

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská Fakulta v Plzni

Šiklův Ústav Patologie



Molekulárně genetické profilování nádorů urogenitálního traktu

Petr Martínek

Doktorská dizertační práce

Plzeň 2015

Obor: Patologie

Školitel: prof. MUDr. Ondřej Hes, Ph.D.

Abstrakt

Dizertační práce je komentovaným souborem jedenácti článků publikovaných v impaktovaných časopisech vztahujících se k tématu molekulárně genetického profilování nádorů urogenitálního traktu. V úvodu je rozebírána historie vzniku a vývoje klasifikačních jednotek a stručný přehled aktuálních molekulárně genetických profilů vybraných typů nádorů ledvin. Jsou popsány hlavní signální dráhy využívané v cílené léčbě renálních karcinomů a princip účinku korespondujících preparátů. Dále jsou zmíněny směry, kterými se ubírá dnešní výzkum nových biomarkerů, a úvod je zakončen stručným přehledem molekulárně-genetických metod používaných v klasifikaci renálních karcinomů. Ve výsledcích jsou shrnuty hlavní morfologické, imunohistochemické a molekulárně-genetické nálezy studovaných skupin renálních karcinomů. Výsledky jsou porovnány se stávajícími charakteristikami známých nádorových jednotek a z případných nalezených nesrovnalostí jsou vyvozeny závěry o možných nových entitách nebo příbuznosti zkoumaných nádorů. V závěru jsou zhodnoceny vhodnost a omezení použitých molekulárně-genetických metod v kontextu úskalí, která sebou přináší zkoumaný materiál a záměry popisovaných studií.

Abstract

The Ph.D. thesis is a collection of eleven commented articles on the topic of molecular-genetic profiling of urogenital tract tumors published in impact factor journals. In the introduction the origin and development of classification units is described including a brief overview of recent genetic profiles of selected types of renal carcinomas. Reviewed are major signaling pathways exploited in targeted therapy as well as the function of the corresponding drugs. Directions in which the research of new biomarkers is aimed are mentioned and the introduction ends with a short list of molecular genetic methods used in classification of renal carcinomas. In the results section are summarized the most important morphological, immunohistochemical, and molecular genetic findings of the studied sets of renal carcinomas. The data are compared with the present characteristics of known entities and hypotheses of possible new entities or relations between them are inferred. In the conclusions the suitability and limitations of the used molecular genetic methods are discussed in the context of the difficulties of the material analyzed and the designs of the studies.

Předmluva

Doktorská dizertační práce je souhrnem komentovaných prací, na kterých se autor podílel. Práce je psána z pohledu molekulární genetiky, protože to je část, kterou autor přispíval k těmto komplexním pracím. V žádném případě autor nechce upozadovat ostatní disciplíny, avšak ani si nechce přivlastňovat myšlenky a zásluhy spoluautorů. Následují shrnutí výsledků jedenácti otištěných prací, které jsou přiloženy. V závěru jsou vypsány autorovy komentáře k prováděným analýzám a problémům, na které narazil během těchto projektů.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi UK LF Plzeň.

V Plzni, 4. května 2015

Petr Martínek

Poděkování

prof. MUDr. Ondřeji Hesovi, Ph.D. - svému školiteli, za odborné vedení, za možnost podílet se na mezinárodních vědeckých projektech, za cenné zkušenosti a svatou trpělivost, se kterou mě vedl během mého doktorského studia

RNDr. Tomáši Vaněčkovi Ph.D. – za odbornou spolupráci a cenné rady při zpracovávání vědeckých úkolů

Celému kolektivu Šiklova patologického ústavu a Bioptické laboratoře za spolupráci, pomoc a přátelské prostředí

Mé rodině za morální podporu a toleranci, které jsem se těšil po celou dobu studia

Obsah

1	Úvod	7
1.1	Epidemiologie nádorů ledvin	7
1.2	Vývoj klasifikace nádorů ledvin	7
1.3	Biomarkery renálních karcinomů	8
1.3.1	Přehled genetických profilů vybraných typů RK	8
1.4	Léčba renálních karcinomů	8
1.4.1	Signální dráha VEGF	9
1.4.2	Signální dráha MTOR	10
1.5	Možnosti objevu nových biomarkerů	10
1.6	Zhoubné nádory varlat	10
1.7	Typy materiálů zkoumané u RK	11
1.8	Přehled použitých molekulárně genetických metod	11
1.8.1	Fluorescenční in-situ hybridizace (FISH)	11
1.8.2	Izolace DNA a RNA	12
1.8.3	Komparativní genomová hybridizace na čipu (arrayCGH, aCGH)	12
1.8.4	Analýza ztráty heterozygotnosti (loss of heterozygosity - LOH)	12
1.8.5	Analýza klonality pomocí lidského androgenu AR (HUMARA)	12
1.8.6	Metylačně specifická PCR	12
1.8.7	Expresní analýza mRNA pomocí Real-time PCR	12
1.8.8	Sekvenování	13
2	Cíle prací:	14
3	Výsledky	15
3.1	Genetic testing of leiomyoma tissue in women younger than 30 years old might provide an effective screening approach for the hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer syndrome (HLRCC)	15
3.2	Molecular-genetic analysis is essential for accurate classification of renal carcinoma resembling Xp11.2 translocation carcinoma	15
3.3	Aggressive and nonaggressive translocation t(6;11) renal cell carcinoma: comparative study of 6 cases and review of the literature	16
3.4	Foamy cell (hibernoma-like) change is a rare histopathological feature in renal cell carcinoma	17

3.5	The leiomyomatous stroma in renal cell carcinomas is polyclonal and not part of the neoplastic process	17
3.6	Distinctive renal cell tumor simulating atrophic kidney with 2 types of microcalcifications. Report of 3 cases	18
3.7	Choriogonadotropin positive seminoma - a clinicopathological and molecular genetic study of 15 cases	19
3.8	Chromophobe renal cell carcinoma - chromosomal aberration variability and its relation to Paner grading system: an array CGH and FISH analysis of 37 cases.....	19
3.9	Renal cell carcinoma with areas mimicking renal angiomyoadenomatous tumor/clear cell papillary renal cell carcinoma	20
3.10	Tubulocystic renal cell carcinoma: is there a rational reason for targeted therapy using angiogenic inhibition?.....	20
3.11	Biphasic alveolosquamoid renal carcinoma: a histomorphological, immunohistochemical, molecular genetic, and ultrastructural study of a distinctive morphologic variant of renal cell carcinoma	21
4	Závěr.....	23
5	Seznam použité literatury	25
6	Publikace autora, které jsou podkladem dizertace.....	32
6.1	Prezentace na vědeckých konferencích	34
7	Publikace bez vztahu k tématu dizertační práce.....	35
8	Příloha: publikované práce	36

Seznam použitých zkratek

Zkratky názvů genů dle HGNC jsou v textu psány kurzívou a nejsou zahrnuty do seznamu zkratek. Stejně tak nejsou zahrnuty názvy imunohistochemických protilátek, kde název detekovaného proteinu je shodný s odpovídajícím genem.

aCGH	komparativní genomová hybridizace na čipu
AE1/AE3	směs imunohistochemických protilátek detekující cytokeratiny
CA-IX	imunohistochemická protilátka detekující anhydrázu kyseliny uhličitě <i>CA9</i>
CAM5.2	imunohistochemická protilátka detekující cytokeratin <i>KRT8</i>
CD10	imunohistochemická protilátka detekující metaloendopeptidázu <i>MME</i>
CK20	imunohistochemická protilátka detekující cytokeratin <i>KRT20</i>
CK5/6	imunohistochemická protilátka detekující cytokeratiny <i>KRT5</i> a <i>KRT6</i>
CK7	imunohistochemická protilátka detekující protein cytokeratinu <i>KRT7</i>
CpG	místo v DNA, kde sousedí cytosin a guanin v lineární sekvenci
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová, příměs pufrů pro uchování DNA
FFPE	formalínem fixovaná v parafinu zalitá tkáň
HGNC	výbor názvosloví genů HUGO
HLRCC	syndrom hereditární leiomyomatózy a renálního karcinomu
HMB-45	imunohistochemická protilátka detekující antigen <i>PMEL</i>
HSK	hladkosvalová stromální komponenta
HUGO	organizace pro výzkum lidského genomu
HUMARA	dřívější název receptoru lidského androgenu <i>AR</i>
ChRK	chromofobní renální karcinom
ISUP	Mezinárodní Společnost Urogenitální Patologie
Melan-A	imunohistochemická protilátka detekující produkt genu <i>MLANA</i>
MIB-1/Ki-67	imunohistochemická protilátka detekující dva epitopy genu <i>MKI67</i>
MiT family	skupina transkripčních faktorů zahrnující geny <i>TFEB</i> , <i>TFEC</i> a <i>TFE3</i>
PRK	papilární renální karcinom
RK	renální karcinom
SRK	světlobuněčný renální karcinom
STR	krátké repetitivní sekvence
TCRK	tubulocystický renální karcinom
TNM	systém klasifikace solidních nádorů
WHO	světová zdravotnická organizace

1 Úvod

1.1 Epidemiologie nádorů ledvin

Nádory ledvin jsou rozsáhlou, vysoce heterogenní skupinou nádorů, která představuje 2,9 procenta malignit na světě s incidencí 213 924 případů ročně. V roce 2012 byla incidence nádoru ledvin 6,2 případu na 100 000 obyvatel ve vyspělých zemích, což představuje kumulativní celoživotní riziko 0,7%. Celosvětově je rakovina ledvin u mužů na devátém místě s 213 900 novými případy ročně (u žen je to zhruba polovina) (Torre et al. 2015). Ve státech evropské unie dosáhly incidence a úmrtnost svého vrcholu v letech 1990-1994 a v letech 2000-2004 se začaly snižovat. V České republice se tyto hodnoty stabilizovaly, přesto však zůstávají jedny z nejvyšších na světě (Levi et al. 2008).

1.2 Vývoj klasifikace nádorů ledvin

Převážná většina těchto nádorů vzniká z renálního parenchymu a jsou tedy nazývány renálními karcinomy (RK). Za posledních třicet let došlo díky vývoji v morfologii, imunohistochemii, cytogenetice a molekulární patologii k výraznému nárůstu počtu rozlišovaných nádorových jednotek. Základ klasifikace renálních karcinomů byl položen na mezinárodních konferencích v Heidelbergu v roce 1996 a Rochesteru v roce 1997 (Kovacs et al. 1997; Störkel et al. 1997). Dohodnutý konsensus z těchto setkání byl kodifikován do klasifikace Světové zdravotnické organizace z roku 2004 (Lopez-Beltran et al. 2006). Tento poslední oficiálně platný dokument ale dnes již nesplňuje požadavky běžné diagnostické praxe a vyžaduje revizi. V březnu 2012 byla uspořádána konference Mezinárodní Společnosti Urogenitální Patologie (ISUP) ve Vancouveru. Výsledkem byla série článků zabývajících se klasifikací, určováním stupňů, diagnostickými a prognostickými markery nádorů ledvin otištěných v *American Journal of Surgical Pathology* v průběhu roku 2013, které vznikly na základě diskuze a konsensu autorů. Nově bylo zařazeno celkem pět jednotek: tubulocystický renální karcinom, renální karcinom spojený se získanou cystickou nemocí ledvin, světllobuněčný (tubulo-) papilární renální karcinom, translokační karcinomy řazené do MiT rodiny a renální karcinom spojený s hereditární leiomyomatózou (HLRCC). Další tři skupiny nádorů byly zařazeny do kategorie provizorních/vznikajících jednotek: renální karcinom napodobující štítnou žlázu, renální karcinom spojený s defektem sukcinát dehydrogenázy B a renální karcinomy spojené s translokací genu *ALK*. V říjnu 2013 byla vydána nová doporučená klasifikace renálních nádorů pod názvem ISUP vancouverská klasifikace (Srigley et al. 2013). Tato nomenklatura bude základem nové klasifikace WHO. Jak je zřejmé z nově zařazených jednotek, charakterizace lézí na molekulárně genetické úrovni je stále významnější a u některých skupin přímo určující pro jejich zařazení.

1.3 Biomarkery renálních karcinomů

Přesné zjištění rizika relapsu po parciální nebo radikální nefrektomii je klíčové téma pro pacienty i kliniky. Umožnilo by personalizovat schéma monitorování a pokračování léčby včetně určení poměru rizik a přínosů biologické léčby. Stávající systémy skórování na základě klinicko-patologických kritérií sice poměrně odpovídají na úrovni populací, ale pro jednotlivce, zejména ty s vyšším rizikem jsou velmi nepřesné (Eisengart et al. 2012). Histologické, klinické a imunohistochemické vlastnosti nádorů ale v praxi poměrně dobře slouží k diferenciální diagnostice většiny rozlišovaných jednotek. S rozvojem poznání o genetickém podkladu kancerogeneze a sekvenačních technologií je očekáváno, že studie na genetické, epigenetické a transkriptomové úrovni budou společně schopny identifikovat celé spektrum klíčových spouštěcích mutací napříč všemi druhy nádorů včetně renálních karcinomů (Vasudev et al. 2012).

