a to až do té míry, že léze až vágně připomínala uroteliální karcinom. Imunohistochemicky byly všechny léze pozitivní v barvení racemázou (AMACR), PAX8 a CD10, naopak negativní byla CA-IX. Diagnóza Xp11 translokačního renálního karcinomu byla ověřena FISH vyšetřením, FISH analýza detekovala zlom genu *NONO* a zlom genu *TFE3* ve všech třech primárních i v rekurentním tumoru.

Navzdory velkému množství rozličných morfologických variant Xp11 translokačního RCC popsanych v literatuře je evidentní, že morfologické spektrum těchto lézí je i tak ještě mnohem komplexnější. Touto malou sérií čítající tři případy *NONO-TFE3* TRCC jsme obohatili známé morfologické spektrum, což ukazuje, že i tyto léze si zaslouží další větší studie.

5 Závěrem

Klasifikace nádorů ledvin se stává velmi komplikovanou. V posledních letech je popisováno velké množství zcela nových morfológických jednotek i variant dobře známých renálních neoplázií, kdy některé z těchto tumorů jsou diagnostikovány čistě na podkladě molekulárně genetických znaků (např. Xp11.2 translokační renální karcinom, karcinom ledviny asociovaný se syndromem familiární leiomyomatózy a karcinomu ledvin).

Zásadní skutečností je, že výše popsaná expanze morfológického a molekulárně genetického spektra renálních neoplázií zůstává prozatím bez přímého klinického dopadu. Léčebný algoritmus se u různých renálních nádorů zásadně neliší. V budoucnu, s rozvojem cílené léčby, by však co nejpřesnější diagnostika měla nabýt na významu a mít klinické opodstatnění. Z pohledu patologa je pak znalost morfológického spektra, a především opora v literatuře, neodmyslitelnou součástí každodenní praxe a snad i zárukou správné diagnózy.

Molekulárně genetická analýza se již stala součástí rutinní diagnostické praxe a je společně s imunohistochemií hojně využívána jako jedna z diagnostických modalit u obtížně klasifikovatelných renálních neoplázií. Molekulárně genetické metody (i imunohistochemická barvení) však vykazují nemalé limitace (jsou do jisté míry závislé na dobré fixaci, kvalitním zpracování materiálu a dobré kvalitě DNA). Při dobré znalosti všech těchto úskalí je nutno závěrem zdůraznit, že i nadále zůstává morfológie základním a hlavním diagnostickým kritériem. V ideálních případech je molekulární genetika společně s imunohistochemií nemalou a velmi cennou pomocnou modalitou výrazně usnadňující diagnostiku renálních lézí, avšak morfológický obraz za nimi nelze upozadovat.

6 Publikace

6.1 *Publikace autorky, které jsou podkladem dizertační práce*

1. **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. "Mucin"-secreting papillary renal cell carcinoma: clinicopathological, immunohistochemical, and molecular genetic analysis of seven cases. *Virchows Arch.* 2016 Jul;469(1):71-80. IF 2.848
2. 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. Warthin-like papillary renal cell carcinoma: Clinicopathologic, morphologic, immunohistochemical and molecular genetic analysis of 11 cases. *Ann Diagn Pathol.* 2017 Apr;27:48-56. IF 1.734
3. 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. Biphasic Squamoid Alveolar Renal Cell Carcinoma: A Distinctive Subtype of Papillary Renal Cell Carcinoma? *Am J Surg Pathol.* 2016 May;40(5):664-75. IF 5.363
4. 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. Solid papillary renal cell carcinoma: clinicopathologic, morphologic, and immunohistochemical analysis of 10 cases and review of the literature. *Ann Diagn Pathol.* 2016 Aug;23:51-7. IF 1.734
5. 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. Cystic and necrotic papillary renal cell carcinoma: prognosis, morphology, immunohistochemical, and molecular-genetic profile of 10 cases. *Ann Diagn Pathol.* 2017 Feb;26:23-30. IF 1.734
6. 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. Molecular-genetic analysis is essential for accurate classification of renal carcinoma resembling Xp11.2 translocation carcinoma. *Virchows Arch.* 2015 Mar;466(3):313-22. IF 2.613

