

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI



Autoreferát disertační práce

**Korelace molekulárně-genetických a morfologických znaků vzácných
nádorů slinných žláz**

**Correlation of molecular-genetic and morphological markers of rare
salivary gland tumors**

Petr Šteiner

Plzeň 2018

Obor patologie

Doktorská dizertační práce byla vypracována v prezenční formě doktorského studijního programu D4PA5145 PATOLOGIE na Šiklově ústavu patologie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni.

- Uchazeč: **Mgr. Petr Šteiner**
Šiklův ústav patologie LF UK, Plzeň
- Předseda oborové rady: **prof. MUDr. Alena Skálová, CSc.**
Šiklův ústav patologie LF UK, Plzeň
- Školitelka: **prof. MUDr. Alena Skálová, CSc.**
Šiklův ústav patologie LF UK, Plzeň
- Oponenti: **Doc. MUDr. Jan Laco, Ph.D.**
Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN, Hradec Králové
- RNDr. Radek Šíma, Ph.D.**
Parazitologický ústav BC AVČR, České Budějovice

Autoreferát byl rozeslán dne: _____

Obhajoba dizertační práce před komisí pro obhajobu dizertačních prací studijního programu D4PA5145 PATOLOGIE se koná **dne 11.6.2018 v 13:00 hodin v přednáškovém sále Bioptické laboratoře s.r.o.** v ulici Rejskova 10 v Plzni.

S dizertační prací je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Husova 3, 30100 Plzeň.

Obsah

Úvod	4
Abstrakt	7
Summary	8
Cíle práce.....	9
Materiál a metodika	10
Výsledky	11
Závěr.....	12
Literatura.....	13
Přehled publikační činnosti	16
Přehled přednáškové aktivity.....	19

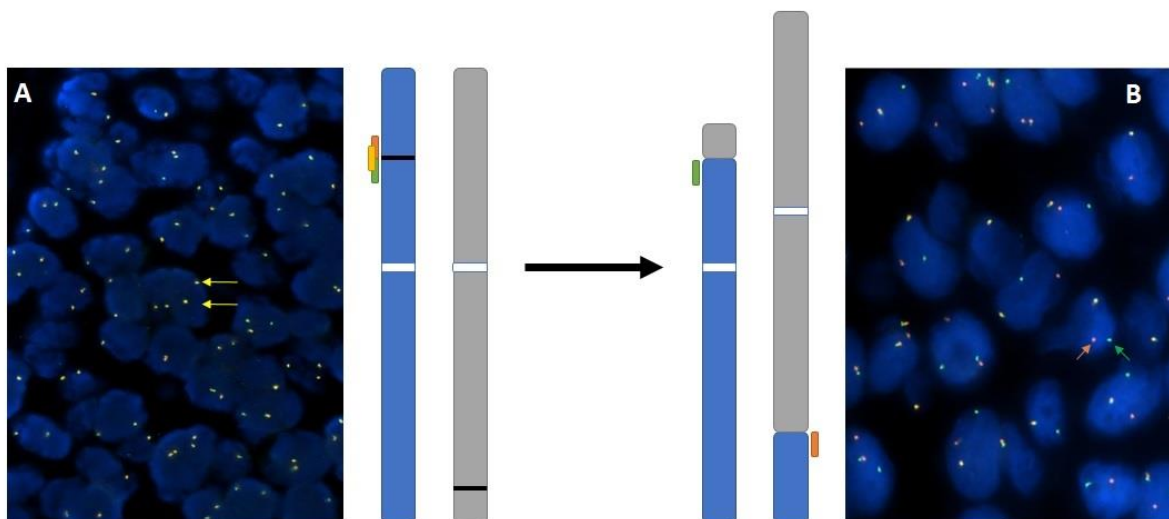
Úvod

Nádory slinných žláz jsou morfoloicky velmi heterogenní a variabilní nádorovou skupinou s častým strukturálním a cytologickým překryvem mezi jednotlivými nádorovými jednotkami. Nádory slinných žláz se vyskytují velmi vzácně s incidencí 5-10 nových případů/ 100 tis. obyvatel, představují asi 6 % nádorů v oblasti hlavy a krku a kolem 0,3 % všech malignit. Nádory slinných žláz postihují jak velké slinné žlázy (příušní, podčelistní a podjazykovou), tak malé slizniční žlázy dutiny ústní, sinonasálního a zažívacího traktu [1, 2]. Mnohé salivární karcinomy jsou nízce maligní, a lze je vyléčit chirurgicky, ale vyskytují se i velmi agresivní primární nádory jako je salivární duktální karcinom, karcinom ex pleomorfní adenom nebo adenoidně cystický karcinom. Vzhledem k morfoloické variabilitě a vzácnosti nádorů slinných žláz byla diferenciatní diagnostika založená především na histologické klasifikaci vždy velkým dilematem.

