

UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Hradci Králové

**PILOVITÉ LÉZE GASTROINTESTINÁLNÍHO TRAKTU A VÝZNAM VÝSKYTU
PILOVITÝCH ZMĚN VE SLIZNICI PACIENTŮ S IDIOPATICKÝM STŘEVNÍM
ZÁNĚTEM**

Kateřina Kamarádová

Autoreferát disertační práce
Doktorský studijní program: Patologie

Hradec Králové
2019

Disertační práce byla vypracována v rámci *kombinovaného* studia doktorského studijního programu Patologie na Fingerlandově ústavu patologie Lékařské fakulty v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové.

Autor: MUDr. Kateřina Kamarádová
Fingerlandův ústav patologie
Lékařská fakulta v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Školitel: prof. MUDr. Jan Laco, Ph.D.
Fingerlandův ústav patologie
Lékařská fakulta v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Školitel konzultant: -

Oponenti: **prof. MUDr. Markéta Hermanová, Ph.D.**
I. ústav patologie, Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity
a Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno

prof. MUDr. Jiří Ehrmann, Ph.D.
Ústav klinické a molekulární patologie
Lékařská fakulta Univerzity Palackého a
Fakultní nemocnice Olomouc

Obhajoba se bude konat před Komisí pro obhajoby OR Patologie dne 20. 11. 2019 v seminární místnosti Fingerlandova ústavu patologie, budova 5, Fakultní nemocnice Hradec Králové od 9:30 hod.

Tato práce vznikla za podpory grantu MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906), PROGRES Q40/11 a projektů BBMRI-CZ LM2015089 a BBMRI-CZ EF16 013/0001674

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy, Šimkova 870, 500 03 Hradec Králové (tel. 495 816 134).
Prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D.

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací v doktorském studijním programu Patologie.
Garant studijního programu.

Obsah

1. Souhrn	1
2. Summary.....	2
3. Úvod do problematiky.....	3
3.1. Idiopatické střevní záněty, IBD-dysplázie a rizika rozvoje karcinomu	3
3.2. PILOVITÉ LÉZE GASTROINTESTINÁLNÍHO TRAKTU	4
3.3. Kolorektální karcinom	4
3.4. Pilovité léze u IBD-pacientů	6
4. Cíle disertační práce.....	9
5. Materiál a metodika.....	10
6. Výsledky	13
6.1. Charakteristiky souboru a typy lézí	13
6.1.1. Morfologie a vztahy zastižených slizničních lézí	18
6.1.2. Charakteristiky IBD-asociovaných karcinomů.....	20
6.2. Imunohistochemické výsledky	24
6.3. Molekulární výsledky	24
7. Diskuze.....	29
8. Závěry vlastní práce.....	34
9. Použitá literatura.....	35
10. Přehled publikační činnosti autora	39
Původní vědecké práce v impaktovaném časopise	39
Ostatní práce v impaktovaném časopise (především přehledové, metodické, kazuistické).....	40
Původní vědecké práce v recenzovaném neimpaktovaném časopise	40
Ostatní práce v recenzovaném neimpaktovaném časopise:	40
Přednášky na odborných setkáních:.....	41
Plakátová sdělení na odborných setkáních:	43

1. Souhrn

Pacienti s idiopatickým střevním zánětem mají zvýšené riziko vzniku kolorektálního karcinomu. IBD-asociovaná dysplázie je považována za konvenční prekurzor pro IBD-asociovaný adenokarcinom. (1–2) U pacientů s IBD jsou však popisovány i jiné nekonvenční slizniční změny s pilovitou a vilózní hypermucinózní morfologií, ale jejich preneoplastický potenciál není zcela objasněn. (3–4)

Cílem studie byla retrospektivní revize vzorků od pacientů s IBD se zaměřením na detekci různých typů slizničních změn včetně nekonvenčních lézí a zhodnocení jejich vztahu a imunohistochemických a molekulárních vlastností. Revize zahrnovala chirurgické anebo endoskopické vzorky od pacientů s diagnózou IBD vyšetřené v průběhu 10leté periody. Zastižené slizniční léze byly rozděleny do 3 skupin. Do skupiny 1 byly zařazeny nekonvenční léze (PPL), do skupiny 2 pravé pilovité polypy a do skupiny 3 IBD-dysplázie a kolorektální karcinom. Detailní morfologické hodnocení, imunohistochemické vyšetření exprese mismatch repair proteinů a/nebo MLH1, p53 a O⁶-methylguanine DNA metyltransferázy (MGMT) a molekulární vyšetření mutačního stavu genů *KRAS*, *NRAS* a *BRAF* bylo provedeno ve všech detekovaných lézích.

V rámci studie byly revidovány vzorky celkem od 309 pacientů. U 51 pacientů jsme zastihli 88 slizničních lézí. Nejčastější byly léze ze skupiny 1. Pilovitá epiteliální změna (SEC) byla detekována ve 41 vzorcích (46,6 %) a vilózní hypermucinózní změna v 6 vzorcích (6,8 %). Léze ze skupiny 1 (PPL) byly charakterizovány ztrátou exprese MGMT v 44,6 % případů, aberantní expresí p53 a mutacemi genu *KRAS* v 42,9 % případů. Skupinu 2 tvořilo 15 pravých pilovitých polypů. Skupinu 3 tvořilo šest IBD-dysplázií a 11 kolorektálních karcinomů (KRK). IBD-dysplázie vykazovala aberantní expresi p53 v polovině případů. IBD-asociované karcinomy byly morfologicky heterogenní s aberantní expresí p53 v 54,5 % případů. U sedmi případů KRK byla prokázána mutace genu *KRAS/NRAS* a v jednom případě genu *BRAF*. Šest lézí ze skupiny 1 bylo sdruženo s invazivním karcinomem a 2 z těchto lézí sdílely s karcinomem shodnou mutaci. U 19 pacientů jsme našli více lézí z různých skupin.