1.3.1 Přehled genetických profilů vybraných typů RK

Nejčastějším histologickým typem je světlobuněčný RK (70-80% případů). Více než 90% sporadických SRK zahrnuje zásah do genu *VHL* což prakticky definuje tuto skupinu (Young et al. 2009). Jako další geny spojené se SRK byly nedávno navrženy geny *PBRM1*, *BAP1* a *TCEB1* (Varela et al. 2011; Dalgliesh et al. 2010; Sato et al. 2013). Další geneticky definované nádorové jednotky je například translokační karcinomy zařazené do skupiny s mikrofalmií asociovaným transkripčním faktory (MiT family translocation RCC). Patří sem translokace spojené s genem *TFE3* (s fúzními partnery *ASPL*, *PRCC*, *NONO*, *PSF* a *CLTC*), podle cytogenetické lokalizace nazývané Xp11 translokační karcinomy (Argani et al. 2002). K nim přibyla skupina t(6;11)(p21;q12) translokačních RK zahrnující gen *TFEB* ve fúzi s netranslatovaným genem *MALAT1* v literatuře běžně pod jménem Alpha (Argani et al. 2001). Od papilárních RK se oddělil syndrom dědičné leiomyomatózy a karcinomu ledvin (HLRCC) vázaný na germinální mutace genu *FH* (Toro et al. 2003). K dalším minoritním skupinám patří RK spojené s mutacemi genů *SDHB* a translokací *ALK*, kde bylo popsáno pouze několik případů (Gill et al. 2011; Debelenko et al. 2011). Tubulocystické RK jsou definovány na základě morfologie a imunohistochemického profilu a chromozomálních ztrát. Některé z těchto vlastností se částečně překrývají se SRK, což naznačuje možný vztah mezi těmito jednotkami (Zhou et al. 2009). Také chromofobní, papilární a některé další jednotky RK vykazují charakteristický profil početních chromozomálních změn, který lze použít v jejich diferenciální diagnostice (Kovacs 1989; Amin et al. 2008).

1.4 Léčba renálních karcinomů

Chirurgická resekce vyléčí část pacientů s lokalizovaným renálním karcinomem, ale u 20-30% případů se nemoc znovu objeví nebo dojde k metastázi (Janzen et al. 2003). Pětiletá prognóza přežití pro pacienty je závislá zejména na stadiu RK. U nádoru lokalizovaného v ledvinách se pohybuje mezi 71-97%, u lokálně pokročilého nádoru klesá na 20-53% a pokud nádor metastazoval, je nižší než 10% (Eggerer 2006). Rozvinuté RK jsou bohužel většinou rezistentní k chemoterapii a radioterapii. Dříve používané

nespecifické imunoterapie jako je interleukin-2 a interferon přinášely u pacientů pouze vzácné, i když dlouhotrvající léčebné odpovědi. Dnes se od těchto postupů upouští zejména pro omezené účinky a vysokou toxicitu. Zlepšené porozumění podstaty dějů, které způsobují a podporují rozvoj renálních malignit, umožnilo vývoj cílené biologické léčby. Byla vyvinuta léčiva cílená na specifické kontrolní body v signálních drahách, které bývají narušeny během karcinogeneze. V posledních letech byla schválena řada preparátů pro první a druhou linii cílené léčby. (sunitinib, sorafenib, temsirolimus, everolimus, bevacizumab, pazopanib, axitinib (Escudier et al. 2014). Další léky (např.: tivozanib) jsou v různých stádiích klinického testování (Zarin et al. 2011). Nová klinická data umožnila výběr biomarkerů, které mají za cíl zpřesnit selekci pacientů pro personalizovanou léčbu a maximalizovat tak prospěšnost této léčby. Největších pokroků bylo dosaženo u světlobuněčného renálního karcinomu (SRK), díky jeho dobře definované biologické podstatě patogeneze (primárně inaktivace tumor supresorového genu *VHL* (Tazi et al. 2011; Dutcher et al. 2009). Pozornost se zaměřuje také na zdokonalení dlouhodobé léčby a zvýšení doby přežití díky optimálnímu využití těchto léčiv při terapii. Jeden z přístupů jak prodloužit dlouhodobý benefit je sekvenční nasazení různých inhibitorů např. po sobě jdoucí nasazení inhibitoru MTOR po tyrozin kinázovém inhibitoru (Motzer et al. 2010). Porozumění mechanismům resistance je nezbytné pro překonání limitů efektivity a zlepšení dlouhodobých výsledků léčby. Nově vyvíjené léky se zaměřují zejména na dvě dráhy podporující růst nádorů a to jsou vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) a mechanistický cíl rapamicinu (MTOR).

1.4.1 Signální dráha VEGF

Von Hippel Lindau (*VHL*) je tumor supresorový gen jehož germinální mutace způsobují stejnojmenný autozomálně dominantní syndrom. Klinické projevy zahrnují hemangioblastomy v centrálním nervovém systému, angiomy retiny, a solidní nádory včetně světlobuněčného renálního karcinomu. U syndromu VHL druhý zásah způsobí vyřazení obou kopií genu z funkce a dochází ke vzniku tumoru. Jedním ze zásahů u sporadických SRK je často buď delece krátkého raménka chromozomu 3 (3p) nebo hypermetylace promotoru *VHL* (Herman et al. 1994; Shuin et al. 1994). Protein VHL je součástí komplexu ubikvitin ligázy, který cílí na hypoxií indukovaný faktor (HIF) aby ho za přítomnosti kyslíku degradoval (Kaelin 2002). Za hypoxie nebo nepřítomnosti proteinu VHL, HIF nedegraduje a putuje do jádra, kde spouští transkripci genů, které by měly nastolit normoxii. Z těchto indukovaných proteinů je z hlediska karcinogeneze nejdůležitější VEGF. Tento signální protein se váže na transmembránové receptory s protein kinázovou aktivitou, které aktivují buněčné dráhy podporující angiogenezi (Breen 2007). Pro cílenou léčbu byly vyvinuty dva způsoby inhibice této dráhy. První používá nízkomolekulární inhibitory tyrozinových kináz které blokují protein kinázovou aktivitu VEGF receptoru (např.: sunitinib, sorafenib). Druhým způsobem je použití monoklonální protilátky, která se váže na cirkulující VEGF a zabraňuje tak jeho vazbě na receptor (např.: bevacizumab) (Ferrara et al. 2004).

1.4.2 Signální dráha MTOR

Rapamycin je imunosuprimující léčivo objevené izolací z bakterií. Skríníngem rezistentních mutací byl zjištěn funkční cíl této látky u kvasinek a následně u savců (Brown et al. 1994). Mechanistický (dříve mammalian) cíl rapamycinu je intracelulární serin treoninová kináza, která reguluje zásadní buněčné procesy zejména růst a proliferaci. Poruchy regulace MTOR jsou jedny z nejčastěji pozorovaných patologických změn v lidských nádorových onemocněních (Sabatini 2006). Cílená léčba zaměřená na jednoty zapojené v této dráze je proto považována za potenciálně velmi účinnou protirakovinnou terapii. Protein MTOR funguje jako katalytická podjednotka dvou protein kinázových komplexů mTORC1 a mTORC2. Následuje v signální kaskádě PI3K/AKT (fosfoinositol-3-kinázy / serin treoninová kináza AKT1) regulované tumor supresorovým genem *PTEN* (Engelman et al. 2006). Pokud je MTOR aktivovaný, fosforyluje transkripční faktory a tím indukuje transkripci genů kódujících buněčnou proliferaci, mezi jinými i mRNA *HIF*. Rapamycin a jeho analogy temsirolimus a everolimus byly schváleny jako léčiva různých typů rakovin včetně RK (Wander et al. 2011).

1.5 Možnosti objevu nových biomarkerů

K tomu aby bylo možné spolehlivě určit kauzální „driver“ mutace, které spouštějí vznik těchto nádorů od mnoha vedlejších „passenger“ mutací je potřeba provést velké studie řádově stovek případů zahrnující analýzu na úrovni celého genomu. Je nutné systematicky zařadit tisíce somatických mutací a validovat jejich vliv na fenotyp. Vývoj nádoru je stupňovitý proces, který zahrnuje také epigenetické procesy. Metylace CpG ostrovů v DNA je jedním z nejlépe prozkoumaných epigenetických mechanismů, kterým nádorové buňky ovlivňují genovou expresi. U mnoha nádorů byla nalezena inaktivace tumor supresorových genů pomocí aberantní hypermetylace jejich promotorů (Jones a Baylin 2002). Charakterizace nádorů pomocí expresních mikročipů je slibný nástroj použitelný ke klasifikaci nádorů do podskupin i k získání prognostických informací, jelikož postihují jak genetické tak epigenetické změny (Sanford et al. 2011). Jako nový a potenciálně významný zdroj biomarkerů se jeví mikroRNA (Redova et al. 2011). Jedná se o jednořetězcové nekódující RNA, které regulují genovou expresi na post-translační úrovni. Nicméně vzhledem k tomu jak vzácné a velmi heterogenní jsou mnohé jednotky renálních karcinomů, u mnoha z nich dosud nebyly identifikovány zásadní vlastnosti jejich biologie. V literatuře je sice popsáno mnoho kandidátních biomarkerů, ale jejich korelace s jednotlivými typy RK představuje velikou překážku jejich využití v klinické praxi (Poste 2011).

1.6 Zhoubné nádory varlat

Nádory pocházející ze zárodečných buněk varlat představují 98% všech nádorů varlat. Dělí se na klasické seminomy, neseminomy a spermatocytické seminomy. Jsou nejčastější malignitou u mužů ve věku 15-34 let. Pokud jsou nádory včas diagnostikovány jejich pětiletá prognóza přežití se blíží ke stu procent. (McGlynn et al. 2003) Mezi markery

metastatických seminomů patří zejména zvýšená hladina beta podjednotky lidského choriového gonadotropinu (hCG) (Ruf et al. 2013).

1.7 Typy materiálů zkoumané u RK

Nejčastěji vyšetřovaným materiálem v rutinní diagnostice i klinickém výzkumu je bezpochyby tkáň z formalinem fixovaných biopsií zalitých do parafinových bločků (FFPE). Je známo, že fixativa na bázi alkoholu uchovávají biomolekuly mnohem lépe než činidla vytvářející kroslinky, jako je například formaldehyd (Kuykendall a Bogdanffy 1992). Formaldehydová fixace ale zaručuje lepší zachování morfologie, která je nutná pro rutinní histologickou diagnostiku. Formalín sice také vnáší do vzorků artefakty, ale patologové jsou s nimi dobře obeznámeni a převažující část histologické literatury je napsána o formaldehydem fixovaných tkáních. Nicméně stále přibývá množství nových molekulárně biologických testů, které je třeba provádět na takto fixovaných tkáních. Většina z nich je založena na PCR nebo hybridizaci, což vede k problémům u degradované DNA, která často obsahuje pouze fragmenty kratší než zhruba 300 párů bází. Nejdůležitější faktory ovlivňující kvalitu fixované DNA je doba fixace a kvalita fixativa. Formaldehyd je oxidován na kyselinu mravenčí, která způsobuje depurinaci DNA a její zlomy (Bonin et al. 2003). U PCR metod určených pro FFPE vzorky bývá zohledněna maximální velikost ampliconů, přesto ale DNA z FFPE představuje problém pro robustní a spolehlivou PCR amplifikaci (Dietrich et al. 2013). Proto například pro expresní genovou analýzu je možné použít pouze zmraženou tkáň.

V poslední době nastal velký zájem o využití cirkulujících nádorových buněk jako potenciálních biomarkerů pro predikci, léčbu i samotné studium metastatických procesů. Metody obohacení vzorků o tyto buňky a jejich vlastnosti u renálních karcinomů jsou zatím stále ještě ve fázi základního výzkumu (El-Heliebi et al. 2013).

1.8 Přehled použitých molekulárně genetických metod

1.8.1 Fluorescenční in-situ hybridizace (FISH)

Fluorescenčně značená DNA sonda se hybridizuje přímo na histologický řez a následně se pod mikroskopem odečítají počty signálů reprezentující jednotlivé výskyty studovaných oblastí DNA v jádrech buněk (Parra a Windle 1993). FISH se používá zejména pro detekci početních chromozomálních změn (například u papilárního renálního karcinomu), ale i pro detekci amplifikací nebo delecí jednotlivých lokusů na chromozomech s rozlišením v řádech megabází. Použitím více sond různých barev lze také studovat zlomy a fúze chromozomů u translokačních renálních karcinomů. Jelikož se jedná o in-situ analýzu jednotlivých jader, u solidních nádorů lze analyzovat heterogenní vzorky, aniž by nenádorová příměs snižovala senzitivitu analýzy. Materiál se neamplifikuje pomocí PCR, takže tato metoda je poměrně dobře aplikovatelná i na FFPE vzorky s degradovanou DNA. Nevýhodou je malé množství oblastí, které lze studovat najednou, což představuje problém

u vzorků s nedostatkem materiálu. Jakožto jedna z mála molekulárně-cytogenetických metod ale poskytuje cennou konfirmaci ostatních metod založených na izolované DNA.