Metody molekulární diagnostiky mají v patologii slinných žláz jak diferenciatně diagnostický význam, tak slouží v klasifikaci některých karcinomů, protože mnohé translokace jsou specifické pro určitou nádorovou jednotku. Objevy translokací a fúzních onkogenů, které jsou jejich produktem, změnily přístup ke klasifikaci salivárních karcinomů a do značné míry i diagnostické a interpretační postupy. Některé translokace byly nalezeny především v low-grade primárních karcinomech slinných žláz na základě morfoloické analogie s nádory nesalivárního původu nesoucími identické translokace. Tímto způsobem byla objevena například translokace $t(12;15)(p13;q25)$ s fúzním transkriptem *ETV6-NTRK3* u sekrečního karcinomu mamárního typu (mammary analogue secretory carcinoma, MASC) [3], která je identická u morfoloicky blízkého sekrečního karcinomu prsu [4] a *EWSR1-ATF1* $t(12;22)$ u hyalinizujícího světlobuněčného karcinomu shodná s některými nádory měkkých tkání [5].

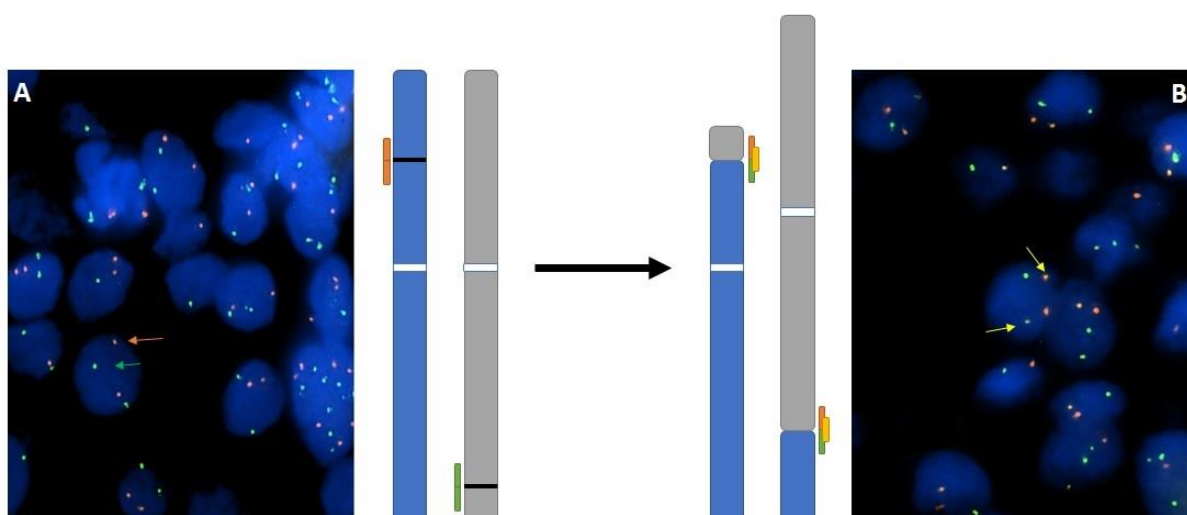
Použití různých zlomových sond z chromosomové oblasti, ve které byla pozorována přestavba pomocí cytologických metod, vedla k identifikaci konkrétních fúzních genů, čehož bylo využito k charakterizaci fúze *MYB-NFIB* u translokace $t(6;9)(q22-23;p23-24)$ adenoidně cystického karcinomu (AdCC) [6] nebo *CRTC1-MAML2* u $t(11;19)(q21;p13)$ mukoepidermoidního karcinomu [7, 8].

Mezi metody, které umožňují detekci specifických translokací, patří především rutinně používané RT-PCR a FISH. V poslední době stále výrazněji také varianty sekvenování nové generace (next generation sequencing - NGS). RT-PCR je zkratkou pro „reverse transcription-polymerase chain reaction“. RNA je zpětně přepsána do komplementární cDNA, která je pak amplifikována za použití primerů nasedajících okolo předpokládaného zlomového místa. Nevýhodou metody je nutná znalost přesné sekvence místa zlomu pro správný design primerů. FISH – flouorescenční in-situ hybridizace slouží k identifikaci specifických úseků DNA pomocí in-situ hybridizace s flouorescenčně značenou sondou. K detekci translokací lze využít tzv. „break apart“ sond, kdy je jedna část sondy cílena k 5' části (značena např. oranžovou barvou) genu, druhá k 3' části genu (značena např. zelenou barvou). Takto lze nepřímou usuzovat na translokaci zjištěním právě zlomů v zúčastněných genech. V negativním případě jsou v mikroskopu vidět 2 složené oranžovo-žluto-zelené signály na jádro (**obr. 1A**), v pozitivním případě jeden složený signál ze zdravé alely a jeden oranžový a zelený signál ze zlomené alely (**obr. 1B**). Přímý



Obrázek 1 – **A.** Negativní „break apart“ sonda reprezentovaná dvěma složenými oranžovo-žluto-zelenými signály. **B.** Pozitivní „break apart“ sonda reprezentovaná jedním složeným oranžovo-žluto-zeleným signálem ze zdravé alely a separátním oranžovým a zeleným signálem ze zlomené alely.

průkaz translokace pomocí FISH je možný za užití fúzní sondy, kdy jedna část sondy překrývá jednoho fúzního partnera a druhá druhého. V negativním případě lze pozorovat 2 separátní oranžové a 2 zelené signály (**obr. 2A**), v pozitivním případě pak lze vidět 1-2 komplexní oranžovo-žluto-zelené signály v pozitivních jádrech (**obr. 2B**).