Výsledky této práce potvrzují existenci slizničních změn odlišných od konvenční IBD-dysplázie a rozšiřují znalosti o jejich imunohistochemických a molekulárních vlastnostech i jejich vztahu ke karcinomu. Povědomí o těchto lézích je nutné v rámci prevence jejich poddiagnostikování vzhledem k jejich potenciální roli v IBD-asociované kancerogenezi.

2. Summary

Serrated lesions of gastrointestinal tract and significance of serrated changes in mucosa of inflammatory bowel disease patients

Patients with inflammatory bowel disease (IBD) have an elevated risk of developing colorectal carcinoma (CRC). IBD-dysplasia is regarded as a conventional precursor for IBD-associated carcinoma. (1–2) Other types of non-conventional mucosal changes with serrated and villous hypermucinous morphology have also been reported but their preneoplastic potential is still not well elucidated. (3–4)

The aim of the study was to retrospectively review samples from IBD patients focusing on detection of mucosal lesions including non-conventional lesions and evaluate their relationship and immunohistochemical and molecular properties. Surgical specimens and/or endoscopic biopsy samples of IBD patients examined during a 10-year period were reviewed. Mucosal lesions were divided into three groups - group 1 of non-conventional lesions, group 2 of true serrated polyps, and group 3 of IBD-dysplasia and colorectal carcinoma. Detailed morphological evaluation, immunohistochemical analysis of mismatch repair proteins and/or MLH1, p53 and O⁶-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) expression, and molecular analysis for *KRAS*, *NRAS* and *BRAF* gene mutation was performed in all lesions. Overall, samples from 309 IBD patients were reviewed. A total of 88 mucosal lesions were found in 51 patients. Most common were lesions from group 1 with serrated epithelial change seen in 41 samples (46.6 %) and villous hypermucinous change in 6 (6.8 %). Lesions from group 1 were characterized by loss of MGMT expression in 44.6 %, aberrant p53 expression, and by mutations in *KRAS* gene in 42.9 % of cases. Group 2 consisted of 15 true serrated polyps. Six conventional IBD-dysplasias and 11 carcinomas were seen in group 3. IBD-dysplasia was characterized by aberrant p53 expression in half of the cases. IBD-associated carcinomas were morphologically heterogenous and characterized aberrant p53 expression in 54.5% of cases. Seven CRC cases harbored mutation of *KRAS/NRAS* and one case of *BRAF* gene. Six lesions from group 1 were associated with invasive carcinoma and two of them shared the same mutation. More than one type of lesion from different groups was found in 19 patients. Our results prove the existence of mucosal changes other than conventional IBD-dysplasia in mucosa of IBD patients and extend the knowledge about their immunohistochemical and molecular properties and relation to carcinoma. Awareness of these changes is necessary to prevent their missing and under-reporting due to their potential role in IBD-related carcinogenesis.

3. Úvod do problematiky

3.1. IDIOPATICKÉ STŘEVNÍ ZÁNĚTY, IBD-DYSPLÁZIE A RIZIKA ROZVOJE KARCINOMU

Idiopatické střevní záněty (inflammatory bowel disease, IBD) představují skupinu chronických zánětlivých onemocnění, která postihují především střevní sliznici a zahrnují dvě hlavní diagnostické jednotky, ulcerózní kolitidu (UC) a Crohnovu chorobu (CD). (1) Ulcerózní kolitida postihuje především sliznici tlustého střeva s iniciálním postižením rekta a vzestupným šířením zánětu orálním směrem. Crohnova choroba představuje diskontinuální a transmurální zánět postihující jak tenké střevo (s predilekcí v terminálním ileu), tak tlusté střevo ve formě tzv. skip lézí (střídání nepostižených a postižených úseků střeva). (1, 5–8) V obou případech, ovšem s predominancí u UC, je dlouhodobě zánětlivě iritovaná a regenerující sliznice ohrožena akumulací genetických změn a rozvojem neoplázie, včetně rizika vzniku KRK, a to v závislosti na délce trvání onemocnění a na rozsahu postižení střeva. (9–11) Starší studie udávaly celkovou prevalenci KRK u IBD až 3,7 % a kumulativní riziko po 30 letech trvání IBD až 18 %. (12) Pravidelná endoskopická i histologická kontrola a lepší detekce suspektních změn ve sliznici vede patrně ke snížení roční incidence IBD-asociovaného KRK, nicméně je stále vyšší než riziko pro běžnou populaci. (13–14)

Uznávanou prekurzorovou lézí pro IBD-asociovaný kolorektální karcinom je dysplázie střevního epitelu. Obecně IBD dysplázie připomíná dysplázii v tubulárních adenomech střeva nekolitických pacientů a morfologicky tak splňuje obecná kritéria pro dysplázii dle definice Riddel et al. z roku 1983, dle které dysplázie představuje jednoznačně neoplastický epitel bez známek invaze do lamina propria sliznice. (15)