1.8.2 Izolace DNA a RNA

Jako první krok, který ovlivňuje všechny následující analýzy je izolační metoda kritickým bodem analýzy. Musí být velmi robustní, reprodukovatelná a produkovat nukleové kyseliny v co nejvyšší kvalitě a množství. V předkládaných pracích byly použity různé komerční kity využívající separaci na kolonkách anebo pomocí magnetických kuliček. Koncentrace byla zjišťována pomocí UV spektrometru a kvalita byla kontrolována pomocí multiplexové PCR.

1.8.3 Komparativní genomová hybridizace na čipu (arrayCGH, aCGH)

Byla vyvinuta jako zdokonalení in-situ CGH nahrazením metafázních chromozomů čipem posetým mnoha DNA sondami (Solinas-Toldo et al. 1997). Dnes existuje v mnoha modifikacích, ale primárně slouží k detekci změn počtu kopií na mnoha úsecích genomu současně. Oproti FISH umožňuje zhodnocení komplexních chromozomálních přestaveb (například u chromofobních RK), a v závislosti na rozlišení použitého čipu i s větší přesností. Naopak nevýhodou této metody je vyšší náročnost na kvalitu testované DNA.

1.8.4 Analýza ztráty heterozygotnosti (loss of heterozygosity - LOH)

Tato metoda využívá variability krátkých repetitivních sekvencí (STR) v genomu k detekci ztráty jedné alely daného lokusu. Tento jev je častou příčinou druhého zásahu inaktivace tumor supresorového genu v karcinogenezi (Thiagalilingam et al. 2001). Díky hojnému výskytu STR markerů v lidském genomu lze tuto analýzu zacílit na téměř jakoukoliv část genomu v řádu jednotek až desítek megabází. Pro svou individuální povahu lze test provádět pouze porovnáním s normální kontrolní tkání stejného pacienta a je třeba požívat více těchto markerů.

1.8.5 Analýza klonality pomocí lidského androgenu AR (HUMARA)

Klasická metoda dříve používaná ke studiu inaktivace X chromozomu je schopna detekovat klonalitu subpopulace buněk u ženských pacientů. Využívá metylační status polymorfni repetic v blízkosti genu *AR*, a pro svou jednoduchost je dobře aplikovatelná na degradované, ale homogenní vzorky (Allen et al. 1992).

1.8.6 Metylačně specifická PCR

Metoda využívající bisulfidické konverze DNA, specificky měnící sekvenci v závislosti na metylačním statutu. Pomocí metylačně specifických primerů lze výsledek detekovat přímo pomocí agarózové elektroforézy (Fraga a Esteller 2002).

1.8.7 Expresní analýza mRNA pomocí Real-time PCR

Pomocí hybridizace fluorescenční próby na nově vznikající PCR amplicon a její okamžitou detekci lze určovat poměrné zastoupení RNA transkriptu ve vzorku (po jeho

reverzní transkripci). Zhoršená kvalita vstupního materiálu může velmi ovlivňovat výsledek (Sánchez-Navarro et al. 2010).

1.8.8 Sekvenování

Od objevů pánů Maxama, Gilberta a Sangera je sekvenování hybnou silou ve vývoji genetiky, nyní zažívající obrovský boom ve své masivně paralelní druhé generaci. Klasická kapilární elektroforézou detekovaná sekvence umožňuje zjišťovat genetické změny na úrovni jednotlivých nukleotidů s citlivostí okolo dvaceti pěti procent mutované alely (Jancik et al. 2012). Používá se nejčastěji pro mutační analýzu jednotlivých genů, amplifikovaných pomocí PCR. U druhé generace sekvenování omezení kapacitou přístrojů postupně odpadají a hlavní bariérou čtení celého genomu zůstávají často jen kvalita vzorku a velká finanční náročnost.

2 Cíle prací:

1. Zjistit incidenci mutací genu FH u skupiny pacientek s děložními leiomyomy a korelovat s morfologickými a imunohistochemickými znaky syndromu HLRCC.
2. Molekulárně geneticky vyšetřit a klasifikovat skupinu lézí vykazujících morfologické znaky Xp11 translokačních RK a korelovat tyto výsledky s imunohistochemií.
3. Porovnat vlastnosti skupiny t(6,11) Alpha-TFEB translokačních karcinomů mezi agresivním a neagresivními případy
4. Diferenciálně diagnosticky potvrdit nebo vyloučit příslušnost skupiny morfologicky nezvyklých RK k jednotce lézí s mutovanou sukcinát dehydrogenázou
5. Určit zda leiomyomatózní stroma je součástí neoplastického procesu RK
6. Molekulárně-geneticky charakterizovat nádor ledvin připomínající atrofickou ledvinu
7. Změřit expresi hCG mRNA u klasických seminomů neobsahujících syncytiotrofoblastické buňky
8. Charakterizovat početní chromozomální změny u velké skupiny chromofobních renálních karcinomů a porovnat jejich variabilitu se systémem stupňování podle Panera
9. Geneticky diferenciálně diagnostikovat skupinu nádorů obsahující oblasti mikroskopicky definované jako angiomyoadenomatózní/světlobuněčný renální karcinom od světlobuněčného a papilárního renálního karcinomu
10. Zjistit zda je zvýšená exprese mRNA v nějaké ze tří vybraných angiogenních signálních drah u skupiny tubulocystických renálních karcinomů
11. Molekulárně geneticky charakterizovat dvě dosud nepopsané renální léze s dvojitou populací buněk

3 Výsledky

Výsledky dizertační práce jsou obsaženy v následujících deseti publikovaných článcích (a jednom přijatém do tisku), týkajících se tématu práce - „Molekulárně genetické profilování nádorů urogenitálního traktu“, na kterých se autor podílel.

3.1 Genetic testing of leiomyoma tissue in women younger than 30 years old might provide an effective screening approach for the hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer syndrome (HLRCC)

V této práci je zkoumána použitelnost specifické strategie cíleného skríningu ženských pacientů pro identifikaci syndromu dědičné leiomyomatózy a karcinomu ledvin (HLRCC). Pacienti jsou nosiči zárodečné heterozygotní mutace v genu fumarát hydrogenázy (*FH*). U některých z nich se v průběhu života vyskytne agresivní nádor ledvin. U žen toto předchází nálezy symptomatických děložních leiomyomů. Tato studie byla zaměřena na ženy ve věku do třiceti let, u kterých byl operován leiomyom. Archivované FFPE bločky byly analyzovány na přítomnost mutace genu *FH* v kódující sekvenci. Byly nalezeny dvě pacientky s potvrzenými zárodečnými mutacemi c.1433_1434dupAAA, p.(Lys477dup); a c.953A>T, p.(His318Leu), které byly následně zařazeny do programu pravidelných ultrazvukových kontrol. Přítomnost mnohočetných leiomyomů statisticky významně korelovala s výskytem mutace genu *FH*. Imunohistochemický vzor současné negativity u antigenu FH a pozitivita u S-(2-sukcino) cysteinu koreloval s genetickými výsledky naší studie pouze v jednom případě. Histomorfologické znaky, mezi které patří zvětšená jádérka v jádrech buněk leiomyomů, jejich vláknitá cytoplazma, přítomnost eosinofilních globulů a paroží připomínající cévy se neukázaly jako specifické pro HLRCC asociované leiomyomy a plně korelovaly s imunohistochemickými a genetickými výsledky pouze v jednom případě. Molekulárně genetické testování zůstává jedinou spolehlivou metodou diagnózy HLRCC. Senzitivitu a specifitu přítomnosti mnohočetných leiomyomů u žen s mutací genu *FH* je třeba ověřit ve větší studii. Aplikovaný cílený skrínigový protokol se ukázal jako úspěšný, byly identifikovány dvě pacientky ze čtrnácti testovaných.

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

Na renální karcinomy spojené s Xp11.2 translokací (TRK) se usuzuje v případě, pokud se jedná o karcinom u mladých pacientů, pacientů, kteří podstoupili chemoterapii a pokud karcinom vykazuje znaky odpovídající této entitě. Z archivu ŠÚP (čítajícího 17500 vzorků) bylo vybráno 20 případů vykazujících morfologické znaky ukazující na TRK. U devíti případů byl prokázán zlom genu *TFE3* pomocí FISH. U devíti ze zbylých jedenácti případů (7 mužů a 4 ženy ve věku 22-84 let) byl k dispozici materiál vhodný pro další testování. Morfologické spektrum bylo rozmanité, šest nádorů vykazovalo směs buněk s eosinofilní nebo světlou cytoplasmou a s tubulární, acinární nebo papilární architekturou. Jeden případ vysokého stupně malignity se vyznačoval oblastmi s epiteliální vřetenobuněčnou a sarkomatoidní strukturou. Další vykazoval tubulární, solidní a papilární

oblasti s jádry vřetenobuněčné struktury připomínající mucinózní tubulární a vřetenobuněčný karcinom. Poslední případ obsahoval nesourodá hnízda velkých epitelioidních a histiocytózních buněk na pozadí hustého lymfoplazmatického infiltrátu. Imunohistochemické barvení keratiny AE1/AE3 bylo difúzně pozitivní ve třech případech, protilátka CK7 silně barvila jeden nádor a další slabě a ohniskově. Protilátky CD10 a Pax8 byly exprimovány u osmi případů, AMACR a vimentin u sedmi, CA-IX u čtyřech a TFE3 a katepsin K u dvou případů. U jednoho ze dvou TFE3 pozitivních nádorů byla prokázána polyzomie chromozomu 7 a u druhého polyzomie chromozomu 17. Genetická analýza oblasti genu *VHL* byla u obou nádorů negativní a oba případy byly uzavřeny jako neklasifikovatelné. U tří ze sedmi nádorů negativních na zlom genu *TFE3* byla detekována polyzomie chromozomů 7 nebo 17 zároveň s mutací v genu *VHL* a byly diagnostikovány jako smíšené SRK/PRK. U jednoho případu negativního na zlom genu *TFE3* a polyzomii chromozomů 7 a 17 byla detekována ztráta heterozygotnosti v chromozomální oblasti 3p (lokus genu *VHL*) a tento byl zařazen jako světlobuněčný renální karcinom (SRK). Další *TFE3* negativní případ s polyzomiemi chromozomů 7 a 17, ale bez detekovatelné aberace genu *VHL* byl klasifikován jako papilární renální karcinom. Zbývající dva případy, u kterých nebyla detekována aberace u chromozomů 7 a 17, ani u genu *VHL* byly uzavřeny jako neklasifikovatelné. Protože morfologické a imunohistochemické znaky translokačních renálních karcinomů jsou velmi rozmanité, pro přesné třídění do podjednotek této skupiny je nutná molekulárně-genetická analýza zaměřená na více parametrů.

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

Renální karcinom spojený s translokací t(6;11) (TRK) se popisuje jako vzácný a většinou neagresivní nádor. Kritéria rozlišující agresivní a neagresivní nádory nejsou velmi dobře ustanovená. Do studie bylo zařazeno celkem šest nádorů. Pět z nich se chovalo neagresivně a jeden byl agresivního chování. Nádory byly analyzovány morfologicky, imunohistochemicky a molekulárně-geneticky. Vzorek agresivního t(6;11) translokačního karcinomu pocházel od ženy ve věku 77 let, která zemřela dva a půl měsíce po stanovení diagnózy. Vzorky neagresivních t(6;11) TRK pocházely od tří žen a dvou mužů v rozmezí 15 až 54 let věku. Sledování pacientů probíhalo u všech případů s délkou od dvou a půl měsíce až osmi let. Velikost nádorů se pohybovala mezi třemi až čtrnácti centimetry u neagresivních, agresivní případ měřil 12 centimetrů. Agresivní nádor byl z velké části nekrotický. Všechny nádory byly dobře ohraničené a vykazovaly solidní nebo alveolární strukturu s občasnými tubulami a pseudorozetami. V agresivním nádoru byly nalezeny ohniskově pseudopapilární útvary ohraničené bizarními polymorfními buňkami. Mitózy byly nalezeny pouze vzácně. Všechny případy byly pozitivní na barvení protilátkami HMB-45, Melan-A, Katepsin K a cytokeratiny. Protilátka CD117 byla pozitivní u čtyř z pěti neagresivních případů a u primárních a metastatických lézí agresivního případu. Barvení protilátkou MTOR bylo pozitivní u dvou z pěti a vimentinem u čtyř z pěti neagresivních případů. Vimentin byl negativní u primární léze a u metastáz nalezených v nadledvinkách. Translokace t(6;11)(Alpha-TFEB) nebo zlom genu TFEB byl detekován u

agresivního, a čtyř z pěti neagresivních případů. Agresivní případ vykazoval amplifikaci lokusu TFEB. Ztráty části chromozomu 1 a chromozomu 22 byly detekovány u agresivního a jednoho neagresivního případu. Závěr: Agresivní t(6;11) TRK se obecně vyskytují u pacientů vyššího věku ve srovnání s jejich neagresivní variantou. Podle histologických kritérií tři z pěti dosud publikovaných případů nebyly typické pro t(6;11) TRK. Dva z těchto tří případů postrádaly malobuněčnou součást a jeden připomínal světlobuněčný renální karcinom. Nekrózy byly nalezeny pouze u agresivních případů. Amplifikace lokusu TFEB byla nalezena pouze u námi publikovaného agresivního případu.