Obrázek 2 – **A.** Negativní „dual fusion“ sonda reprezentovaná dvěma složenými oranžovo-žluto-zelenými signály. **B.** Pozitivní „dual fusion“ sonda reprezentovaná jedním separátním oranžovým a zeleným signálem ze zdravých alel a 1-2 složenými oranžovo-žluto-zelenými signály jako průkaz fúze.

Nové možnosti v současnosti přináší NGS, které umožňuje detekci kompletní sekvence studované nukleové kyseliny včetně určení míry kvantifikace nukleových kyselin. NGS tím svým způsobem nahrazuje jak klasické Sangerovo sekvenování, tak

array-komparativní genomovou hybridizací (array-comparative genome hybridization – aCGH), která slouží k určení početních chromosomálních změn ve studovaném genomu z DNA, tak v případě využití cDNA (reverzně-transkribovaná RNA) včetně detekce míry exprese studovaných RNA a detekci fúzních genů. Mezi další výhody NGS patří též možnost cíleně studovat pouze konkrétní geny, což je oproti sekvenování celých genomů a transkriptomů finančně úspornější varianta, které lze dosáhnout po izolaci nukleové kyseliny, a případném přepsání RNA do cDNA, obohacením oblastí zájmu amplifikací či vychytáváním pomocí hybridizace.

Cíleným RNA sekvenováním byla v naší laboratoři v nedávné době nalezena vzácně se vyskytující fúze *ETV6-RET* u případů MASC negativních na fúzi *ETV6-NTRK3*, ale pozitivních na zlom *ETV6* [9], dále například fúze *NCOA4-RET* a *TRIM27-RET* u intraduktálního karcinomu slinných žláz, což bylo zatím publikováno jako předběžné sdělení na Kongresu amerických a kanadských patologů USCAP 2018 ve formě abstraktu [10].

Adenoidně cystický karcinom (AdCC) je se svojí 10% četností u nádorů slinných žláz druhým nejčastějším salivárním karcinomem. AdCC je charakteristický svým intra- a perineurálním šířením vyskytujícím se až v 80% případů [11] a svým pomalým růstem. Přestože je řazen mezi low-grade karcinomy, je jeho typickým projevem dlouhý klinický průběh, opakované recidivy a vysoké riziko rozvoje pozdních vzdálených metastáz. Z dlouhodobého hlediska se jedná o jeden z nejagresivnějších a nejméně předvídatelných nádorů hlavy a krku, vyznačující se vysokou mortalitou ve střednědobém horizontu [2]. Důležitým mezníkem pro diagnostiku AdCC bylo objevení a identifikace translokace t(6;9)(q22-23;p23-24) vyúsťující ve fúzi transkripčních faktorů *MYB* a *NFIB* [6, 12]. V principu díky této fúzi dochází ke stabilní expresi MYB. Té je nejčastěji dosaženo ztrátou jeho 3' nepřekládané oblasti, která je fyziologicky cílena různými miRNA pro umlčení jeho exprese [6]. Díky rozvoji NGS metodik, byla u *MYB-NFIB* negativních případů nalezena fúze genů *MYBL1-NFIB* a to hned dvěma skupinami v témže roce a dále minoritní fúze genů *YTHDF3* a *RAD51B* s *MYBL1* genem, genů *XRCC4*, *NKAIN2*, *PTPRD* a *AIG1* s genem *NFIB* [13, 14]. Mutační analýzy zjistily nízkou frekvenci mutací u AdCC. Nalezené mutace se týkaly především genu *SPEN*, jehož mutace byly nazeleny u 21 % analyzovaných AdCC a dále mutace zasahující NOTCH signální dráhu patřily mezi nejčastěji pozorované [15].

Sekreční karcinom mamárního typu (mammary analogue secretory carcinoma – MASC) byl v naší laboratoři identifikován jako nový typ salivárního karcinomu v roce 2010 [3] a přijat novou WHO klasifikací v roce 2017 [2]. Pro MASC je typická translokace t(12;15)(p13;q25) vedoucí k fúzi genů *ETV6* a *NTRK3* [16, 17]. MASC je obvykle indolentní, ale lokoregionální recidivy a vzdálené metastázy byly též pozorovány. Důležitý je především vzácný výskyt high-grade transformace, který může vyústit ve smrt v souvislosti s onemocněním [18, 19]. Správná diagnostika MASC a určení fúze *ETV6-NTRK3*, eventuálně *ETV6-RET* jsou nutné k potenciální indikaci cílené biologické léčby inhibitory *NTRK3* (např. entrectinib) u agresivních nebo neresekovatelných forem karcinomu [20-22].

Abstrakt

Doktorská dizertační práce se zabývá vztahem mezi histomorfologickými a molekulárně genetickými nálezy u vybraných nádorů slinných žláz. Autor se jako molekulárně-cytogenetický pracovník ve své práci zaměřoval především na využívání detekce translokací jako diferenciálně diagnostických markerů u karcinomů slinných žláz. Dizertační práce je komentovaným souborem vlastních publikací autora a je rozdělena do 4 částí.