Histologicky se nyní užívá název IBD dysplázie a slizniční léze se dělí do čtyř kategorií: 1 – bez dysplázie; 2 – nález neurčitý pro dysplázii; 3. dysplázie nízkého stupně (low-grade, LGD) a 4. dysplázie vysokého stupně (high-grade, HGD) viz Obr. 1. (5–6, 16–17) Podle platných doporučených postupů je nutné odlišit diferenciatně diagnostické situace mezi regenerativním epitelem bez jasné dysplázie (tedy negativní pro dysplázii), regenerativní změny s atypii (neurčitý pro dysplázii), IBD dysplázií a sporadickým konvenčním adenomem. Odlišení regenerativních atypií může být někdy v terénu chronického zánětu problematické. (1) Rozlišení IBD dysplázie od konvenčního adenomu může být obdobně obtížné jako předchozí situace a důležité je i rozlišení low-grade a high-grade dysplázie z důvodu odlišných rizik pro rozvoj KRK. U pacientů s HGD především v plochých nebo neviditelných lézích byl prokázán

synchronní nebo časně navazující karcinom až u 42–67 % případů (8) Některé studie se ve snaze o zlepšení diagnostiky zaměřují na identifikaci pomocných vyšetření pro detekci IBD-dysplázie a odlišení od nedysplastického epitelu nebo sporadických adenomů. Nejvíce studovaným vyšetřením je imunohistochemická detekce exprese p53 v dysplastickém epitelu kopírující genetické změny při rozvoji IBD dysplázie. Aberantní exprese p53 je nicméně detekována pouze v části případů dysplázie, může být zastižena i v malém procentu regenerativních změn a je nutné tedy takové vyšetření interpretovat s vysokou obezřetností. (7) Celkově je nicméně rozlišení tíže dysplázie, typu léze (sporadický adenom versus dysplázie u IBD) a regenerativních změn zásadní pro rozhodování ohledně dalšího terapeutického postupu, včetně určení četnosti kontrolních endoskopických vyšetření, nebo pro rozhodování o následné chirurgické léčbě včetně profylaktické kolektomie, která je indikována u pacientů s detekovanou high-grade IBD dysplázií. (5–6, 7) (

3.2. PILOVITÉ LÉZE GASTROINTESTINÁLNÍHO TRAKTU

Pilovité neboli serrated léze gastrointestinálního traktu představují heterogenní skupinu lézí charakterizovaných pilovitým nebo hvězdovitým uspořádáním žlázové epiteliální komponenty v podélném, resp. příčném řezu. Hlavní skupinu pilovitých lézí představují pravé pilovité polypy, v současné době definované dle stále platné WHO klasifikace pro nádory gastrointestinálního traktu (18) Pravé pilovité polypy rozdělujeme v současné době na tři hlavní kategorie: 1. hyperplastický polyp (HP); 2. sesilní pilovitý polyp/adenom (SSA/P) a 3. tradiční pilovitý adenom (TSA). Toto rozdělení pilovitých polypů bylo oficiálně zakotveno až ve WHO klasifikaci tumorů gastrointestinálního traktu z roku 2010. (18)

Druhou, početně menší skupinu tvoří pouze slizniční změny s pilovitým vzhledem, které ale nesplňují kritéria pro pravé polypy. V rámci gastrointestinálního traktu je jim v současné době věnována větší pozornost u pacientů s idiopatickými střevními záněty (IBD), a to včetně studia jejich možného nádorového potenciálu. Tato skupina tzv. nekonvenčních slizničních lézí obsahuje hlavní dvě léze pojmenované ve studiích nejčastěji jako pilovitá epiteliální změna (serrated epithelial change, SEC) a vilózní hypermucinózní změna.

3.3. KOLOREKTÁLNÍ KARCINOM

Kolorektální karcinom je jednou z nejčastějších onkologických diagnóz v České republice (ČR) a celosvětově je ČR na 6. místě v incidenci tohoto onemocnění. Ročně je v ČR téměř 8000 nových případů. (19) I přes aktivní screeningový program a sledování rizikových pacientů,

včetně pacientů s IBD, je diagnostikováno přes 60 % pacientů s KRK ve vyšších klinických stádiích (II–IV) s relativním kumulativním pětiletým přežitím dosahujícím 56 %. (19) Pětileté přežití pacientů je nejhorší pro stadium IV (11,5 %), pro stadium III je 53,5 %, pro stadium II je 73,2 % a nejlepší je pro stadium I – 86,5 %. (20) Morfologie patří mezi základní definující parametr diagnózy karcinomu. Jednotlivé histologické podtypy karcinomu jsou hodnoceny podle dosud platné Klasifikace nádorů gastrointestinálního traktu Světové zdravotnické organizace vydané v roce 2010 (WHO 2010). (18) Nejčastějším histologickým typem je adenokarcinom, blíže nespecifikovaný (NOS), s charakteristickým glandulárním, resp. tubulárním růstem.

Molekulárně je pak definováno několik drah vedoucích ke vzniku kolorektálního karcinomu, ve kterých lze odlišit tři hlavní změny dle úrovně, na které vznikají. Jedná se o **1. chromozomální instabilitu** s mutacemi v genech jako *APC*, *PTEN*, *DPC4*, *KRAS/NRAS* nebo *BRAF*; o **2. mikrosatelitní nestabilitu** s mutacemi v mikrosatelitních nukleotidových repetitivních sekvencích různých genů a s nefunkčním systémem zodpovědným za opravu drobných mutací v DNA, tzv. mutation mismatch-repair genech (MMR), z nichž hlavní geny (a přidružené funkční proteiny) jsou *MLH1*, *PMS2*, *MSH2* a *MSH6* a o **3. hypermetylace CpG ostrůvků** (CIMP) nejčastěji tumor supresorových genů, která vede ke snížení transkripce genu a ztrátě funkce daného genu resp. jeho proteinu. Methylace CpG ostrůvků může být také příčinou ztráty funkce genu *MLH1*. (21–22) V rámci daných drah obvykle převažuje jeden typ genetických změn, které se ale vzájemně nevylučují a kombinace změn, tedy chromozomální či mikrosatelitová nestabilita anebo genové hypermetylace je možná. (21–23)