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

Popisujeme devět pacientů s renálním karcinomem (sedm mužů a dvě ženy, medián věku 64 let a rozsah věků 51- 79 let), který obsahoval významnou komponentu neoplastických epiteliálních buněk s výrazným vzhledem cytoplazmy s mikro vakuolami (připomínajícími hibernom). Velikosti nádorů se pohybovaly v rozsahu 1,5 - 8 cm (průměr 4,2 cm a medián 4,3 cm). Základní struktura nádorů byla u dvou případů solidně alveolární a u sedmi případů papilární. Jaderné skóre podle Fuhrmana bylo u všech případů tři. Pomocí imunohistochemie vykazovaly buňky s mikro vakuolami výrazné barvení adipophilinem a antimitochondriální protilátkou ve stejném cytoplazmatickém vzoru. Z pohledu ultrastrukturální charakteristiky byla cytoplazma neoplastických buněk plná zvětšených mitochondrií, většinou obsahujících vrstevnaté krysty. Mezi mitochondriemi byly rozptýlené početné mikrovezikuly. Mutační analýza genu *SDHB* byla negativní u všech případů. Na základě našich poznatků usuzujeme, že mechanismem vzniku tohoto fenoménu je abnormální mezibuněčné zpracování lipidů. U šesti pacientů, u kterých byla dostupná data o dalším sledování, nebylo pozorováno agresivní chování těchto nádorů.

3.5 The leiomyomatous stroma in renal cell carcinomas is polyclonal and not part of the neoplastic process

Některé renální epiteliální nádory jako je angiomyoadenomatózní RK a světlobuněčný papilární RK obsahují různě výrazné hladkosvalové stroma. Celkově jsme identifikovali 27 ledvinných karcinomů s výraznou hladkosvalovou stromální komponentou (HSK). Vzhledem k využití analýzy lokusu receptoru lidského androgenu (HUMARA) bylo možné dále zařadit jen ženy. Konečná sestava čítala 14 lézí: 4 angiomyoadenomatózní tumory/světlobuněčné papilární karcinomy, 5 konvenčních světlobuněčných karcinomů, 2 konvenční papilární karcinomy a 3 „ledvinné karcinomy s hojným hladkosvalovým stromatem“, u kterých jsme se zaměřili na klonalitu HSK. Pomocí HUMARA jsme zjistili polyklonální, „reaktivní“ původ HSK u všech vyšetřitelných (8/14) případů. Na základě morfologického charakteru předpokládáme, že non-neoplastická HSK pravděpodobně vychází z buněk hladké svaloviny žil z periferní kapsulární oblasti nádoru nebo z kolagenních sept uvnitř tumorů. HSK někdy tvoří podstatnou část renální nádorové

tkáně, kterou evidentně není možné ovlivnit cílenou léčbou. Lze tak částečně vysvětlit nerovnoměrnou odpověď některých tumorů na biologickou léčbu.

3.6 Distinctive renal cell tumor simulating atrophic kidney with 2 types of microcalcifications. Report of 3 cases

Popisujeme tři případy primárních renálních karcinomů napodobujících atrofické ledviny s charakteristickými morfologickými, imunohistochemickými a molekulárně-genetickými vlastnostmi. Vzorky byly vybrány ze sbírky více než sedmnácti tisíc renálních karcinomů plzeňského nádorového registru. Tkáně pro světelnou mikroskopii byly rutině zpracovány a barveny hematoxylinem a eosinem. Nádory byly dále analyzovány pomocí imunohistochemie, aCGH, mutační analýzy genu *VHL*, ztráty heterozygotnosti oblasti chromozomu 3p a analýzy klonality pomocí lokusu receptoru lidského androgenu. Pacienti byli dvě ženy a jeden muž, ve věkovém rozmezí 29 – 35 let. Makroskopicky byly nádory zapouzdřené a kulaté, průměr největšího byl 3,5 cm. Délka dalšího sledování pacientů byla v rozmezí dvou až čtrnácti let (osm let v průměru). Nebylo pozorováno agresivní chování nádorů. Histologicky byly nádory složeny z eosinofilních folikulů různých velikostí, které byly vyplněné eosinofilním sekretem, podobně jako je tomu u parenchymu příbuzných atrofických ledvin (po zánětu ledvin). Vzácně se vyskytovaly oblasti splasklých folikulů. Každý folikul byl zásoben malou vlasečnicí. Stroma bylo rozvolněné, nezřetelné a ohniskově vláknité. Byly pozorovány dva typy kalcifikací: typická tělíska - psamomy a amorfní tmavomodře barvená kalcifikační ložiska. Imunohistochemicky byly nádory silně pozitivní na barvení cytokeratiny (OSCAR), CD10 a vimentin. Slabě se barvily protilátky CAM5.2 a AE1-AE3. Protilátky WT1 a katepsin byly slabě až středně a ložiskově až difuzně pozitivní. Nádory byly negativní na barvení protilátkami cytokeratin 20, CA-IX, parvalbuminem, HMB45, TTF1, TFE3, chromograninem A, thyroglobulinem, PAX8 a ALK. Pouze DNA z případu 1 byla použitelná pro další genetické analýzy. Nebyla nalezena mutace genu *VHL*, ani hypermetylace promotoru genu *VHL* nebo ztráta heterozygotnosti lokusu 3p. Komparativní genomová hybridizace neukázala žádné chromozomální numerické aberace. Analýza klonality pomocí lidského androgen receptoru prokázala klonální původ nádoru. Představujeme neznámý typ nádoru ledvin, který má tyto vlastnosti:

- 1) připomíná atrofickou ledvinu nebo nodulární strumu štítné žlázy
- 2) obsahuje leiomyomatózní kapsule a dva druhy kalcifikací
- 3) chybí mu mitózy, atypické buňky, nekrózy, hemoragie a téměř nevykazuje Ki-67 pozitivitu
- 4) dosud bylo pozorováno benigní biologické chování nádoru

3.7 Choriogonadotropin positive seminoma - a clinicopathological and molecular genetic study of 15 cases

Přítomnost syncytiotrofoblastických buněk pozitivních na lidský choriový gonadotropin (hCG) u klasického seminomu (KS) je dobře zdokumentována. Klasický seminom se značnou hCG pozitivitou, který neobsahuje syncytiotrofoblastické buňky je naopak velmi vzácný. V této studii představujeme 15 takovýchto případů, vybraných ze 168 případů vedených v plzeňském nádorovém registru. Případy klasických seminomů s příměsí germinálních buněk a klasické seminomy obsahující syncytiotrofoblastické buňky byly vyloučeny. Pro další analýzy byly vybrány případy s úplně zapouzdřenou masou nádoru. Všechny 15 případů bylo imunohistochemicky barveno hCG protilátkou. Pozitivní případy byly dále testovány pomocí reverzní transkripce s následnou polymerázovou řetězovou reakcí. Byly identifikovány dvě skupiny hCG pozitivních klasických seminomů. První skupina obsahovala případy se značnou hCG pozitivitou, potvrzenou silnou expresí mRNA genu lidského choriového gonadotropinu (*CGB*). Tato skupina byla složena z deseti pacientů s průměrným věkem 37,7 let a průměrnou velikostí nádoru 4,96 cm. Osm případů bylo stupně pT1 a dva případy pT3 podle systému TNM 2009. Zvýšená hladina hCG v krvi před operací byla naměřena u šesti pacientů z deseti. U dvou případů nebyla hladina hCG v krvi testována. Druhá skupina sestávala z případů se silnou hCG pozitivitou omezenou na ojedinělé buňky roztroušené po celém nádoru. Byla detekována pouze slabá exprese *CGB* mRNA. Skupinu tvořilo pět pacientů s průměrným věkem 34 let a průměrnou velikostí nádoru 4,7 cm. Čtyři případy byly stupně pT1 a jeden pT2. Průměrná doba dalšího sledování byla 3,1 roku. Zvýšená hladina hCG v krvi před operací byla naměřena u jednoho pacienta. Z uvedených výsledků vyvozujeme, že exprese hCG u klasických seminomů není limitována na syncytiotrofoblastické buňky. V této studii popisujeme dva druhy imunohistochemické hCG positivity u klasických seminomů: difúzní barvení u většiny nádorových buněk a barvení ojedinělých buněk roztroušených po celém nádoru.

3.8 Chromophobe renal cell carcinoma - chromosomal aberration variability and its relation to Paner grading system: an array CGH and FISH analysis of 37 cases

Chromofobní renální karcinom (ChRK) je na genetické úrovni charakterizován mnohočetnými chromozomálními aberacemi, zejména ztrátami chromozomů. Ztráty nejčastěji zahrnují chromozomy číslo 1, 2, 6, 10, 13, 17 a 21. Systém stupňování karcinomů podle Fuhrmanové postrádá prognostický význam pro ChRK a také v poslední době byl Panerem navržen nový systém. Cílem této studie bylo zmapovat spektrum chromozomálních aberací u velké skupiny ChRK a vztáhnout tyto poznatky k systému stupňování navrženého Panerem. Byla vybrána skupina 37 případů ChRK a rozříděna do pěti skupin podle Panera: stupeň 1 – 3, agresivní a sarkomatoidní nádory. Jako agresivní nádory byly označeny všechny případy se známou metastatickou aktivitou, místním opětovným výskytem, agresivním prorůstáním do okolních orgánů nebo invazivním růstem do ledvinové jamky (nehledě na intravazaci). Sarkomatoidní nádory byly rozděleny na epiteliální a sarkomatoidní komponentu a molekulárně genetické analýzy na nich byly

prováděny odděleně. Komparativní genomová hybridizace na čipu nebo fluorescenční in-situ hybridizace byla provedena u 42 vzorků z 37 případů. Byly detekovány mnohočetné ztráty, ale i zisky chromozomů. Z celkového počtu 37 vyšetřených případů byly nejčastěji detekované ztráty chromozomu 1 (27x), 2 (26x), 6 (23x), 10 (26x), 13 (19x) a 17 (24x). Dále byla detekována ztráta chromozomu 21 ve dvanácti případech. Nejčastěji detekované zisky byly detekovány u chromozomů 4 (22/37), 7 (24/37), 15 (20/37), 19 (22/37) a 20 (21/37). Klastrová analýza ukázala, že neexistuje žádný signifikantní vztah mezi Panerovými stupni a vzorem chromozomálních změn u jednotlivých případů. Z uvedených poznatků jsme vytvořili následující závěry. Chromofobní renální karcinomy vykazují výrazně širší spektrum chromozomálních změn, než bylo dříve uznáváno. Kromě dříve popisovaných ztrát chromozomů bylo nalezeno i významné procento chromozomálních zisků. Tyto zisky se vyskytují u chromozomů 4, 7, 15, 19 a 20. Nebyl prokázán žádný vztah mezi Panerovým systémem stupňů a vzorem chromozomálních změn u ChRK.

3.9 Renal cell carcinoma with areas mimicking renal angiomyoadenomatous tumor/clear cell papillary renal cell carcinoma

Popisujeme skupinu osmi renálních karcinomů, které vykazovaly při světelné mikroskopii vzhled angiomyoadenomatózního/světlobuněčného (RAT/SRK) renálního karcinomu o rozsahu 5-95% ploch tkáně, které nesplňovaly kritéria zařazení do této skupiny. Vyjma jednoho všechny případy vykazovaly histopatologické znaky konvenčního světlobuněčného karcinomu (v rozsahu 75 -95%). V pěti případech ze sedmi konvenčního světlobuněčného vzhledu byla tato diagnóza podpořena molekulárně-geneticky přítomností aberace genu *VHL* (mutace v kódující oblasti a/nebo hypermetylace promotoru a/nebo ztráta heterozygotnosti chromozomu 3p). Z dalších dvou případů se světlobuněčnou morfologií ani jeden nádor neobsahoval žádnou aberaci genu *VHL*, zato chromozomy 7 a 17 byly v jednom případě dizomické a v druhém polyzomické. Zbývající nádor se vyznačoval převážně (95%) RAT/SRK morfologií, obsahoval mutaci genu *VHL* a byl polyzomický u chromozomů 7 a 17. U pěti případů s histomorfologickými a molekulárně genetickými znaky světlobuněčného renálního karcinomu jsme detekovali významnou imunoreaktivitu s α -methylacyl-CoA racemázou u dvou případů a silnou difúzní imunopozitivitu u cytokeratinu 7 u tří případů. Kromě této kombinace pozitivit u α -methylacyl-CoA racemázy a cytokeratinu 7, nic nenasvědčovalo přítomnosti konvenčního papilárního renálního karcinomu s převahou buněk se světlou cytoplazmou.