V první části jsou publikace prohlubující znalosti o adenoidně cystickém karcinomu. Bylo prokázáno, že translokace t(6;9)(q22-23;p23-24) vyúsťující ve fúzi transkripčních faktorů *MYB-NFIB*, nebo translokace t(8;9) vyúsťující ve fúzi *MYBL1-NFIB* představují robustní diferenciálně diagnostický marker adenoidně cystického karcinomu. Dále bylo prokázáno, že vzhledem k statisticky významně nižšímu přežívání pacientů se ztrátou lokusu 1p36, může tato delece sloužit jako marker nepříznivé prognózy onemocnění.

Druhá část shrnuje práce zabývající se sekrečním karcinomem mamárního typu (MASC), který byl v naší laboratoři prioritně popsán jako nová jednotka, vyznačující se výskytem translokace t(12;15)(p13;q25) s fúzí genů *ETV6-NTRK3*. Dalším prioritním pozorováním je popis nové fúze *ETV6-RET* u menší části případů MASC. Nově byly popsány první dva případy MASC vycházející ze žlázek v nosní sliznici.

Třetí část tvoří přehledové články, z nichž jeden prvoautorský se zabývá detailním popisem molekulárně-genetických metod používaných ke studiu salivárního adenoidně cystického karcinomu. Další dva spoluautorské shrnují poznatky o biologickém chování, morfologii, prognostice a molekulární-genetice vybraných salivárních karcinomů, především u jednotek vykazujících charakteristické translokace.

Ve čtvrté části je komentována práce zabývající se vztahem mezi zlomem *EWSR1* genu a histomorfologií vybraných salivárních nádorů s převažující světlobuněčnou komponentou. Zlom *EWSR1* se vyskytuje ve spektru nádorových jednotek a není specifický pro hyalinizující světlobuněčný karcinom malých slinných žláz.

Summary

This thesis deals with the relationship between histomorphological and molecular-genetic findings of selected salivary gland tumors. The author, as a molecular-cytogeneticist, mainly focused on the detection of tumor-specific translocations of the salivary gland tumors which can serve as differential diagnostic markers. The thesis is composed of the author's own publications, and it is divided into four parts.

The first part deepens the knowledge of salivary adenoid cystic carcinoma. It was proved that $t(6;9)(q22-23;p23-24)$ resulting in fusion of transcription factors *MYB-NFIB*, or more rarely $t(8;9)$ resulting in *MYBL1-NFIB* fusion represent robust differential diagnostic markers of adenoid cystic carcinoma. Further, it was proved that the 1p36 deletion can serve as an unfavorable prognostic indicator of adenoid cystic carcinoma, as the patients with 1p36 deletion had significantly lower survival.

The second part summarizes new developments about mammary analogue secretory carcinoma (MASC), which was described by our group as a new salivary tumor entity characterized by translocation $t(12;15)(p13;q25)$ resulting in *ETV6-NTRK3* fusion. Another novel observation is the discovery of *ETV6-RET* fusion in a subset of MASC cases. Further, the first two MASCs of nasal mucosa origin have been described.

The third part consists of review articles. One of them deals with the description of molecular-genetic methods used to study adenoid cystic carcinoma. The latter two articles summarize the knowledge of biological behavior, morphology, prognostics and molecular-genetics of salivary gland carcinomas carrying diagnostic translocations.

In the last section, we comment on the paper dealing with the relationship of *EWSR1* gene break and histomorphology of selected salivary gland carcinomas with a predominant clear cell component. *EWSR1* break occurs in a spectrum of tumor entities, and it is not specific for hyalinizing clear cell carcinoma of small oral salivary gland origin as originally expected.

Cíle práce

Předložená doktorská dizertační práce se zabývá především „translokačními karcinomy slinných žláz“ a je členěna do čtyř částí. V první části bude diskutována problematika adenoidně cystického karcinomu, v druhé části se práce zabývá sekrečním karcinomem mamárního typu (MASC), třetí část shrnuje publikované přehledové články a ve čtvrté části uvádíme publikaci studující význam *EWSR1* rearanže u vybraných salivárních karcinomů.

V případě adenoidně cystického karcinomu (AdCC) se jednalo o lepší charakterizaci fúzí zahrnujících geny *MYB*, *NFIB* a *MYBL1* jako diagnostických markerů a detekci delece lokusu 1p36 jako potenciálního prognostického markeru.

U sekrečního karcinomu mamárního typu (MASC) bylo cílem detekovat fúzi *ETV6-NTRK3*, která je mezi salivárními karcinomy specifickým markerem této jednotky, dále identifikaci případů, kde byl prokázán zlom genu *ETV6* s intaktním genem *NTRK3* a nalezení nového potenciálního fúzního partnera u těchto *ETV6-X* případů a v neposlední řadě detekovat fúzi *ETV6-NTRK3* u sekrečních karcinomů mamárního typu neobvyklých lokalizací pro potvrzení jejich diagnosy.

Dále bylo cílem ověřit specifitu a tím také diagnostický potenciál přestavby *EWSR1* genu pro hyalinizující světlobuněčný karcinom proti jemu histolomorfologicky podobným jednotkám se světlobuněčnou komponentou.