U pacientů s idiopatickým střevním zánětem je sliznice z dlouhodobého hlediska vystavena vysokému oxidačnímu stresu z důvodu trvající zánětlivé aktivity. Dlouhodobá aktivace signálních drah jako dráha cyclooxygenázy-2 (COX2) nebo nukleárního faktoru kappaB (NF-kB) vede k zesílení produkce prozánětlivých faktorů a vyššímu oxidačnímu stresu a zároveň aktivaci anti-apoptotické signalizace. Oxidativní poškození DNA a DNA metylace může vést k inhibici tumor supresorových proteinů jako je např. p53. Dalšími prokarcinogenními faktory jsou aneuploidie nebo rozvoj mikrosatelitní nestability. (24) Mikrosatelitní nestabilita i chromozomální nestabilita mohou být navíc prokázány již ve sliznici bez dysplastických změn, a to především u pacientů s UC. (24–25) Rozvoj mikrosatelitní nestability navíc u pacientů s IBD opět vzniká na základě vyššího oxidačního stresu a poškozením reaktivními kyslíkovými radikály. Dalším faktorem je hypermetylace genů, resp. jejich promotorů, která u

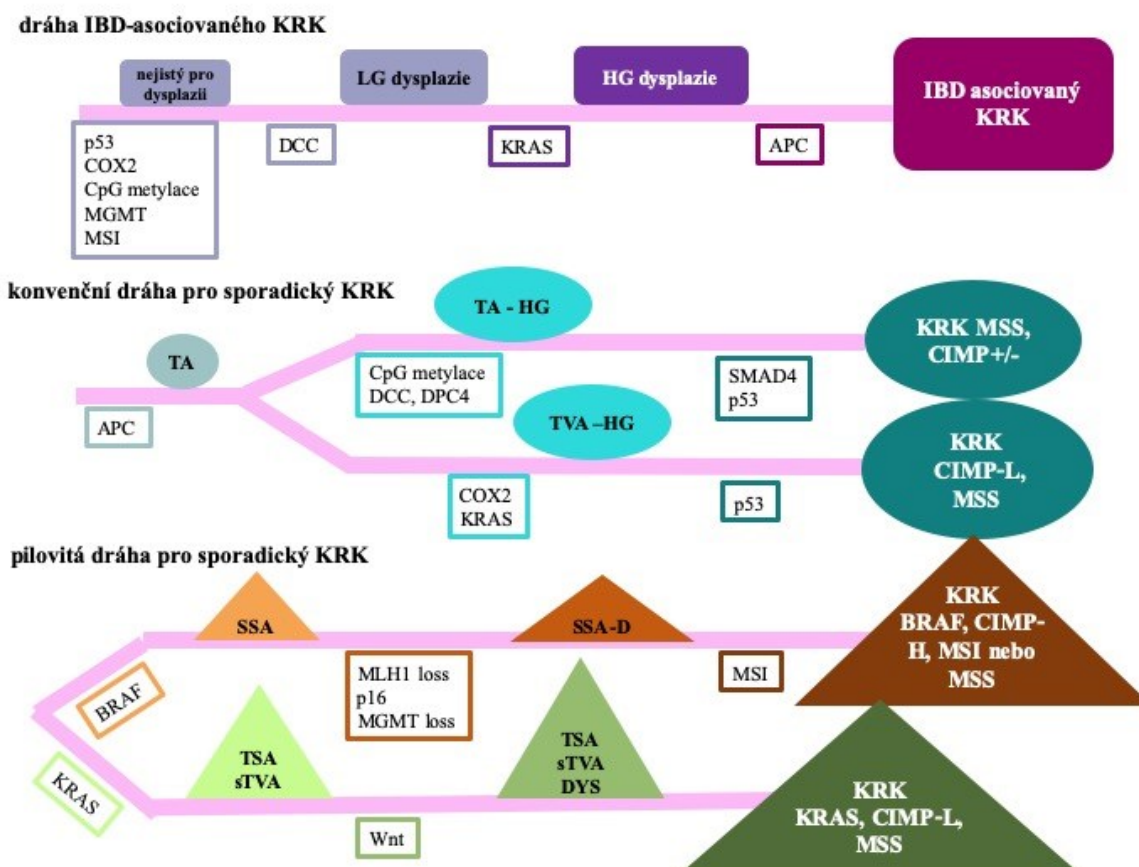
IBD pacientů postihuje jednak gen *MLH1* (a představuje tedy jednu z cest k mikrosatelitní nestabilitě) a dále geny jako *MGMT*, *RUNX3* atd. Stejně jako u sporadických adenomů a karcinomů jsou pak u IBD-asociovaného karcinomu přítomny změny v genech jako *APC*, *TP53*, *bcl2* nebo *KRAS*, ale v rozdílné míře a často s jiným načasováním výskytu v rámci kancerogeneze.