7. **Pivovarcikova K**, Grossmann P, Alaghebandan R, Sperga M, Michal M, Hes O. TFE3-Fusion Variant Analysis Defines Specific Clinicopathologic Associations Among Xp11 Translocation Cancers. *Am J Surg Pathol*. 2017 Jan;41(1):138-140. IF 5.363

6.2 *Další publikace autorky se vztahem k tématu dizertační práce*

8. Hes O, de Souza TG, **Pivovarcikova K**, Grossmann P, Martinek P, Kuroda N, Kacerovska D, Svajdler M, Straka L, Petersson F, Hora M, Michal M. Distinctive renal cell tumor simulating atrophic kidney with 2 types of microcalcifications. Report of 3 cases. *Ann Diagn Pathol*. 2014 Apr;18(2):82-8. IF1.117
9. 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. Choriogonadotropin positive seminoma—a clinicopathological and molecular genetic study of 15 cases. *Ann Diagn Pathol*. 2014 Apr;18(2):89-94. IF1.117
10. 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. The leiomyomatous stroma in renal cell carcinomas is polyclonal and not part of the neoplastic process. *Virchows Arch*. 2014 Jul;465(1):89-96. IF 2.651
11. 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. Foamy cell (hibernoma-like) change is a rare histopathological feature in renal cell carcinoma. *Virchows Arch*. 2014 Aug;465(2):215-24. IF 2.651
12. 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. Renal cell carcinoma with leiomyomatous stroma—further immunohistochemical and molecular genetic characteristics of unusual entity. *Ann Diagn Pathol*. 2014 Oct;18(5):291-6. IF1.117
13. 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. Aggressive and nonaggressive translocation t(6;11) renal cell carcinoma: comparative study of 6 cases and review of the literature. *Ann Diagn Pathol*. 2014 Dec;18(6):351-7. IF1.117

14. 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. 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. *Ann Diagn Pathol*. 2015 Aug;19(4):226-31. IF 1.022
15. 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. 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. *Ann Diagn Pathol*. 2015 Aug;19(4):261-8. IF 1.022
16. 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. Mixed Epithelial and Stromal Tumor of the Kidney: Mutation Analysis of the DICER 1 Gene in 29 Cases. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015 Oct 27. 2017 Feb;25(2):117-121. IF 1.553
17. **Pivovarcikova K**, Pitra T, Vanecek T, Alaghebandan R, Barbora Gomolcakova, Ondic O, Peckova K, Rotterova P, Hora M, Dusek M, Michal M, Hes O. Comparative study of *TERT* gene mutation analysis on voided liquid-based urine cytology and paraffin-embedded tumorous tissue. *Ann Diagn Pathol*. 2016 Oct; 24:7-10. IF 1.734
18. 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. Morphological, immunohistochemical, and chromosomal analysis of multicystic chromophobe renal cell carcinoma, an architecturally unusual challenging variant. *Virchows Arch*. 2016 Dec;469(6):669-678. IF 2.848
19. Alaghebandan 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. Programmed death-1 (PD-1) receptor/PD-1 ligand (PD-L1) expression in fumarate hydratase-deficient renal cell carcinoma. *Ann Diagn Pathol*. 2017 Aug;29:17-22. IF 1.734

20. Rotterova P, Martinek P, Alaghebandan 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. High-grade renal cell carcinoma with emperipolesis: Clinicopathological, immunohistochemical and molecular-genetic analysis of 14 cases. *Histol Histopathol*. 2017 Sep 1 [Epub ahead of print].