Materiál a metodika

Materiál ve formě parafinových bloků byl vybrán především z registru nádorů Šiklova ústavu patologie a Bioptické laboratoře s.r.o. v Plzni, ale též od spolupracujících zahraničních pracovišť.

K dosažení cílů bylo využito celé spektrum metod od klasického barvení histologických řezů hematoxylinem-eosinem, imunohistochemická barvení, po molekulárně-genetické metody, především fluorescenční in situ hybridizaci, dále reverzně-transkripční PCR a varianty sekvenování nové generace.

Součástí některých studií byly též klinické údaje pacientů a statistická analýza dat.

Výsledky

V průběhu studia bylo dosaženo několika prioritních pozorování a publikačních výstupů. V případě adenoidně cystického karcinomu naše práce přispěly k lepší charakterizaci translokací zahrnujících geny *MYB*, *NFIB* a *MYBL1*, dále k identifikaci prvního prognostického markeru – delece lokusu 1p36, k identifikaci miRNA, které by mohly sloužit jako diferenciálně diagnostické, popř. prognostické markery AdCC a k popsání prvních případů s přestavbou *MYBL1* u kožních adenoidně cystických karcinomů. V případě sekrečního karcinomu mamárního typu byly identifikovány nové případy vykazující klasickou přestavbu *ETV6* genu, byly prioritně popsány případy, kde *ETV6* fúzuje s jiným fúzním partnerem než *NTRK3*, posléze k identifikaci fúzního partnera - genu *RET* a nakonec byly publikovány první dva případy sekrečního karcinomu v nosní sliznici. Dále došlo k sepsání celkem tří přehledových článků a nakonec ke zjištění, že detekci přestavby *EWSR1* genu nelze použít jako specifického diagnostického markeru hyalinizujícího světlobuněčného karcinomu slinných žláz, ale že molekulární nálezy musí být interpretovány vždy v korelaci s histomorfologií daného tumoru.

Závěr

Celkem bylo sepsáno 14 publikací, z toho 2 prvoautorské články (jeden v časopise s impakt faktorem), 12 spoluautorských článků (z toho 9 v časopisech s faktorem impaktu - IF) a dalších osm publikací nesouvisejících s tématem dizertační práce.

Literatura

1. Neville BW, Allen CM, Damm DD, Chi AC. *Oral and maxillofacial pathology*. 3rd edition, Saunders, 2009, 473-477.
2. Stenman G, Licitra L, Said-Al-Naeief N, van Zante A, Yarbrough WG. Adenoid cystic carcinoma. in *World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours* Ed. El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ. IARC Press, Lyon, 2017, pp. 164-165.
3. Skálová A, Vanecek T, Sima R, Laco J, Weinreb I, Perez-Ordóñez B, Starek I, Geierova M, Simpson RH, Passador-Santos F, Ryska A, Leivo I, Kinkor Z, Michal M. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands, containing the ETV6-NTRK3 fusion gene: a hitherto undescribed salivary gland tumor entity. *Am J Surg Pathol* 2010; 34(5): 599-608.
4. Tognon C, Knezevich SR, Huntsman D, Roskelley CD, Melnyk N, Mathers JA, Becker L, Carneiro F, MacPherson N, Horsman D, Poremba C, Sorensen PH. Expression of the ETV6-NTRK3 gene fusion as a primary event in human secretory breast carcinoma. *Cancer Cell* 2002; 2(5): 367-376.
5. Antonescu CR, Katabi N, Zhang L, Sung YS, Seethala RR, Jordan RC, Perez-Ordóñez B, Have C, Asa SL, Leong IT, Bradley G, Klieb H, Weinreb I. EWSR1-ATF1 fusion is a novel and consistent finding in hyalinizing clear-cell carcinoma of salivary gland. *Genes Chromosomes Cancer* 2011; 50(7): 559-570.
6. Persson M, Andrén Y, Mark J, Horlings HM, Persson F, Stenman G. Recurrent fusion of MYB and NFIB transcription factor genes in carcinomas of the breast and head and neck. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(44): 18740-18744.
7. Tonon G, Modi S, Wu L, Kubo A, Coxon AB, Komiya T, O'Neil K, Stover K, El-Naggar A, Griffin JD, Kirsch IR, Kaye FJ. t(11;19)(q21;p13) translocation in mucoepidermoid carcinoma creates a novel fusion product that disrupts a Notch signaling pathway. *Nat Genet* 2003; 33(2): 208-213.
8. Martins C, Cavaco B, Tonon G, Kaye FJ, Soares J, Fonseca I. A study of MECT1-MAML2 in mucoepidermoid carcinoma and Warthin's tumor of salivary glands. *J Mol Diagn* 2004; 6(3): 205-210.
9. Skalova A, Vanecek T, Martinek P, Weinreb I, Stevens TM, Simpson RHW, Hycza M, Rupp NJ, Baneckova M, Michal M, Slouka D, Svoboda T, Metelkova A, Etebarian A, Pavelka J, Potts SJ, Christiansen J, Steiner P. Molecular Profiling of Mammary Analog Secretory Carcinoma Revealed a Subset of Tumors Harboring a Novel ETV6-RET Translocation: Report of 10 Cases. *Am J Surg Pathol* 2018; 42(2): 234-246.
10. Skálová A, Laco J, Uro-Coste E, Martinek P, Thompson LD, R, Badoual C, Santana T, Miesbauerová M, Vaněček T, Michal M. Molecular profiling of intraductal carcinoma of parotid gland revealed a subset of tumors harboring a NCOA4-RET and novel TRIM27-RET fusions: report of 3 cases. USCAP 2018. Vancouver, Canada, 2018.