Kancerogeneze u IBD probíhá tedy v morfologické sekvenci chronický zánět – IBD dysplázie – karcinom. Mezi první genetické změny ve sliznici patří hypermetylace *MGMT* (26) a mutace v *TP53* vedoucí k aberantní expresi proteinu p53. (27–28) Mutace v *TP53* se vyskytují u 33–67 % případů dysplázie a až u 83–95 % případů IBD-asociovaného KRK. (24) Ztráta heterozygoty a mutace v genu *APC* je v rámci IBD-kancerogeneze pozorována méně často a vyskytuje se až u IBD-asociovaného karcinomu. Naopak u sporadických adenomů je mutace v genu *APC* jednou z prvních genetických změn a germinální mutace je podkladem familiární adenomatózní polypózy. U IBD pacientů nejsou mutace v genu *APC* zastiženy ani v zánětlivém epitelu ani v low-grade dysplázii. Molekulární dráhy pro rozvoj kolorektálního karcinomu u pacientů s IBD a rozdíly oproti drahám sledujícím progresi sporadického adenomu a pilovitých polypů jsou znázorněny na schématu na Obrázku 1.

3.4. PILOVITÉ LÉZE U IBD-PACIENTŮ

Výskyt pilovitých lézí u IBD pacientů je často součástí studií zaměřených na širokou kategorii všech pilovitých změn spojenou obvykle se studiem pilovité dráhy karcinogeneze a rozvojem KRK. V těchto studiích se objevují jak pravé pilovité polyp, tak léze s pilovitou nebo vilózní morfológií a měnlivou terminologií, z níž využíváme pojmenování SEC a vilózní hypermucinózní změna. Některé studie jsou zaměřeny pouze na pravé pilovité polypy a v některých jsou popisovány léze z obou kategorií.

Obr. 1: Zjednodušené schéma molekulárních drah vzniku sporadického kolorektálního karcinomu (konvenční a pilovitá cesta) a IBD-asociovaného KRK. Upraveno dle Bettington et al. (22) a Beaugerie et al. (25)



Zkratky: DYS – dysplázie; HG – high-grade; KRK – kolorektální karcinom; LG – low-grade; SSA/P – sesilní pilovitý adenoma/polyp; SSA-D – sesilní pilovitý adenoma s dysplázií; sTVA – tubulovilózní adenom s pilovitými formacemi, TA – tubulární adenom; TSA – tradiční pilovitý adenom; TVA – tubulovilózní adenom

Dosud publikované studie popisovaly obvykle léze ze skupiny HP nebo SSA/P a méně často TSA, včetně synchronního i metachronního výskytu vícečetných lézí. V některých studiích byla doplněna molekulární vyšetření a nebyl v nich prokázán rozdíl mezi nálezy u IBD a non-IBD pacientů v případě dostupné kontrolní skupiny. (29–32) Asociace s KRK byla zastižena zcela minoritně pouze u jednotlivých pacientů a pouze v některých studiích. (29–31, 33)

Nekonvenční léze u pacientů s IBD představují heterogenní skupinu lézí, které se vyskytují ve sliznici postižené zánětem, ale nespňují kritéria IBD dysplázie a nespádají ani do kategorie konvenčních adenomů ani nesplní kritéria pro pravé pilovité polypy. Nekonvenční slizniční

léze jsou u pacientů s IBD popisovány již od 80 a 90. let. Z dosud publikovaných studií lze identifikovat dvě hlavní léze, a to je vilózní hypermucinózní léze a pilovitá epiteliální přeměna (serrated epithelial change, SEC). Na první z těchto lézí upozornil již v roce 1984 Rubio et al. v sérii pacientů s dlouhotrvající ulcerózní kolitidou a lézi pojmenoval jako vilózní adenomatózní léze, resp. vilózní dysplázie. (34) Podobnou změnu následně popsali Chaubert et al. jako vilózní regenerativní změnu ve studii z roku 1994 (35), Andersen et al. následně v roce 1999 (36) a Kilgore et al. v roce 2000 u pacientů s Crohnovou chorobou. (37) V této studii byla léze pojmenována jako “hyperplastic-like” sliznice a byla zastižena jak v těsné blízkosti KRK, tak ve vzorcích mimo karcinom. (37) Ve všech těchto studiích se ale jednalo o léze s obdobnou morfológií. Vilózní i pilovitá epiteliální změna byly následně popsány Rubiem et al. v roce 2007. (3) SEC je popisována jako superficiální pilovitá změna, která nesplňuje kritéria pro pravý pilovitý polyp. (3, 38–40) Recentní studie pak zdůrazňují zvýšené riziko konkomitantní dysplázie u pacientů se SEC a zvažují možnost, že SEC představuje možný předstupeň či rizikový znak rozvoje dysplázie u IBD v budoucnosti. (4, 41)

V předkládané disertační práci jsem se zaměřila na detekci různých slizničních lézí u pacientů s idiopatickými střevními záněty, a to především na detekci lézí s pilovitou nebo vilózní morfológií a na popis jejich morfológie, vlastností i vztahu ke kolorektálnímu karcinomu.

4. Cíle disertační práce

1. Detekce slizničních prekurzorových lézí v zánětlivě změněné sliznici v resekátech a endobiopsiích pacientů s idiopatickým střevním zánětem se zaměřením na detekci nekonvenčních lézí s pilovitou a vilózní morfológií.
2. Podrobné studium nalezených lézí, jejich morfológiická, imunohistochemická a molekulární charakteristika a posouzení jejich vztahu k rozvoji dysplázie a případné progresi do invazivního adenokarcinomu.