3.10 Tubulocystic renal cell carcinoma: is there a rational reason for targeted therapy using angiogenic inhibition?

Pacienti s renálním karcinomem se obecně považují za kandidáty pro antiangiogenní léčbu. Tubulocystický renální karcinom (TCRK) je nedávno popsána entita, která se může chovat agresivně, a odůvodnění pro antiangiogenní léčbu u této skupiny nádorů nebylo dosud zjištěno. U sedmi případů TCRK a pěti kontrolních nenádorových tkání ze sedmi pacientů byla provedena expresní analýza mRNA šestnácti genů zapojených ve třech angiogenních signálních drahách. Jednalo se o signální dráhy zahrnující 1) Von Hippel-Lindau tumor

supresor/hypoxií indukované faktory (*VHL/HIF*), 2) receptorové tyrozin kinázy/mitogeny aktivované protein kinázy (*RTK/MAPK*), 3) a dráha kináz *PIK3CA/AKT/MTOR*. Poslední dvě jmenované dráhy jsou častým terčem antiangiogenních agens. Také byl zjišťován mutační a metylační status genu *VHL* a pomocí imunohistochemie byly zjišťovány hladiny vaskulárního endoteliálního růstového faktoru A (*VEGFA*), hypoxií indukovaných faktorů *HIF1A*, *EPAS1*, a fosforylovaného proteinu *MTOR*. Porovnáním vzorků nádorů a kontrolních nenádorových tkání nebyla zjištěna rozdílná exprese v těchto genech *VHL*, *HIF1A*, *EPAS1*, *PTEN*, *AKT2*, *AKT3*, *MTOR*, *VEGFA*, *KDR*, *HRAS*, *JUN*, *EGFR*, and *FGF2*. U nádorů byla zjištěna signifikantně zvýšená hladina mRNA genu *TP53*, zatímco hladiny mRNA genů *FLT1* a *FOS* byly sníženy. Nebyla nalezena žádná mutace ani metylace promotoru genu *VHL*. Nebyly nalezeny žádné změny v hladinách studovaných proteinů *VEGFA*, *HIF1A*, *EPAS1*, ani zvýšená fosforylace *MTOR*. Tři studované dráhy (*VHL/HIF*, *RTK/MAPK* a *PIK3CA/AKT/MTOR*) se nezdají být aktivované u TCRK, z čehož vyplývá, že obecné doporučení antiangiogenních terapií nejspíše nemá odůvodnění.

3.11 Biphasic alveolosquamoid renal carcinoma: a histomorphological, immunohistochemical, molecular genetic, and ultrastructural study of a distinctive morphologic variant of renal cell carcinoma

Bylo publikováno pouze několik případů sarkomatoidních renálních karcinomů se skvamózní diferenciací. Popisujeme dva případy renálních karcinomů obsahujících dosud nepopsanou dvojí populaci buněk. Více zastoupená byla alveolární architektura, která se diferencovala do skvamózních buněk. Žádný z nádorů nevykazoval známky sarkomatoidní transformace. Oba nádory byly podrobeny rutinní histologické a ultrastrukturální analýze, imunohistochemickému barvení, aCGH, konfirmační FISH a analýze ztráty heterozygotnosti. Velikost nádorů byla 3 a 4 cm, byly lokalizované uvnitř renálního parenchymu a neměly žádné spojení s ledvinovou pánevíčkou. Oba nádory byly tvořeny dvojí populací buněk. Větší nádorové buňky vykazovaly skvamózní znaky a tvořily dobře ohraničené pevné alveolární ostrůvky, které byly většinou obklopené komponentou složenou z malých buněk. Skvamózní buňky byly imunoreaktivní k cytokeratinům (*AE1/AE3*, *Cam 5.2*, *CK5/6*, *CK7* a *CK20*), epiteliálnímu membránovému antigenu, recemáze/*AMACR* a *CA-IX* (v jednom z případů ohniskově). Populace malých buněk byla imunoreaktivní pouze k cytokeratinu *CK7*, epiteliálnímu membránovému antigen a recemáze/*AMACR*, kdežto *CK20*, *AE1-3* a *CA-IX* byly negativní. Protilátka *CD10* byla ohniskově pozitivní ve velkých skvamózních buňkách u jednoho případu. *Kathepsin K*, *E-cadherin* a *CD117* byly ohniskově pozitivní u jedné z komponent u jednoho případu. Ostatní protilátky *Vimentin*, *RCC marker*, *parvalbumin*, *uropalakin III*, *HMB45*, *synaptofyzin*, *chromogranin A*, *tyroglobulin* a proteiny *S100A1*, *p63*, *p53*, *CDX2*, *TFE3*, *WT1*, a *TTF1* byly negativní. Proliferativní aktivita (*MIB-1/Ki-67*) byla nízká (1%) v malobuněčné komponentě obou případů, zatímco velké buňky vykazovaly výrazně vyšší proliferativní aktivitu (20-35%). Ultrastrukturální analýza prokázala přítomnost desmozómů a tonofilament ve velkých buňkách, potvrzující skvamózní diferenciaci v této subpopulaci nádorových buněk. Komparativní genomová hybridizace jednoho

analyzovatelného případu prokázaly ztráty celých chromozomů nebo jejich částí (2, 5, 6, 9, 12, 15, 16, 17, 18 a 22) včetně bialelické ztráty lokusu genu *CDKN2A*. Dále byly nalezeny zisky částí chromozomů 1, 5, 12 a 13. Všechny změny byly potvrzeny pomocí FISH a analýzou ztráty heterozygotnosti. Další sledování pacientů nepřineslo žádné známky recidivy nebo metastáze u prvního pacienta. U druhého pacienta byla nalezena podkožní metastáze při diagnóze, ale během následujícího jednoho roku nebyly zjištěny žádné známky recidivy nebo metastáze. Naše data naznačují, že dvou druhový alveolo-skvamózní nádor je vzácný a charakteristický typ nádoru. Subpopulace malých a velkých buněk mají překrývající se, ale rozdílné spektrum exprimovaných proteinů. Byly zjištěny početné chromozomální aberace, některé zasahující do oblastí známých tumor supresorových genů a onkogenů.

4 Závěr

Ve výše uvedených pracích bylo použitím různých molekulárně-genetických metod charakterizováno několik nových druhů lézí, rozšířeno spektrum chromozomálních změn u chromofobních RK, diferencially diagnosticky zpřesněna klasifikace skupin s překrývajícími se morfologickými znaky (např. translokační RK). Často se jednalo o velmi ojedinělé vzorky pocházející z konzultací a pro jejich analýzu nebylo možné použít zavedené vyšetřovací postupy. Proto byly provedeny některé modifikace analýz a nestandardní postupy, které budou podrobněji vysvětleny.

Jak je zřejmé z většiny prací, část FFPE vzorků byla vždy vyřazena z některých molekulárních analýz pro nedostatečnou kvalitu nukleových kyselin. Pro překonání tohoto trvalého problému byl změněn postup izolace DNA z manuálního kolonkového kitu firmy Machery-Nagel na DNA mini kit na automatickém izolátoru QIASymphony (Qiagen). Zároveň se přešlo z deparafinizace pomocí xylenu na protokol používající proprietární deparafinizační roztok. Při srovnávání těchto dvou metod byla u nového kitu pozorována úspěšná amplifikace delších úseků DNA. Za kritický krok je také považována hodinová inkubace při 90°C narušující formaldehydem způsobené kroslinky. Nevýhodou pro některé následující metody je poměrně vysoký obsah EDTA v elučním pufru. To bylo řešeno například u aCGH přečištěním vzorků pomocí kolonek a elucí do pufru bez obsahu EDTA.

Ve třech pracích byla použita aCGH (prováděná komerční laboratoří), velmi intenzivně zejména ve studii o chromofobních RK. Kromě nedostatečné kvality DNA bylo další překážkou nedostatečné oddělení nádorové tkáně od okolní nenádorové ve vzorku. Upravením cut-off hodnot bylo možné vyhodnocovat i vzorky s obsahem 25% nenádorové tkáně. Pro konfirmaci a u některých nekvalitních vzorků byla používána metoda FISH, kde byly stanoveny hodnoty cut-off pro každou sondu zvlášť. V některých případech nebyla k dispozici nenádorová tkáň a byla nahrazena komerčně dostupnou kontrolou záměrně opačného pohlaví. Výsledný zisk chromozomu Y nebo ztráta X fungovaly jako měřítko tri- nebo monozomie u těchto nesourodých párů. Z důvodu zachování homogenity skupiny pro statistické zhodnocení byly pak pohlavní chromozomy vyloučeny ze sledovaných znaků.

Pro potvrzení mnohočetných malých chromozomálních aberací u případu ze článku č. 11 byla použita nejen FISH, ale i analýza ztráty heterozygotnosti pomocí STR markerů. Díky na míru navrženým amplikonům byla nejmenší potvrzená deletovaná oblast byla velká zhruba 4 Mb. Pomocí FISH byla také potvrzena bialeická ztráta v oblasti 9p21.3. Byla použita směs dvou různobarevných sond, jedné na lokus *CDKN2A* a kontrolní centromerické sondy na chromozom 3. Odečítána byla pouze jádra, která obsahovala alespoň jeden signál kontrolní sondy. Na zdravé tkáni byla empiricky zjištěna hodnota cut-off pro nulizomii.

Ve článku zabývající se klonalitou leiomyomatózního stromatu byla kvůli přesnému odlišení stromální a nádorové komponenty byla použita mikrodisekce. Vzhledem k pracnosti mikrodisekování a poměrně malému zastoupení stromatu ve vzorcích byl výchozí materiál velmi omezený. Použitá analýza klonality pomocí lidského androgenu AR (HUMARA), byla vybrána díky své jednoduchosti a aplikovatelnosti na degradované FFPE vzorky. Nevýhodou je malý počet markerů, které v určitém procentu nejsou informativní, což vede k tomu, že u některých vzorků nelze určit výsledek. Alternativou by bylo použití SNP array nebo exomového (popř. celo-genomového) sekvenování, které by ale bylo mnohem náročnější. Tyto metody by umožnily studovat i tak často byla diskutovanou otázku heterogenity uvnitř nádoru, což je jev potvrzený například u SRK (Gerlinger et al. 2012). Tato studie mimo jiné ukázala, že zhruba dvě třetiny mutací nebyly přítomné v každém studovaném regionu. Z toho vyplývá, že jedna biopsie může zachytit pouze menšinu změn, které jsou v lézi přítomné. Tento nový stupeň složitosti přináší mnoho dalších zatím nezodpovězených otázek. Například jaký je vliv minoritních mutací na celkový fenotyp. Prozatím je třeba mít na mysli tuto heterogenitu při navrhování analýz a vyhodnocování jejich výsledků. Moderní metody jako je například masivně paralelní sekvenování, digitální PCR apod. jdou naštěstí cestou „digitalizace“, která umožňuje zkoumat jednotlivé frakce dříve spojených výsledků zvlášť. S dostupností nových metod se nabízejí i nové oblasti výzkumu, které slibují přesnější klasifikaci, hlubší poznání mechanismů kancerogeneze a v klinické praxi použitelné biomarkery a cíle terapií, nutné pro zlepšení léčby těchto malignit.

5 Seznam použité literatury

ALLEN, R. C., H. Y. ZOGHBI, A. B. MOSELEY, H. M. ROSENBLATT a J. W. BELMONT, 1992. Methylation of HpaII and HhaI sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. *American Journal of Human Genetics*. 12., roč. 51, č. 6, s. 1229–1239. ISSN 0002-9297.

AMIN, Mahul B., Gladell P. PANER, Isabel ALVARADO-CABRERO, Andrew N. YOUNG, Hans J. STRICKER, Robert H. LYLES a Holger MOCH, 2008. Chromophobe renal cell carcinoma: histomorphologic characteristics and evaluation of conventional pathologic prognostic parameters in 145 cases. *The American Journal of Surgical Pathology* [online]. 12., roč. 32, č. 12, s. 1822–1834. ISSN 1532-0979. Dostupné z: doi:10.1097/PAS.0b013e3181831e68

ARGANI, Pedram, Cristina R. ANTONESCU, Jérôme COUTURIER, Jean-Christophe FOURNET, Raf SCIOT, Maria DEBIEC-RYCHTER, Brian HUTCHINSON, Victor E. REUTER, Lilliane BOCCON-GIBOD, Charles TIMMONS, Naiel HAFEZ a Marc LADANYI, 2002. 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*. 12., roč. 26, č. 12, s. 1553–1566. ISSN 0147-5185.