11. Amit M, Binenbaum Y, Trejo-Leider L, Sharma K, Ramer N, Ramer I, Agbetoba A, Miles B, Yang X, Lei D, Bjørndal K, Godballe C, Mücke T, Wolff KD, Eckardt AM, Copelli C, Sesenna E, Palmer F, Ganly I, Patel S, Gil Z. International collaborative validation of intraneural invasion as a prognostic marker in adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Head Neck* 2015; 37(7): 1038-1045.
12. Nordkvist A, Mark J, Gustafsson H, Bang G, Stenman G. Non-random chromosome rearrangements in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Genes Chromosomes Cancer* 1994; 10(2): 115-121.
13. Mitani Y, Liu B, Rao PH, Borra VJ, Zafereo M, Weber RS, Kies M, Lozano G, Futreal PA, Caulin C, El-Naggar AK. Novel MYBL1 Gene Rearrangements with Recurrent MYBL1-NFIB Fusions in Salivary Adenoid Cystic Carcinomas Lacking t(6;9) Translocations. *Clin Cancer Res* 2016; 22(3): 725-733.
14. Brayer KJ, Frerich CA, Kang H, Ness SA. Recurrent Fusions in MYB and MYBL1 Define a Common, Transcription Factor-Driven Oncogenic Pathway in Salivary Gland Adenoid Cystic Carcinoma. *Cancer Discov* 2016; 6(2): 176-187.
15. Stephens PJ, Davies HR, Mitani Y, Van Loo P, Shlien A, Tarpey PS, Papaemmanuil E, Cheverton A, Bignell GR, Butler AP, Gamble J, Gamble S, Hardy C, Hinton J, Jia M, Jayakumar A, Jones D, Latimer C, McLaren S, McBride DJ, Menzies A, Mudie L, Maddison M, Raine K, Nik-Zainal S, O'Meara S, Teague JW, Varela I, Wedge DC, Whitmore I, Lippman SM, McDermott U, Stratton MR, Campbell PJ, El-Naggar AK, Futreal PA. Whole exome sequencing of adenoid cystic carcinoma. *J Clin Invest* 2013; 123(7): 2965-2968.
16. Skalova A. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary gland origin: an update and expanded morphologic and immunohistochemical spectrum of recently described entity. *Head Neck Pathol* 2013; 7 Suppl 1: S30-36.
17. Stenman G. Fusion oncogenes in salivary gland tumors: molecular and clinical consequences. *Head Neck Pathol* 2013; 7 Suppl 1: S12-19.
18. Skálová A, Vanecek T, Majewska H, Laco J, Grossmann P, Simpson RH, Hauer L, Andrie P, Hosticka L, Branžovský J, Michal M. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands with high-grade transformation: report of 3 cases with the ETV6-NTRK3 gene fusion and analysis of TP53, β -catenin, EGFR, and CCND1 genes. *Am J Surg Pathol* 2014; 38(1): 23-33.
19. Luo W, Lindley SW, Lindley PH, Krempel GA, Seethala RR, Fung KM. Mammary analog secretory carcinoma of salivary gland with high-grade histology arising in hard palate, report of a case and review of literature. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(12): 9008-9022.
20. Chi HT, Ly BT, Kano Y, Tojo A, Watanabe T, Sato Y. ETV6-NTRK3 as a therapeutic target of small molecule inhibitor PKC412. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 429(1-2): 87-92.
21. Tognon CE, Somasiri AM, Evdokimova VE, Trigo G, Uy EE, Melnyk N, Carboni JM, Gottardis MM, Roskelley CD, Pollak M, Sorensen PH. ETV6-NTRK3-mediated breast epithelial cell

transformation is blocked by targeting the IGF1R signaling pathway. *Cancer Res* 2011; 71(3): 1060-1070.

22. Drilon A, Li G, Dogan S, Gounder M, Shen R, Arcila M, Wang L, Hyman DM, Hechtman J, Wei G, Cam NR, Christiansen J, Luo D, Maneval EC, Bauer T, Patel M, Liu SV, Ou SH, Farago A, Shaw A, Shoemaker RF, Lim J, Hornby Z, Multani P, Ladanyi M, Berger M, Katabi N, Ghossein R, Ho AL. What hides behind the MASC: clinical response and acquired resistance to entrectinib after ETV6-NTRK3 identification in a mammary analogue secretory carcinoma (MASC). *Ann Oncol* 2016; 27(5): 920-926.