5. Materiál a metodika

Projekt byl koncipován jako retrospektivní. Základní soubor tvořil materiál od pacientů s diagnózou IBD, jejichž vzorky byly vyšetřeny na Fingerlandově ústavu patologie Fakultní nemocnice Hradec Králové (FNHK) v desetiletém období od ledna 2006 do prosince 2016. Protože nekonvenční slizniční léze nejsou v biopsiích od IBD pacientů rutinně popisovány, nemohly být termíny jako „pilovitá epiteliální přeměna“, „vilózní hypermucinózní léze/přeměna“ apod. použity jako klíčová slova ve fulltextovém vyhledávání. Protože součástí projektu byla i identifikace IBD-asociovaných karcinomů, byly primárně vyhledávány případy disponující chirurgickým resekátem. Pro vyhledání případů byla využita kombinace klíčových slov, diagnostických kódů a vnitroustavního číselného diagnostického kódovacího systému (Vortelova kartotéka). Tímto způsobem byl sestaven základní soubor pacientů, u kterých byly následně v laboratorním informačním systému vyhledány i přidružené endoskopické bioptické vzorky získané v rámci dlouhodobého sledování.

Veškerý získaný materiál byl mikroskopicky revidován včetně ověření diagnózy IBD. Diagnóza IBD byla stanovena dle platných histopatologických kritérií u všech pacientů buď na základě předchozí endoskopické biopsie, nebo ve vlastním chirurgickém resekátu. (5–8) U každého pacienta byl zaznamenán věk, pohlaví, věk v době diagnózy IBD, délka trvání onemocnění a typ IBD (ulcerózní kolitida, Crohnova choroba nebo indeterminovaná kolitida).

U pacientů s IBD-asociovaným kolorektálním karcinomem (KRK) byl zaznamenán i věk v době diagnózy karcinomu, obvykle shodný s věkem v době resekce. Diagnóza, morfologický typ adenokarcinomu a grade nádoru byly stanoveny podle platné WHO klasifikace nádorů gastrointestinálního traktu (GIT) z roku 2010. (18) U všech karcinomů byla dále zaznamenána lokalizace nádoru, morfologie, patologický staging a potenciální prognostické faktory jako invaze do krevních a lymfatických cév, perineurální šíření, typ nádorové hranice (tumor border configuration) a nádorový budding. Nádorový budding byl hodnocen podle doporučení mezinárodní konsenzuální konference (International Tumor Budding Consensus Conference, ITBCC). (42) Podle počtu „buds“ byl výsledek zařazen do kategorie Bd1 (0–4), Bd2 (5–9) nebo Bd3 (nad 10). (42)

Všechna histologická skla z resekátů i z přidružených endoskopických biopsií byla pečlivě revidována a v každém řezu bylo pátráno jak po IBD dysplázii, tak po dalších slizničních změnách se zaměřením na pilovitou epiteliální přeměnu (SEC) a vilózní hypermucinózní

přeměnu. Z důvodu převahy chirurgických resektátů nebylo možné u větší části lézí zaznamenat lokalizaci zastižené léze. Pro další imunohistochemické a molekulární vyšetření byly vybrány případy, ve kterých byla zastižena jak konvenční slizniční léze včetně adenokarcinomu, tak nekonvenční slizniční změny. Parafinové bloky pro další vyšetření byly dostupné ve všech případech.

Ve všech studovaných vzorcích bylo provedeno imunohistochemické vyšetření markerů MLH1, p53 a MGMT. Pro slizniční léze byla vybrána detekce MLH1 především z důvodu podpory detekce případné progresse nebo dysplázie v těchto lézích dle studie Liu et al. v pravých pilovitých polypech. (43) Ve vzorcích s adenokarcinomem bylo doplněno vyšetření dalších markerů ze skupiny mismatch repair proteinů (MMR), jmenovitě MSH2, PMS2 a MSH6.

Jaderná exprese MLH1 byla hodnocena jako pozitivní. Ztráta exprese v jádrech nádorových buněk byla hodnocena jako negativní. V případě hodnocení exprese všech MMR proteinů v karcinomu, byl nádor buď vyhodnocen tzv. jako MMR proficientní (MMRp) v případě zachované jaderné exprese všech čtyř MMR markerů (MLH1, PMS2, MSH2, MSH6). Nádor byl vyhodnocen jako MMR deficientní (MMRd) při ztrátě jaderné exprese v nádorových buňkách kteréhokoliv ze čtyř MMR markerů. Exprese p53 byla hodnocena jako normální (korespondující s wild-type stavem genu), pokud byla patrná slabá (1+) nebo středně (2+) intenzivní nepravidelně rozložená pozitivita. V případě silné difúzní 3+ exprese anebo při kompletní ztrátě barvení byl výsledek hodnocen jako aberantní resp. tzv. mutační typ. Hodnocena byla pouze jaderná exprese MGMT o různé intenzitě a přiděleným skóre 0 – žádné barvení, 1 – slabé barvení, 2 – středně intenzivní barvení a 3 – silné barvení. Výsledek barvení MGMT byl hodnocen jako přítomný (pozitivní) při skóre 2 nebo 3 nebo jako nepřítomný (negativní) při skóre 0 nebo 1. Hodnocení bylo provedeno podle metodiky autorů Svrcek et al. (25) Ztráta exprese MGMT byla stanovena, pokud více než 50 % buněk vykazovalo skóre 0/1.