ARGANI, P., A. HAWKINS, C. A. GRIFFIN, J. D. GOLDSTEIN, M. HAAS, J. B. BECKWITH, C. B. MANKINEN a E. J. PERLMAN, 2001. 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* [online]. 6., roč. 158, č. 6, s. 2089–2096. ISSN 0002-9440. Dostupné z: doi:10.1016/S0002-9440(10)64680-9

BONIN, S., F. PETRERA, B. NICCOLINI a G. STANTA, 2003. PCR analysis in archival postmortem tissues. *Molecular pathology: MP*. 6., roč. 56, č. 3, s. 184–186. ISSN 1366-8714.

BREEN, Ellen C., 2007. VEGF in biological control. *Journal of Cellular Biochemistry* [online]. 15.12., roč. 102, č. 6, s. 1358–1367. ISSN 0730-2312. Dostupné z: doi:10.1002/jcb.21579

BROWN, E. J., M. W. ALBERS, T. B. SHIN, K. ICHIKAWA, C. T. KEITH, W. S. LANE a S. L. SCHREIBER, 1994. A mammalian protein targeted by G1-arresting rapamycin-receptor complex. *Nature* [online]. 30.6., roč. 369, č. 6483, s. 756–758. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/369756a0

DALGLIESH, Gillian L., Kyle FURGE, Chris GREENMAN, Lina CHEN, Graham BIGNELL, Adam BUTLER, Helen DAVIES, Sarah EDKINS, Claire HARDY, Calli LATIMER, Jon TEAGUE, Jenny ANDREWS, Syd BARTHORPE, Dave BEARE, Gemma BUCK, Peter J. CAMPBELL, Simon FORBES, Mingming JIA, David JONES, Henry KNOTT, Chai Yin KOK, King Wai LAU, Catherine LEROY, Meng-Lay LIN, David J. MCBRIDE, Mark MADDISON, Simon MAGUIRE, Kirsten MCLAY, Andrew MENZIES, Tatiana MIRONENKO, Lee MULDERRIG, Laura MUDIE, Sarah O'MEARA, Erin PLEASANCE, Arjunan RAJASINGHAM, Rebecca SHEPHERD,

Raffaella SMITH, Lucy STEBBINGS, Philip STEPHENS, Gurpreet TANG, Patrick S. TARPEY, Kelly TURRELL, Karl J. DYKEMA, Sok Kean KHOO, David PETILLO, Bill WONDERGEM, John ANEMA, Richard J. KAHNOSKI, Bin Tean TEH, Michael R. STRATTON a P. Andrew FUTREAL, 2010. Systematic sequencing of renal carcinoma reveals inactivation of histone modifying genes. *Nature* [online]. 21.1., roč. 463, č. 7279, s. 360–363. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature08672

DEBELENKO, Larisa V., Susana C. RAIMONDI, Najat DAW, Bangalore R. SHIVAKUMAR, Dali HUANG, Marilu NELSON a Julia A. BRIDGE, 2011. Renal cell carcinoma with novel VCL-ALK fusion: new representative of ALK-associated tumor spectrum. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* [online]. 3., roč. 24, č. 3, s. 430–442. ISSN 1530-0285. Dostupné z: doi:10.1038/modpathol.2010.213

DIETRICH, Dimo, Barbara UHL, Verena SAILER, Emily Eva HOLMES, Maria JUNG, Sebastian MELLER a Glen KRISTIANSEN, 2013. Improved PCR Performance Using Template DNA from Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded Tissues by Overcoming PCR Inhibition. *PLoS ONE* [online]. 14.10., roč. 8, č. 10, s. e77771 [vid. 24. březem 2015]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0077771

DUTCHER, Janice P., Paul DE SOUZA, David MCDERMOTT, Robert A. FIGLIN, Anna BERKENBLIT, Alexandra THIELE, Mizue KRYGOWSKI, Andrew STRAHS, Jay FEINGOLD a Gary HUDES, 2009. Effect of temsirolimus versus interferon-alpha on outcome of patients with advanced renal cell carcinoma of different tumor histologies. *Medical Oncology (Northwood, London, England)* [online]. roč. 26, č. 2, s. 202–209. ISSN 1357-0560. Dostupné z: doi:10.1007/s12032-009-9177-0

EGGENER, S. E., 2006. Renal Cell Carcinoma Recurrence After Nephrectomy for Localized Disease: Predicting Survival From Time of Recurrence. *Journal of Clinical Oncology* [online]. 8.5., roč. 24, č. 19, s. 3101–3106 [vid. 4. květen 2015]. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2005.04.8280

EISENGART, Laurie J., Gary R. MACVICAR a Ximing J. YANG, 2012. Predictors of response to targeted therapy in renal cell carcinoma. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* [online]. 5., roč. 136, č. 5, s. 490–495. ISSN 1543-2165. Dostupné z: doi:10.5858/arpa.2010-0308-RA

EL-HELIEBI, Amin, Thomas KRONEIS, Evelyn ZÖHRER, Johannes HAYBAECK, Katja FISCHEREDER, Karin KAMPEL-KETTNER, Richard ZIGEUNER, Hannelore POCK, Regina RIEDL, Rudolf STAUBER, Jochen GEIGL, Berthold HUPPERTZ, Peter SEDLMAYR a Carolin LACKNER, 2013. Are morphological criteria sufficient for the identification of circulating tumor cells in renal cancer? *Journal of Translational Medicine* [online]. roč. 11, č. 1, s. 214 [vid. 30. duben 2015]. ISSN 1479-5876. Dostupné z: doi:10.1186/1479-5876-11-214

ENGELMAN, Jeffrey A., Ji LUO a Lewis C. CANTLEY, 2006. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nature Reviews. Genetics* [online]. 8., roč. 7, č. 8, s. 606–619. ISSN 1471-0056. Dostupné z: doi:10.1038/nrg1879

ESCUДИER, B., C. PORTA, M. SCHMIDINGER, F. ALGABA, J. J. PATARD, V. KHOO, T. EISEN, A. HORWICH a ESMO GUIDELINES WORKING GROUP, 2014. Renal cell carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* [online]. 9., roč. 25 Suppl 3, s. iii49–56. ISSN 1569-8041. Dostupné z: doi:10.1093/annonc/mdu259

FERRARA, Napoleone, Kenneth J. HILLAN, Hans-Peter GERBER a William NOVOTNY, 2004. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nature Reviews. Drug Discovery* [online]. 5., roč. 3, č. 5, s. 391–400. ISSN 1474-1776. Dostupné z: doi:10.1038/nrd1381

FRAGA, Mario F. a Manel ESTELLER, 2002. DNA methylation: a profile of methods and applications. *BioTechniques*. 9., roč. 33, č. 3, s. 632, 634, 636–649. ISSN 0736-6205.

GERLINGER, Marco, Andrew J. ROWAN, Stuart HORSWELL, James LARKIN, David ENDEFELDER, Eva GRONROOS, Pierre MARTINEZ, Nicholas MATTHEWS, Aengus STEWART, Patrick TARPEY, Ignacio VARELA, Benjamin PHILLIMORE, Sharmin BEGUM, Neil Q. MCDONALD, Adam BUTLER, David JONES, Keiran RAINE, Calli LATIMER, Claudio R. SANTOS, Mahrokh NOHADANI, Aron C. EKLUND, Bradley SPENCER-DENE, Graham CLARK, Lisa PICKERING, Gordon STAMP, Martin GORE, Zoltan SZALLASI, Julian DOWNWARD, P. Andrew FUTREAL a Charles SWANTON, 2012. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *The New England Journal of Medicine* [online]. 8.3., roč. 366, č. 10, s. 883–892. ISSN 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa1113205

GILL, Anthony J., Nicholas S. PACHTER, Angela CHOU, Barbara YOUNG, Adele CLARKSON, Katherine M. TUCKER, Ingrid M. WINSHIP, Peter EARLS, Diana E. BENN, Bruce G. ROBINSON, Stewart FLEMING a Roderick J. CLIFTON-BLIGH, 2011. Renal tumors associated with germline SDHB mutation show distinctive morphology. *The American Journal of Surgical Pathology* [online]. 10., roč. 35, č. 10, s. 1578–1585. ISSN 1532-0979. Dostupné z: doi:10.1097/PAS.0b013e318227e7f4

HERMAN, J. G., F. LATIF, Y. WENG, M. I. LERMAN, B. ZBAR, S. LIU, D. SAMID, D. S. DUAN, J. R. GNARRA a W. M. LINEHAN, 1994. Silencing of the VHL tumor-suppressor gene by DNA methylation in renal carcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 11.10., roč. 91, č. 21, s. 9700–9704. ISSN 0027-8424.

JANCIK, Sylwia, Jiri DRABEK, Jitka BERKOVCOVA, Yong Zhong XU, Marcela STANKOVA, Jiri KLEIN, Vitezslav KOLEK, Josef SKARDA, Tomas TICHY, Ivona GRYGARKOVA, Danuta RADZIOCH a Marian HAJDUCH, 2012. A comparison of Direct sequencing, Pyrosequencing, High resolution melting analysis, TheraScreen DxS, and the K-ras StripAssay for detecting KRAS mutations in non small cell lung carcinomas. *Journal of experimental & clinical cancer research: CR* [online]. roč. 31, s. 79. ISSN 1756-9966. Dostupné z: doi:10.1186/1756-9966-31-79

JANZEN, Nicolette K., Hyung L. KIM, Robert A. FIGLIN a Arie S. BELLDEGRUN, 2003. Surveillance after radical or partial nephrectomy for localized renal cell carcinoma and management of recurrent disease. *The Urologic Clinics of North America*. 11., roč. 30, č. 4, s. 843–852. ISSN 0094-0143.

JONES, Peter A. a Stephen B. BAYLIN, 2002. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nature Reviews. Genetics* [online]. 6., roč. 3, č. 6, s. 415–428. ISSN 1471-0056. Dostupné z: doi:10.1038/nrg816

KAELIN, William G., 2002. Molecular basis of the VHL hereditary cancer syndrome. *Nature Reviews. Cancer* [online]. 9., roč. 2, č. 9, s. 673–682. ISSN 1474-175X. Dostupné z: doi:10.1038/nrc885

KOVACS, G., 1989. Papillary renal cell carcinoma. A morphologic and cytogenetic study of 11 cases. *The American Journal of Pathology*. 1., roč. 134, č. 1, s. 27–34. ISSN 0002-9440.

KOVACS, G., M. AKHTAR, B. J. BECKWITH, P. BUGERT, C. S. COOPER, B. DELAHUNT, J. N. EBLE, S. FLEMING, B. LJUNGBERG, L. J. MEDEIROS, H. MOCH, V. E. REUTER, E. RITZ, G. ROOS, D. SCHMIDT, J. R. SRIGLEY, S. STÖRKEL, E. VAN DEN BERG a B. ZBAR, 1997. The Heidelberg classification of renal cell tumours. *The Journal of Pathology* [online]. 10., roč. 183, č. 2, s. 131–133. ISSN 0022-3417. Dostupné z: doi:10.1002/(SICI)1096-9896(199710)183:2<131::AID-PATH931>3.0.CO;2-G

KUYKENDALL, J. R. a M. S. BOGDANFFY, 1992. Efficiency of DNA-histone crosslinking induced by saturated and unsaturated aldehydes in vitro. *Mutation Research*. 10., roč. 283, č. 2, s. 131–136. ISSN 0027-5107.