Přehled publikační činnosti

1. Hes O, Vanecek T, Petersson F, Grossmann P, Hora M, Perez Montiel DM, **Steiner P**, Dvořák M, Michal M. Mutational Analysis (c.402C>G) of the *FOXL2* gene and Immunohistochemical Expression of the FOXL2 protein in Testicular Adult Type Granulosa Cell Tumors and Incompletely Differentiated Sex Cord Stromal Tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2011; 19(4):347-51. **IF: 1,630**
2. Petersson F, Vanecek T, Michal M, Martignoni G, Brunelli M, Halbhuber Z, Spagnolo D, Kuroda N, Yang X, Cabrero IA, Hora M, Branzovsky J, Trivunic S, Kacerovska D, **Steiner P**, Hes O. A distinctive translocation carcinoma of the kidney, “rosette forming“, t(6;11), HMB45 positive renal tumor: a histomorphologic, immunohistochemical, ultrastructural and molecular genetic study of 4 cases. *Human Pathol*. 2011; 43(5): 726-36. **IF: 2,876**
3. Grossmann P, Vanecek T, **Steiner P**, Kacerovska D, Spagnolo DV, Cribier B, Rose C, Vazmitel M, Carlson JA, Emberger M, Martinek P, Pearce RL, Pearn J, Michal M, Kazakov DV. 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 histopathological findings in 379 biopsy specimens. *Am J Dermatopathol*. 2013; 35(1): 34-44. **IF: 1,426**
4. **Steiner P**, Hora M, Stehlik J, Martinek P, Vanecek T, Petersson F, Michal M, Korabecna M, Travnicek I, Hes O. Tubulocystic renal cell carcinoma: is there a rational reason for targeted therapy using angiogenic inhibition? Analysis of seven cases. *Virchows Arch*. 2013; 462(2): 183-192. **IF: 2,560**
5. Majewska H, Skálová A, Stodulski D, Klimková A, **Steiner P**, Stankiewicz C, Biernat W. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands: a new entity associated with ETV6 gene rearrangement. *Virchows Arch*. 2015; 466(3): 245-254. **IF: 2,613**
6. Skálová A, Weinreb I, Hyrcza M, Simpson RH, Laco J, Agaimy A, Vazmitel M, Majewska H, Vanecek T, Talarčík P, Manajlovic S, Losito SN, **Šteiner P**, Klimkova A, Michal M. Clear cell myoepithelial carcinoma of salivary glands showing EWSR1 rearrangement: molecular analysis of 94 salivary gland carcinomas with prominent clear cell component. *Am J Surg Pathol*. 2015; 39(3): 338-348. **IF: 4,951**
7. Skálová A, Vanecek T, Simpson RH, Laco J, Majewska H, Baneckova M, **Steiner P**, Michal M. Mammary Analogue Secretory Carcinoma of Salivary Glands: Molecular Analysis of 25 ETV6 Gene Rearranged Tumors With Lack of Detection of Classical ETV6-NTRK3 Fusion Transcript by Standard RT-PCR: Report of 4 Cases Harboring ETV6-X Gene Fusion. *Am J Surg Pathol*. 2015; 40(3): 3-13. **IF: 4,951**

8. Skálová A, Sar A, Laco J, Metelková A, Misbauerová M, **Šteiner P**, Švajdler M, Michal M. The Role of SATB2 as a Diagnostic Marker of Sinonasal Intestinal-type Adenocarcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016; 26(2): 140-146. **IF: 1,553**

9. Hauer L, Skálová A, **Šteiner P**, Hrušák D, Andrlé P, Hostička L, Sebera O. Adenoidně cystický karcinom slinných žláz. Soubor 27 pacientů. *Česká Stomatologie* 2016; 116(3): 57-65.

10. Broz M, **Steiner P**, Salzman R, Hauer L, Starek I. The incidence of MYB gene breaks in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands and its prognostic significance. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky* 2016; 160(3): 417-422.

11. Skálová A, **Šteiner P**, Vaněček T. New developments in molecular diagnostics of carcinomas of the salivary glands: "translocation carcinomas". *Cesk Patol*. 2016; 52(3): 139-45.

12. Korabecna M, Geryk J, Hora M, **Steiner P**, Seda O, Tesar V. Genome-Wide methylation analysis of tubulocystic and papillary renal cell carcinomas. *Neoplasma* 2016; 63(3): 402 – 10.

13. Korabecna M, **Steiner P**, Jirkovská M. DNA from microdissected tissues may be extracted and stored on microscopic slides. *Neoplasma* 2016; 63(4): 518 - 22.

14. Michal M, Kazakov DV, Agaimy A, Hosova M, Michalova K, Grossmann P, **Steiner P**, Skenderi F, Vranic S, Michal M. Whorling cellular perineuroma: A previously undescribed variant closely mimicking monophasic fibrous synovial sarcoma. *Ann Diag. Pathol* 2017; 27: 74 – 78. **IF: 1,734**

15. Michal M, Kazakov DV, Hadravsky L, Michalova K, Grossmann P, **Steiner P**, Vanecek T, Renda V, Suster S, Michal M. Lipoblasts in Spindle Cell and Pleiomorphic Lipomas: a Close Scrutiny. *Hum Pathol*. 2017; 65: 140 - 146. **IF: 3,014**