Vyšetření mutačního stavu genů *KRAS*, *NRAS* a *BRAF* bylo provedeno ve vzorcích obsahujících slizniční dysplastickou nebo nekonvenční PPL lézi a kolorektální karcinom. U endoskopických vzorků byly použity celé řezy obsahující vyšetřovanou lézi. U části vzorků z chirurgických resektátů byla v případně menší léze provedena makrodisekce v parafinovém řezu. Pro molekulární vyšetření byly zhotoveny histologické nebarvené řezy o tloušťce 5 µm. U endoskopických vzorků byly použity celé řezy obsahující vyšetřovanou lézi. U části vzorků z chirurgických resektátů byla v případně menší léze provedena makrodisekce v parafinovém řezu

dle označení na barveném skle k docílení vyššího poměru studované tkáně ve studovaném vzorku vůči zdravé tkáni. Pro izolaci DNA byl použit isolační kit MagCore Genomic DNA FFPE One-Step Isolation kit (Rbc Bioscience, New Taipei, Taiwan) a automatický extraktor nukleových kyselin MagCore HF 16. Množství extrahované DNA bylo změřeno za pomoci kitu dsDNA Broad Range Assay Kit (Invitrogen Qubit, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA). Po izolaci DNA byly pro vyšetření mutačního stavu genů *KRAS* a *NRAS* byl použit detekční kity AmoyDx[®] *KRAS* and *NRAS* Mutation Detection Kit (Amoy Diagnostics) a *BRAF* StripAssay (ViennaLab Diagnostics, Vienna, Austria).

Statistická analýza pomocí chí-kvadrát (χ^2 , MS Excel) testu byla použita pro porovnání distribuce lézí mezi typy IBD (UC versus Crohnova choroba) a pro zhodnocení četnosti výskytu *KRAS* a *BRAF* mutace v nekonvenčních lézích.

6. Výsledky

6.1. CHARAKTERISTIKY SOUBORU A TYPY LÉZÍ

V rámci rešerše laboratorního informačního systému bylo nalezeno 309 pacientů s diagnózou IBD a chirurgickým resekatem. Celkem u 153 pacientů byly v archivu nalezeny další kontrolní endoskopické vzorky a celkově jsme byli schopni zrevidovat 547 případů. Celkem u 51 pacientů z celého revidovaného souboru (16,5 %) jsme zastihli některou z hledaných slizničních lézí. Tato skupina pacientů byla tvořena 26 muži a 25 ženami. Ulcerózní kolitida byla diagnostikována ve 27 případech a Crohnova choroba ve 24 případech. Průměrný věk v době diagnózy IBD pro tuto skupinu byl 39 ± 15 let (rozmezí 7–79 let, medián 38 let) a průměrná doba trvání onemocnění byla $10,3 \pm 10,3$ let (rozmezí 0–45 let, medián 7 let). Základní charakteristiky celého revidovaného souboru i souboru se slizničními lézemi jsou shrnuty v Tabulce 1.

V celém revidovaném souboru pacientů jsme identifikovali 11 případů IBD-asociovaného KRK. Základní diagnóza ulcerózní kolitidy byla diagnostikována u 8 pacientů a Crohnovy choroby u 3 pacientů. Jednalo se o 6 žen a 5 mužů s věkovým rozmezím 26–79 (medián 42 let; průměr 45 ± 15 let). U většiny pacientů byl karcinom diagnostikován po delší době od stanovení základní diagnózy IBD. U dvou pacientů (případ 4 a 11) byla diagnóza IBD i KRK stanovena ze stejného resekcčního materiálu a u dvou pacientů (případy 1 a 10) byla IBD diagnostikována pouze 10 resp. 13 měsíců před stanovením diagnózy KRK. Deskriptivní charakteristiky pro skupinu pacientů s KRK jsou uvedeny samostatně v Tabulce 2.

Celkově jsme u 51 pacientů zachytili 88 slizničních lézí, které byly nalezeny v 78 vzorcích. Studované slizniční léze bylo následně možné rozdělit do 3 kategorií:

- 1. nekonvenční slizniční léze** (předpokládané prekurzorové léze, PPL, celkem 56 z 88 lézí u 42 pacientů) jako pilovitá epiteliální změna (serrated epithelial change, SEC) a vilózní hypermucinózní změna;
- 2. pravé pilovité polypy** (15 z 88 lézí, u 11 pacientů), mezi které se řadí hyperplastický polyp (HP), sesilní pilovitý adenom/polyp (sessile serrated adenoma, SSA) a tradiční pilovitý adenom (traditional serrated adenoma, TSA)
- 3. konvenční IBD dysplázie a IBD-asociovaný adenokarcinom** (17 z 88 lézí, u 13 pacientů).

Tab. 1: Deskriptivní charakteristiky pacientů v souboru

	Všechny revidované případy N = 309 (100 %)	Podskupina pacientů se slizničními lézemi N = 51 (100 %, § 16,5 %)
Muži	156 (50,5 %)	26 (51,0 %)
Ženy	153 (49,5 %)	25 (49,0 %)
Typ IBD		
CD	263 (85,1 %)	27 (52,9 %)
UC	45 (14,6 %)	24 (47 %)
Neurčená (indeterminovaná kolitida)	1 (0,3 %)	0
Věk a trvání nemoci v letech		
Věk v době diagnózy IBD	medián 36 let (rozmezí 7–79 let)	medián 38 let (rozmezí 7–79 let)
	průměr 38 ± 16 let	průměr 39 ± 15 let
Trvání IBD v letech – dostupná data u 250 resp. 39 pacientů	medián 2 roky (rozmezí 0–45 let)	medián 7 let (rozmezí 0–45 let)
	průměr 4,5 let ± 5,9 let	průměr 10,3 ± 10,3 let

Pozn.: § – procento pacientů se slizniční lézí z celého souboru revidovaných případů

Zkratky: CD – Crohnova choroba; IBD – idiopatický střevní zánět; UC – ulcerózní kolitida; N

– počet

Tab. 2: Věk pacientů v době diagnózy IBD a kolorektálního karcinomu a doba trvání IBD do doby diagnózy malignity pro podskupinu IBD-asociovaných KRK.