6.3 Publikace autorky bez vztahu k tématu dizertační práce

1. **Pivovarčíková K**, Branžovský J, Bauleth K, Trávníček I, Dolejšová O, Šobrová A, Eret V, Ferda J, Hora M, Hes O. Radikální prostatektomie - analýza 191 případů vyšetřovaných metodikou celoplošných řezů (Whole-Mount Section). *Ces Urol* 2014, 18(1):26-32.
2. Šobrová A, Eret V, Dolejšová O, Ferda J, Kastner J, Hes O, **Pivovarčíková K**, Hora M. Komparace multiparametrické magnetické rezonance se silou magnetického pole 3 Tesla s transrektální sonografií naváděnou biopsií prostaty. *Ces Urol* 2014, 18(3):225-233.
3. Kalusová K, Trávníček I, Eberlová L, **Pivovarčíková K**, Hes O, Eret V, Pitra T, Hora M. Komplikace po lokální aplikaci cizorodého materiálu do podkoží penisu. *Ces Urol* 2015, 19(1):64-68.
4. Pitra T, **Pivovarčíková K**, Trávníček I, Procházková K, Hes O, Mírka H, Tupý R, Hora M. Cystické tumory ledvin. *Ces Urol* 2016, 20(3):204-213.
5. Polivka J Jr, Polivka J, Holubec L, Kubikova T, Priban V, Hes O, **Pivovarcikova K**, Treskova I. Advances in Experimental Targeted Therapy and Immunotherapy for Patients with Glioblastoma Multiforme. *Anticancer Res*. 2017 Jan;37(1):21-33. Review. IF 1.937

7 Prezentace na vědeckých konferencích

103rd Annual Meeting of the United States & Canadian Academy of Pathology, 1.-7.3.2014, San Diego Convention Center, San Diego, CA, USA

Poster: Hes O, Pivovarcikova K, Stehlik J, Hora M, Michal M. Choriogonadotropin Positive Seminomas-Clinicopathological and Molecular Genetic Analysis of 15 Cases.

105th Annual Meeting of the United States & Canadian Academy of Pathology,12.-18.3.2016 Washington State Convention Center, Seattle, WA, USA

Poster: Foix MP, Dunatov A, Martinek P, Condom-Mundo E, Suster S, Sperga M, Lopez JI, Ulamec M, Bulimbasic S, Michal M, Peckova K, Pivovarcikova K, Daum O, Rotterova P, Kalusova K, Hora M, Hes O. Multicystic Chromophobe Renal Cell Carcinoma: A Challenging Unusual Architectural Variant. Morphological, Immunohistochemical and arrayCGH Analysis of 11 Cases.

Poster: Rotterova P, Martinek P, Kalusova K, Damjanov I, Suster S, Alvarado-Cabrero I, Sperga M, Svajdler M, Peckova K, Pivovarcikova K, Daum O, Hora M, Michal M, Hes O. High Grade Renal Cell Carcinoma with Emperipolesis. Clinicopathological, Immunohistochemical and Molecular-Genetic Analysis of 14 Cases.

EAU 16th Central European Meeting, 7.-8.10.2016, Vienna, Austria

Poster: Pitra T, Pivovarcikova K, Vanecek T, Alaghebandan R, Gomolcakova B, Ondic O, Peckova K, Rotterova P, Hora M, Michal M, Hes O. Comparative study of TERT gene mutation analysis on voided liquid-based urine cytology and paraffin-embedded tumorous tissue.

106th Annual Meeting of the United States & Canadian Academy of Pathology,4.-10.3.2017 Henry B. Gonzalez Convention Center, San Antonio, TX, USA

Poster: Alaghebandan R, Stehlik J, Trpkov K, Magi-Galluzzi C, Foix MP, Berney D, Sibony M, Suster S, Agaimy A, Montiel DP, Pivovarcikova K, Michalova K, Daum O, Ondic O, Rotterova P, Michal M, Hes O. Programmed Death-1 (PD-1) Receptor/PD-1 Ligand (PD-L1) Expression in Fumarate Hydratase-Deficient Renal Cell Carcinoma.