LEVI, Fabio, Jacques FERLAY, Carlotta GALEONE, Franca LUCCHINI, Eva NEGRI, Peter BOYLE a Carlo LA VECCHIA, 2008. The changing pattern of kidney cancer incidence and mortality in Europe: CHANGING PATTERN OF KIDNEY CANCER INCIDENCE AND MORTALITY IN EUROPE. *BJU International* [online]. 4., roč. 101, č. 8, s. 949–958 [vid. 4. květen 2015]. ISSN 14644096. Dostupné z: doi:10.1111/j.1464-410X.2008.07451.x

LOPEZ-BELTRAN, Antonio, Marina SCARPELLI, Rodolfo MONTIRONI a Ziya KIRKALI, 2006. 2004 WHO classification of the renal tumors of the adults. *European Urology* [online]. 5., roč. 49, č. 5, s. 798–805. ISSN 0302-2838. Dostupné z: doi:10.1016/j.eururo.2005.11.035

MCGLYNN, Katherine A., Susan S. DEVESA, Alice J. SIGURDSON, Linda M. BROWN, Lilian TSAO a Robert E. TARONE, 2003. Trends in the incidence of testicular germ cell tumors in the United States. *Cancer* [online]. 1.1., roč. 97, č. 1, s. 63–70. ISSN 0008-543X. Dostupné z: doi:10.1002/cncr.11054

MOTZER, Robert J., Bernard ESCUDIER, Stephane OUDARD, Thomas E. HUTSON, Camillo PORTA, Sergio BRACARDA, Viktor GRÜNWARD, John A. THOMPSON, Robert A. FIGLIN, Norbert HOLLAENDER, Andrea KAY, Alain RAVAUD a RECORD-1 STUDY GROUP, 2010. Phase 3 trial of everolimus for metastatic renal cell carcinoma :

final results and analysis of prognostic factors. *Cancer* [online]. 15.9., roč. 116, č. 18, s. 4256–4265. ISSN 0008-543X. Dostupné z: doi:10.1002/cncr.25219

PARRA, Irma a Bradford WINDLE, 1993. High resolution visual mapping of stretched DNA by fluorescent hybridization. *Nature Genetics* [online]. 9., roč. 5, č. 1, s. 17–21 [vid. 9. duben 2015]. ISSN 1061-4036. Dostupné z: doi:10.1038/ng0993-17

POSTE, George, 2011. Bring on the biomarkers. *Nature* [online]. 13.1., roč. 469, č. 7329, s. 156–157 [vid. 30. duben 2015]. ISSN 0028-0836, 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/469156a

REDOVA, Martina, Marek SVOBODA a Ondrej SLABY, 2011. MicroRNAs and their target gene networks in renal cell carcinoma. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 11.2., roč. 405, č. 2, s. 153–156. ISSN 1090-2104. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbrc.2011.01.019

RUF, C.G., N. KHALILI-HARBI, S. SACHS, H. ISBARN, W. WAGNER, C. MATTHIES, V. MEINEKE, M. FISCH, F.K. CHUN a M. ABEND, 2013. The Search for Biomarkers of Metastatic Seminoma. *The Journal of Urology* [online]. 9., roč. 190, č. 3, s. 1046–1051 [vid. 4. květen 2015]. ISSN 00225347. Dostupné z: doi:10.1016/j.juro.2013.04.022

SABATINI, David M., 2006. mTOR and cancer: insights into a complex relationship. *Nature Reviews. Cancer* [online]. 9., roč. 6, č. 9, s. 729–734. ISSN 1474-175X. Dostupné z: doi:10.1038/nrc1974

SANFORD, Thomas, Paul H. CHUNG, Ariel REINISH, Vladimir VALERA, Ramaprasad SRINIVASAN, W. Marston LINEHAN a Gennady BRATSLAVSKY, 2011. Molecular sub-classification of renal epithelial tumors using meta-analysis of gene expression microarrays. *PloS One* [online]. roč. 6, č. 7, s. e21260. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0021260

SÁNCHEZ-NAVARRO, Iker, Angelo GÁMEZ-POZO, Manuel GONZÁLEZ-BARÓN, Alvaro PINTO-MARÍN, David HARDISSON, Rocío LÓPEZ, Rosario MADERO, Paloma CEJAS, Marta MENDIOLA, Enrique ESPINOSA a Juan Angel Fresno VARA, 2010. Comparison of gene expression profiling by reverse transcription quantitative PCR between fresh frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded breast cancer tissues. *BioTechniques* [online]. 5., roč. 48, č. 5, s. 389–397. ISSN 1940-9818. Dostupné z: doi:10.2144/000113388

SATO, Yusuke, Tetsuichi YOSHIZATO, Yuichi SHIRAISHI, Shigekatsu MAEKAWA, Yusuke OKUNO, Takumi KAMURA, Teppei SHIMAMURA, Aiko SATO-OTSUBO, Genta NAGAE, Hiromichi SUZUKI, Yasunobu NAGATA, Kenichi YOSHIDA, Ayana KON, Yutaka SUZUKI, Kenichi CHIBA, Hiroko TANAKA, Atsushi NIIDA, Akihiro FUJIMOTO, Tatsuhiko TSUNODA, Teppei MORIKAWA, Daichi MAEDA, Haruki KUME, Sumio SUGANO, Masashi FUKAYAMA, Hiroyuki ABURATANI, Masashi SANADA, Satoru MIYANO, Yukio HOMMA a Seishi OGAWA, 2013. Integrated molecular analysis of clear-cell renal cell carcinoma. *Nature Genetics* [online]. 8., roč. 45, č. 8, s. 860–867. ISSN 1546-1718. Dostupné z: doi:10.1038/ng.2699

SHUIN, T., K. KONDO, S. TORIGOE, T. KISHIDA, Y. KUBOTA, M. HOSAKA, Y. NAGASHIMA, H. KITAMURA, F. LATIF a B. ZBAR, 1994. Frequent somatic mutations and loss of heterozygosity of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in primary human renal cell carcinomas. *Cancer Research*. 1.6., roč. 54, č. 11, s. 2852–2855. ISSN 0008-5472.

SOLINAS-TOLDO, S., S. LAMPEL, S. STILGENBAUER, J. NICKOLENKO, A. BENNER, H. DÖHNER, T. CREMER a P. LICHTER, 1997. Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes, Chromosomes & Cancer*. 12., roč. 20, č. 4, s. 399–407. ISSN 1045-2257.

SRIGLEY, John R., Brett DELAHUNT, John N. EBLE, Lars EGEVAD, Jonathan I. EPSTEIN, David GRIGNON, Ondrej HES, Holger MOCH, Rodolfo MONTIRONI, Satish K. TICKOO, Ming ZHOU, Pedram ARGANI a ISUP RENAL TUMOR PANEL, 2013. The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver Classification of Renal Neoplasia. *The American Journal of Surgical Pathology* [online]. 10., roč. 37, č. 10, s. 1469–1489. ISSN 1532-0979. Dostupné z: doi:10.1097/PAS.0b013e318299f2d1

STÖRKEL, S., J. N. EBLE, K. ADLAKHA, M. AMIN, M. L. BLUTE, D. G. BOSTWICK, M. DARSON, B. DELAHUNT a K. ICZKOWSKI, 1997. Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer*. 1.9., roč. 80, č. 5, s. 987–989. ISSN 0008-543X.

TAZI, El Mehdi, Ismail ESSADI, Mohamed Fadl TAZI, Youness AHELLAL, Hind M'RABTI a Hassan ERRIHANI, 2011. Advanced treatments in non-clear renal cell carcinoma. *Urology Journal*. roč. 8, č. 1, s. 1–11. ISSN 1735-546X.

THIAGALINGAM, S., S. LAKEN, J. K. WILLSON, S. D. MARKOWITZ, K. W. KINZLER, B. VOGELSTEIN a C. LENGAUER, 2001. Mechanisms underlying losses of heterozygosity in human colorectal cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. 27.2., roč. 98, č. 5, s. 2698–2702. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.051625398

TORO, Jorge R., Michael L. NICKERSON, Ming-Hui WEI, Michelle B. WARREN, Gladys M. GLENN, Maria L. TURNER, Laveta STEWART, Paul DURAY, Ousman TOURRE, Nirmala SHARMA, Peter CHOYKE, Pamela STRATTON, Maria MERINO, McClellan M. WALTHER, W. Marston LINEHAN, Laura S. SCHMIDT a Berton ZBAR, 2003. Mutations in the fumarate hydratase gene cause hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer in families in North America. *American Journal of Human Genetics* [online]. 7., roč. 73, č. 1, s. 95–106. ISSN 0002-9297. Dostupné z: doi:10.1086/376435

TORRE, Lindsey A., Freddie BRAY, Rebecca L. SIEGEL, Jacques FERLAY, Joannie LORTET-TIEULENT a Ahmedin JEMAL, 2015. Global cancer statistics, 2012: Global Cancer Statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* [online]. 3., roč. 65, č. 2, s. 87–108 [vid. 30. duben 2015]. ISSN 00079235. Dostupné z: doi:10.3322/caac.21262

VARELA, Ignacio, Patrick TARPEY, Keiran RAINE, Dachuan HUANG, Choon Kiat ONG, Philip STEPHENS, Helen DAVIES, David JONES, Meng-Lay LIN, Jon TEAGUE, Graham BIGNELL, Adam BUTLER, Juok CHO, Gillian L. DALGLIESH, Danushka

GALAPPATHHIGE, Chris GREENMAN, Claire HARDY, Mingming JIA, Calli LATIMER, King Wai LAU, John MARSHALL, Stuart MCLAREN, Andrew MENZIES, Laura MUDIE, Lucy STEBBINGS, David A. LARGAESPADA, L. F. A. WESSELS, Stephane RICHARD, Richard J. KAHNOSKI, John ANEMA, David A. TUVESON, Pedro A. PEREZ-MANCERA, Ville MUSTONEN, Andrej FISCHER, David J. ADAMS, Alistair RUST, Waraporn CHAN-ON, Chutima SUBIMERB, Karl DYKEMA, Kyle FURGE, Peter J. CAMPBELL, Bin Tean TEH, Michael R. STRATTON a P. Andrew FUTREAL, 2011. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal carcinoma. *Nature* [online]. 27.1., roč. 469, č. 7331, s. 539–542. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature09639

VASUDEV, Naveen S, Peter J SELBY a Rosamonde E BANKS, 2012. Renal cancer biomarkers: the promise of personalized care. *BMC Medicine* [online]. roč. 10, č. 1, s. 112 [vid. 30. duben 2015]. ISSN 1741-7015. Dostupné z: doi:10.1186/1741-7015-10-112

WANDER, Seth A., Bryan T. HENNESSY a Joyce M. SLINGERLAND, 2011. Next-generation mTOR inhibitors in clinical oncology: how pathway complexity informs therapeutic strategy. *The Journal of Clinical Investigation* [online]. 4., roč. 121, č. 4, s. 1231–1241. ISSN 1558-8238. Dostupné z: doi:10.1172/JCI44145

YOUNG, Alison C., Rachel A. CRAVEN, Dena COHEN, Claire TAYLOR, Christopher BOOTH, Patricia HARNDEN, David A. CAIRNS, Dewi ASTUTI, Walter GREGORY, Eamonn R. MAHER, Margaret A. KNOWLES, Adrian JOYCE, Peter J. SELBY a Rosamonde E. BANKS, 2009. Analysis of VHL Gene Alterations and their Relationship to Clinical Parameters in Sporadic Conventional Renal Cell Carcinoma. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* [online]. 15.12., roč. 15, č. 24, s. 7582–7592. ISSN 1078-0432. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-2131

ZARIN, Deborah A., Tony TSE, Rebecca J. WILLIAMS, Robert M. CALIFF a Nicholas C. IDE, 2011. The ClinicalTrials.gov Results Database — Update and Key Issues. *New England Journal of Medicine* [online]. 3.3., roč. 364, č. 9, s. 852–860 [vid. 4. květen 2015]. ISSN 0028-4793, 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMsa1012065

ZHOU, Ming, Ximing J. YANG, Jose I. LOPEZ, Rajal B. SHAH, Ondrej HES, Steven S. SHEN, Rongshan LI, Yu YANG, Fan LIN, Paul ELSON, Linda SERCIA, Cristina MAGI-GALLUZZI a Ray TUBBS, 2009. Renal tubulocystic carcinoma is closely related to papillary renal cell carcinoma: implications for pathologic classification. *The American Journal of Surgical Pathology* [online]. 12., roč. 33, č. 12, s. 1840–1849. ISSN 1532-0979. Dostupné z: doi:10.1097/PAS.0b013e3181be22d1