16. Skalova A, Vanecek T, Martinek P, Weinreb I, Stevens TM, Simpson RH, Hycza M, Rupp NJ, Baneckova M, Michal M Jr., Slouka D, Svoboda T, Metelkova A, Etebarian A, Pavelka J, Potts SJ, Christiansen J, **Steiner P**, Michal M. Molecular profiling of mammary analogue secretory carcinoma revealed a subset of tumors harboring a novel ETV6-RET translocation: report of 10 cases. *Am J Surg Pathol*. 2017; 42: 234 - 246. **IF: 4,592**

17. Skalova A, Stenman G, Simpson RHW, Hellquist H, Slouka D, Svoboda T, Bishop J, Hunt JL, Nibu K-I, Rinaldo A, Poorten VV, Devaney KO, **Steiner P**, Ferlito A. The Role of Molecular Testing in the Differential Diagnosis of Salivary Gland Carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2017; 42(2): e11 – e27. **IF: 4,592**

18. Šteiner P, Pavelka J, Vaněček T, Misbauerová M, Skálová A. Metody detekce molekulárních prognostických a prediktivních markerů v diagnostice adenoidně cystického karcinomu slinných žláz. *Cesk Patol*. 2018; [v tisku].
19. Andreasen S, Tan Q, Agander TK, Steiner P, Bjørndal K, Høgdal E, Larsen SR, Erentaite D, Olsen CH, Ulhøi BP, von Holstein SL, Wessel I, Heegaard S, Homøe P. Adenoid Cystic Carcinoma of the Salivary Gland, Lacrimal Gland, and Breast are Morphologically and Genetically Similar but have Distinct microRNA Expressional Profiles. *Mod Pathol* 2018; [v tisku]. **IF: 5,728**
20. Kazakov DV, Kyrpychova L, Martinek P, Grossmann P, Steiner P, Vanecek T, Pavlovsky M, Bencik V, Michal M, Michal M. ALK Gene Fusions in Epithelioid Fibrous Histiocytoma: A Study of 14 Cases, With New Histopathological Findings. *Am J Dermatopathol* 2018; [v tisku]. **IF: 1,426**
21. Kyrpychova L, Vanecek T, Grossmann P, Martinek P, Steiner P, Hadravsky L, Belousova IE, Shelekhova KV, Svaidler M, Michal M, Kazakov DV. A small subset of adenoid cystic carcinoma of the skin is associated with alterations of the *MYBL1* gene similar to their extracutaneous counterparts. *Am J Dermatopathol* 2018; [v tisku]. **IF: 1,426**
22. Michalova K, Steiner P, Alaghebandan R, Trpkov K, Martinek P, Grossmann P, Perez Montiel D, Sperga M, Suster S, Straka L, Prochazkova K, Cempirkova D, Horava V, Bulimbasic S, Pivovarcikova K, Daum O, Ondic O, Rotterova P, Michal M, Hes O. Papillary Renal Cell Carcinoma with Cytologic and Molecular Genetic Features of Renal Oncocytoma: Analysis of 10 Cases. *Ann Diag Pathol* 2018; [v tisku]. **IF: 1,734**
23. Andreasen S, Tan Q, Klitmøller Agander T, Hansen van Overeem T, Steiner P, Bjørndal K, Høgdall E, Rosenkilde Larsen S, Erentaite D, Holkmann Olsen C, Parm Ulhøi B, Heegaard S, Wessel I, Homøe P. MicroRNA dysregulation in adenoid cystic carcinoma of the salivary gland in relation to prognosis and gene fusion status: A cohort study. *Virchows Arch*. 2018; [v tisku]. **IF: 2,848**
24. Baneckova M, Agaimy A, Andreasen S, Vanecek T, Steiner P, Slouka D, Svoboda T, Miesbauerova M, Michal M Jr, Skalova A. Mammary analogue secretory carcinoma of the sinonasal tract. *Am J Surg Pathol* 2018; [v tisku]. **IF: 4,592**
25. Šteiner P, Andreasen S, Grossmann P, Hauer L, Vaněček T, Miesbauerová M, Santana T, Kiss K, Slouka D, Skálová A. Prognostic significance of 1p36 locus deletion in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Virchows Arch*. 2018; [v tisku]. **IF: 2,848**
26. Ronen S, Aguilera-Barrantes I, Giorgadze T, Šteiner P, Grossmann P, Suster S. Polymorphous Sweat Gland Carcinoma: An Immunohistochemical and Molecular Study. *Am J Dermatopathol* 2018; [v tisku]. **IF: 1,426**

Přehled přednáškové aktivity

- 2017 Prognostický význam delece lokusu 1p36 u adenoidně cystického karcinomu slinných žláz
(konference DNA Diagnostiky Plzeň)
- 2017 Prognostický význam delece lokusu 1p36 u adenoidně cystického karcinomu slinných žláz
(57. Studentská vědecká konference LF UK v Plzni)
- 2017 Využití SureFish sond v nádorové cytogenetice
(Workshop: Novinky v instrumentaci Agilent Technologies Praha)
- 2016 Molecular genetic analysis of adenoid cystic carcinoma of the salivary gland
(13th International Medical Postgraduate Conference LF UK Hradec Králové)
- 2016 Molekulárně genetická analýza adenoidně cystického karcinomu slinných žláz.
(56. Studentská vědecká konference LF UK v Plzni)