Poster: Michalova K, Steiner P, Perez Montiel D, Sperga M, Suster S, Alaghebandan R, Pivovarcikova K, Daum O, Ondic O, Rotterova P, Hora M, Michal M, Hes O. Chromosomal Aberration Pattern in Oncocytic Papillary Renal Cell Carcinoma: Analysis of 28 Cases.

Poster: Isikci OT, He H, Grossmann P, Alaghebandan R, Ulamec M, Petersson F, Perez Montiel D, Michalova K, Pivovarcikova K, Ondic O, Saskova B, Rotterova P, Hora M, Michal M, Hes O. Low-Grade Spindle Cell Proliferation in Clear Cell Renal Cell Carcinoma Is Unlikely an Initial Step in Sarcomatoid Differentiation

7.edukační symposium České nefrologické společnosti – Brodovy dny 2017, 6.-7.4.2017, Ústí nad Labem, Czech Republic

Prezentace kazuistik v bloku „Závažné akutní tubulointersticiální léze za hranicí pyelonefritidy či sepse“

Kazuistika: Kačer M, Pivovarčíková K. Zhoršení funkce ledvin a hmotnostní úbytek u diabetika 2. typu

Kazuistika: Kielberger L, Pivovarčíková K. Anurie po návštěvě několika non-stop barů

Kazuistika: Machová J, Pivovarčíková K. Selhání ledvin jako suvenýr z dovolené?

Komplexní novinky v onkourologii (KNOU), 19. - 20. 5. 2017, Hotel Angelo, Praha, Czech Republic

Přednáška: Aktuální pohled na histologickou klasifikaci uroteliálních nádorů - co by měl urolog a onkolog vědět?

EAU 17th Central European Meeting, 19.-20.10.2017, Plzeň, Czech Republic

Poster: Pitra T, Pivovarcikova K, Tupy R, Alaghehbandan R, Travnicek I, Prochazkova K, Klatte T, Chlosta P, Hes O, Hora M. Impact of MRI on Clasification of Cystic Renal Lesions: Is MRI Helpful in Bosniak IIF and Bosniak III Categories?.

29th European Congress of Pathology, 2.-6.9.2017, RAI Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands

Poster: Pivovarcikova K, Sperga M, Saskova B, Grossmann P, Hes O. Xp11 Translocation Renal Cell Carcinoma with *NONO* Fusion Partner: Analysis of 4 Cases. In: Poster.

Saskova B, Pivovarcikova K, Hes O. Morphologic Variability in t(6;11) Translocation Renal Cell Carcinoma: Analysis of 9 Cases.

107th Annual Meeting of the United States & Canadian Academy of Pathology, 17.-23.3.2018 Vancouver Convention Centre, Vancouver, BC, Canada

Poster: Pivovarcikova K, Martinek P, Alaghehbandan R, Perez Montiel MD, Alvarado-Cabrero I, Rogala J, Kuroda N, Rychly B, Gasparov S, Michalova K, Saskova B, Michal M, Hes O. Primary Renal Well-differentiated Neuroendocrine Tumor (Carcinoid): Next- Generation Sequencing Study of 12 Cases. (*accepted for presentation*)

Poster: Pivovarcikova K, Martinek P, Trpkov K, Alaghehbandan R, Magi-Galluzzi C, Condom Mundo E, Comperat EM, Suster S, Michalova K, Saskova B, Michal M, Hes o. Fumarate-Hydratase Deficient Renal Cell Carcinoma Does not Demonstrate a Distinct Chromosomal Numerical Aberration Pattern. (*accepted for presentation*)

Poster: Pires-Luís A, Martinek P, Filipovic J, Alaghehbandan R, Comperat EM, Perez Montiel MD, Bulimbasic S, Henrique RM, Vanecek T, Pivovarcikova K, Michalova K, Saskova B, Michal M, Hes O. Primary Adenocarcinoma of the Urinary Bladder: Next-Generation Sequencing

(NGS) of Non-urachal Enteric-type Adenocarcinomas, Urachal Adenocarcinomas, Mucinous Adenocarcinomas, and Colonic Metaplasias/Adenomas. *(accepted for presentation)*