6 Publikace autora, které jsou podkladem dizertace

- [1.] MARTÍNEK, Petr, Ondřej ONDIČ, Petr GROSSMANN, Ondřej HES, Jiří BOUDA, Norma FRIZZELL a Anthony J. GILL, nedatováno. Genetic testing of leiomyoma tissue in women younger than 30 years old might provide an effective screening approach for the hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer syndrome (HLRCC). *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* [online]. ISSN 1432-2307. Dostupné z: doi:10.1007/s00428-015-1783-y
- [2.] HAYES, Malcolm, Květoslava PECKOVÁ, Petr MARTÍNEK, Milan HORA, Kristýna KALUSOVÁ, Lubomír STRAKA, Ondřej DAUM, Bohuslava KOKOŠKOVÁ, Pavla ROTTEROVÁ, Kristýna PIVOVARČIKOVÁ, Jindřich BRANŽOVSKÝ, Magdalena DUBOVÁ, Pavla VESELÁ, Michal MICHAL a Ondřej HES, 2015. Molecular-genetic analysis is essential for accurate classification of renal carcinoma resembling Xp11.2 translocation carcinoma. *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* [online]. 3., roč. 466, č. 3, s. 313–322. ISSN 1432-2307. Dostupné z: doi:10.1007/s00428-014-1702-7
- [3.] PECKOVÁ, Květoslava, Tomáš VANEČEK, Petr MARTÍNEK, Dominic SPAGNOLO, Naoto KURODA, Matteo BRUNELLI, Semir VRANIC, Slavisa DJURICIC, Pavla ROTTEROVÁ, Ondřej DAUM, Bohuslava KOKOŠKOVÁ, Pavla VESELÁ, Kristýna PIVOVARČIKOVÁ, Kevin BAULETH, Magdalena DUBOVÁ, Kristýna KALUSOVÁ, Milan HORA, Michal MICHAL a Ondřej HES, 2014. Aggressive and nonaggressive translocation t(6;11) renal cell carcinoma: comparative study of 6 cases and review of the literature. *Annals of Diagnostic Pathology* [online]. 12., roč. 18, č. 6, s. 351–357. ISSN 1532-8198. Dostupné z: doi:10.1016/j.anndiagpath.2014.10.002
- [4.] PETERSSON, Fredrik, Maris SPERGA, Stela BULIMBASIC, Petr MARTÍNEK, Marian SVAJDLER, Naoto KURODA, Milan HORA, Roderick SIMPSON, Tomáš TICHÝ, Květoslava PECKOVÁ, Jindřich BRANŽOVSKÝ, Kristýna PIVOVARČIKOVÁ, Pavla ROTTEROVÁ, Bohuslava KOKOŠKOVÁ, Kevin BAULETH, Dusan MARTINCOK, Vincent NAGY, Michal MICHAL a Ondřej HES, 2014b. Foamy cell (hibernoma-like) change is a rare histopathological feature in renal cell carcinoma. *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* [online]. 8., roč. 465, č. 2, s. 215–224. ISSN 1432-2307. Dostupné z: doi:10.1007/s00428-014-1600-z
- [5.] PETERSSON, Fredrik, Jindřich BRANŽOVSKÝ, Petr MARTÍNEK, Marie KORABEČNÁ, Božo KRUSLIN, Milan HORA, Květoslava PECKOVÁ, Kevin BAULETH, Kristýna PIVOVARČIKOVÁ, Michal MICHAL, Marián ŠVAJDLER, Maris SPERGA, Stela BULIMBASIC, Xavier LEROY, Boris RYCHLÝ, Sandra TRIVUNIC, Bohuslava KOKOŠKOVÁ, Pavla ROTTEROVÁ, Miroslav PODHOLA, Saul SUSTER a Ondřej HES, 2014a. The leiomyomatous stroma in renal cell carcinomas is polyclonal and not part of the neoplastic process. *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* [online]. 7., roč. 465, č. 1, s. 89–96. ISSN 1432-2307. Dostupné z: doi:10.1007/s00428-014-1591-9

- [6.] HES, Ondřej, Kristýna PIVOVARČÍKOVÁ, Jan STEHLÍK, Petr MARTÍNEK, Tomáš VANEČEK, Kevin BAULETH, Olga DOLEJSOVA, Fredrik PETERSSON, Milan HORA, Delia PEREZ MONTIEL, Květoslava PECKOVÁ, Jindřich BRANŽOVSKÝ, David SLOUKA, Josef VODIČKA, Bohuslava KOKOŠKOVÁ, Radoslav MATĚJ a Michal MICHAL, 2014b. Choriogonadotropin positive seminoma-a clinicopathological and molecular genetic study of 15 cases. *Annals of Diagnostic Pathology* [online]. 4., roč. 18, č. 2, s. 89–94. ISSN 1532-8198. Dostupné z: doi:10.1016/j.anndiagpath.2013.12.004
- [7.] HES, Ondřej, Tulio Geraldo DE SOUZA, Kristýna PIVOVARČÍKOVÁ, Petr GROSSMANN, Petr MARTÍNEK, Naoto KURODA, Denisa KACEROVSKÁ, Marián ŠVAJDLER, Lubomír STRAKA, Fredrik PETERSSON, Milan HORA a Michal MICHAL, 2014a. Distinctive renal cell tumor simulating atrophic kidney with 2 types of microcalcifications. Report of 3 cases. *Annals of Diagnostic Pathology* [online]. 4., roč. 18, č. 2, s. 82–88. ISSN 1532-8198. Dostupné z: doi:10.1016/j.anndiagpath.2013.12.003
- [8.] SPERGA, Maris, Petr MARTÍNEK, Tomáš VANEČEK, Petr GROSSMANN, Kevin BAULETH, Delia PEREZ-MONTIEL, Isabel ALVARADO-CABRERO, Kristine NEVIDOVSKA, Vilnis LIETUVIETIS, Milan HORA, Michal MICHAL, Fredrik PETERSSON, Naoto KURODA, Saul SUSTER, Jindřich BRANŽOVSKÝ a Ondřej HES, 2013. Chromophobe renal cell carcinoma--chromosomal aberration variability and its relation to Paner grading system: an array CGH and FISH analysis of 37 cases. *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* [online]. 10., roč. 463, č. 4, s. 563–573. ISSN 1432-2307. Dostupné z: doi:10.1007/s00428-013-1457-6
- [9.] PETERSSON, Fredrik, Petr GROSSMANN, Milan HORA, Maris SPERGA, Delia Perez MONTIEL, Petr MARTÍNEK, Maria Evelyn Cortes GUTIERREZ, Stela BULIMBASIC, Michal MICHAL, Jindřich BRANŽOVSKÝ a Ondřej HES, 2013. Renal cell carcinoma with areas mimicking renal angiomyoadenomatous tumor/clear cell papillary renal cell carcinoma. *Human Pathology* [online]. 7., roč. 44, č. 7, s. 1412–1420. ISSN 1532-8392. Dostupné z: doi:10.1016/j.humpath.2012.11.019
- [10.] STEINER, Petr, Milan HORA, Jan STEHLÍK, Petr MARTÍNEK, Tomáš VANEČEK, Fredrik PETERSSON, Michal MICHAL, Marie KORABEČNÁ, Ivan TRÁVNÍČEK a Ondřej HES, 2013. Tubulocystic renal cell carcinoma: is there a rational reason for targeted therapy using angiogenic inhibition? Analysis of seven cases. *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* [online]. 2., roč. 462, č. 2, s. 183–192. ISSN 1432-2307. Dostupné z: doi:10.1007/s00428-012-1367-z
- [11.] PETERSSON, Fredrik, Stela BULIMBASIC, Ondřej HES, Pavol SLÁVIK, Petr MARTÍNEK, Michal MICHAL, Barbora GOMOLČÁKOVÁ, Milan HORA a Ivan DAMJANOV, 2012. 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* [online]. 12., roč. 16, č. 6, s. 459–469. ISSN 1532-8198. Dostupné z: doi:10.1016/j.anndiagpath.2012.08.007

6.1 Prezentace na vědeckých konferencích

HES, Ondřej, Enric CONDOM-MUNDO, Jose I. LOPEZ, Květoslava PECKOVÁ, Petr MARTÍNEK, Pavla ROTTEROVÁ, Giovanni FALCONIERI, Abbas AGAIMY, Stela BULIMBASIC, Ivan DAMJANOV, Milan HORA a Michal MICHAL, 2015. Biphasic Squamoid Alveolar Renal Cell Carcinoma is Part of the Spectrum of Papillary Renal Cell Carcinoma: Clinicopathologic, Immunohistochemical and Molecular Genetic Analysis of 22 Cases. In: *USCAP annual meeting: Poster Session IV #160*

PECKOVÁ, Květoslava, Petr MARTÍNEK, Saul SUSTER, Delia Perez MONTIEL, Ondřej DAUM, Pavla ROTTEROVÁ, Milan HORA, Michal MICHAL a Ondřej HES, 2015a. 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. In: *USCAP annual meeting: Poster Session V # 120*

PECKOVÁ, Květoslava, Chisato OHE, Naoto KURODA, Petr MARTÍNEK, Stela BULIMBASIC, Delia Perez MONTIEL, Jose I. LOPEZ, Enric CONDOM-MUNDO, Ondřej DAUM, Pavla ROTTEROVÁ, Milan HORA, Michal MICHAL a Ondřej HES, 2015b. Chromophobe Renal Cell Carcinoma With Neuroendocrine Differentiation and Neuroendocrine-Like Features. Morphologic, Immunohistochemical, Ultrastructural, and ArrayCGH Analysis of 18 Cases. In: *USCAP Annual Meeting: Poster Session V #119*

TRPKOV, Kiril, Ondřej HES, Abbas AGAIMY, Petr MARTÍNEK, Cristina MAGI-GALLUZZI, Fadi BRIMO, Glen KRISTIENSEN, Gabriella NESI, Eva COMPERAT, Mathilde SIBONY, Rohit MEHRA, Michael BONERT, Daniel BERNEY, Kirsten HILLS, Fiona MACLEAN, Norma FRIZZELL a Anthony J. GILL, 2015. IHC Screening of Unclassified RCC Detects Tumors Associated with HLRCC. In: *USCAP annual meeting: Poster Session V # 105*

PECKOVÁ, Kvetoslava, Petr MARTÍNEK, Semir VRANIC, Bohuslava KOKOŠKOVÁ, Milan HORA, Michal MICHAL a Ondřej HES, 2014. Aggressive and non-aggressive translocation t(6;11) renal cell carcinoma: Comparative study of 6 cases. In: *European Congress of Pathology*

MARTÍNEK, Petr, Alena CHLUMSKÁ a Jana KAŠPÍRKOVÁ, 2014. Pyloric gland adenoma: molecular genetic study of 10 cases. In: *18. Celostátní konference DNA diagnostiky.*

HES, Ondřej, Maris SPERGA, Petr MARTINEK, Tomas VANECEK, Fredrik PETERSSON, Milan HORA a Michal MICHAL, 2014. Chromophobe Renal Cell Carcinoma- Chromosomal Aberration Variability. An Array CGH and FISH analysis of 37 cases. In: *USCAP Annual Meeting*

MARTÍNEK, Petr, Petr GROSSMANN, Petr STEINER, Tomáš VANEČEK a Ondřej HES, 2013. Molekulárně genetická analýza variability chromozomálních změn chromofobního renálního karcinomu. In: *XVII. Celostátní konference DNA diagnostiky*

7 Publikace bez vztahu k tématu dizertační práce

- [1] VANĚČEK, Tomáš, Zbyněk HALBHUBER, Denisa KACEROVSKÁ, Petr MARTÍNEK, Monika ŠEDIVCOVÁ, Richard A. CARR, David SLOUKA, Michal MICHAL a Dmitry V. KAZAKOV. Large germline deletions of the CYLD gene in patients with Brooke-Spiegler syndrome and multiple familial trichoepithelioma. *The American Journal of Dermatopathology* [online]. 2014, roč. 36, č. 11, s. 868–874. ISSN 1533-0311. Dostupné z: doi:10.1097/DAD.0000000000000068
- [2] LHOTSKÁ, P., P. MARTÍNEK, M. ČEDÍKOVÁ, P. LOŠAN, M. KRÁLÍČKOVÁ, V. KALIŠ a Z. NOVOTNÝ. [Analysis of point mutations in interleukin-11 gene in the population of infertile patients and fertile control women]. *Ceská Gynekologie / Česká Lékařská Společnost J. Ev. Purkyne*. 2014, roč. 79, č. 1, s. 48–52. ISSN 1210-7832.
- [3] SEDIVCOVÁ, Monika, Petr MARTÍNEK, Jan STEHLÍK, Petr GROSSMANN, Jana KAŠPÍRKOVÁ a Tomáš VANEČEK. [Sequencing - classical method]. *Ceskoslovenská Patologie*. 2013, roč. 49, č. 3, s. 122–128. ISSN 1210-7875.
- [4] GROSSMANN, Petr, Tomáš VANĚČEK, Petr STEINER, Denisa KACEROVSKÁ, Dominic V. SPAGNOLO, Bernard CRIBIER, Christian ROSE, Marina VAZMITEL, J. Andrew CARLSON, Michael EMBERGER, Petr MARTÍNEK, Robert L. PEARCE, John PEARN, Michal MICHAL a Dmitry V. KAZAKOV. Novel and recurrent germline and somatic mutations in a cohort of 67 patients from 48 families with Brooke-Spiegler syndrome including the phenotypic variant of multiple familial trichoepitheliomas and correlation with the histopathologic findings in 379 biopsy specimens. *The American Journal of Dermatopathology* [online]. 2013, roč. 35, č. 1, s. 34–44. ISSN 1533-0311. Dostupné z: doi:10.1097/DAD.0b013e31824e7658
- [5] KACEROVSKA, Denisa, Kateřina ČERNÁ, Petr MARTÍNEK, Petr GROSSMANN, Michal MICHAL, Jan ŘÍČAŘ a Dmitry V. KAZAKOV. MSH6 mutation in a family affected by Muir-Torre syndrome. *The American Journal of Dermatopathology* [online]. 2012, roč. 34, č. 6, s. 648–652. ISSN 1533-0311. Dostupné z: doi:10.1097/DAD.0b013e3182446fe2

8 Příloha: publikované práce