Věk	Medián a rozmezí	Průměr
v době diagnózy IBD	24 let (7–79 let)	33 ±16 let
v době diagnózy KRK	42 let (26–79 let)	45 ±15 let
Trvání IBD do doby diagnózy KRK	15 let (0–31 let)	13 ±10 let

Zkratky: IBD – idiopatický střevní zánět; KRK – kolorektální karcinom

Nejčastěji zastiženými změnami byly léze ze **skupiny nekonvenčních lézí (skupina 1)**, z nichž se nejvíce vyskytovala pilovitá epiteliální přeměna (41 lézí, 46,6 %). Vilózní hypermucinózní přeměna (6 lézí, 6,9 %) a obtížně zařaditelné změny s kombinovanou pilovitou i hypermucinózní morfologií (5 lézí, 5,8 %). Nejméně častou lézí ze skupiny PPL byla pilovitá změna podobná hyperplastickému polypu (HP-like serrated change, 4 léze, 4,6 %). Celkově pak nekonvenční slizniční změny ze skupiny 1 představovaly 56 lézí (64,4 %). Ve skupině 1 (PPL) byla ze všech 56 lézí více než polovina zastižena u pacientů s UC (30 z 56 resp. 53,6 %). Většina těchto lézí byla také zastižena v terénu chronického (42,9 %) nebo aktivního zánětu (46,4 %) a pouze 6 případů (10,7 %) bylo zachyceno v části střeva, která nebyla postižena zánětem.

Skupinu 2 tvořilo 15 lézí (17,2 %) s nejčastěji zastoupeným sesilným pilovitým adenomem (SSA, 7 případů, 8 %) a druhým nejčastějším hyperplastickým polypem (6 případů, 6,9 %). TSA byl zastižen pouze ve dvou případech (2,3 %). Ve skupině 2 bylo 10 lézí zastiženo u UC, z čehož se nejčastěji jednalo o SSA (6 případů). Zbýlých 5 lézí bylo zastiženo u Crohnovy choroby, a to nejvíce v podobě HP (4 případy). Distribuce pravých pilovitých polypů v závislosti na zánětlivém pozadí byla relativně rovnoměrná.

Ve skupině 3 jsme pak zaznamenali 6 případů konvenční IBD dysplázie a 11 případů IBD-asociovaného kolorektálního karcinomu. Ve skupině 3 byla opět většina případů zastižena u ulcerózní kolitidy, a to především u případů s KRK (8 případů). Všechny dysplázie i karcinomy byly zastiženy v části střeva postižené zánětem.

Typy lézí a jejich četnost jsou shrnuty v Tabulce 3. Zastoupení jednotlivých lézí dle typu IBD, zánětlivého pozadí a vztahu ke KRK je podrobně uvedeno v Tabulce 4.

Tab. 3: Rozdělení 88 slizničních lézí do morfologických typů a skupin.

Typ léze	N	Procentuální zastopení ze všech lézí N = 88 (100 %)
Skupina 1 – PPL <i>N = 56 (u 42 pacientů); 63,6 %</i>		
Pilovitá epiteliální změna – SEC	41	46,5 %
Vilózní hypermucinózní změna	6	6,8 %
Kombinovaná pilovitá a vilózní léze	5	5,7 %
HP-like léze	4	4,5 %
Skupina 2 – Pravé pilovité polypy <i>N = 15 (u 11 pacientů); 17,1 %</i>		
HP	6	6,8 %
SSA	7	8 %
TSA	2	2,3 %
Skupina 3 – IBD–asociované neoplázie <i>N = 17 (u 13 pacientů); 19,3 %</i>		
IBD dysplázie	6	6,8 %
IBD-asociovaný KRK	11	12,5 %

Zkratky: HP – hyperplastický polyp; HP-like léze – hyperplastickému polypu podobná léze; IBD – idiopatický střevní zánět; KRK – kolorektální karcinom; N – počet; PPL – potenciální prekursorová léze; SEC – pilovitá epiteliální změna; SSA – sesilní pilovitý adenom; TSA – tradiční pilovitý adenom

Tab. 4: Vztah různých typů lézí k typu IBD, zánětlivému pozadí a KRK.

	Skupina 1 PPL N = 56	Skupina 2 Pravé pilovité polypy N = 15	Skupina 3 IBD– asociovaná neoplázie N = 17	Všechny léze N = 88
Typ IBD				
UC	30 (53,6 %, § 66,6 %) *	10 (66,7 %)	12 (70,6 %)	52 (59,1 %) #
CD	26 (46,4 %, § 9,9 %) *	5 (33,3 %)	5 (29,4 %)	36 (40,9 %) #
Typ buněčného pozadí ‡				
			IBD dysplázie N = 6	Hodnocené léze N = 77 ‡
Aktivní zánět	26 (46,4 %)	4 (26,6 %)	1 (16,7 %)	31 (40,3 %)
Chronický zánět	24 (42,9 %)	4 (26,6 %)	5 (83,3 %)	33 (42,8 %)
Nezánětlivé	6 (10,7 %)	7 (46,8 %)	0	13 (16,9 %)
Asociace s KRK † ‡				
Přilehlé ke KRK	6 (11 %, † 60 %)	1 (6,7 %)	4 (66,7 %)	11 (14,2 %)
Vzdálené od KRK	8 (14,2 %, † 80 %)	1 (6,7 %)	0	9 (11,7 %)
V kontrolní biopsii	3 (5,4 %, † 30 %)	0	0	3 (3,9 %)

Poznámka:

§ – procento případů z celého souboru 309 případů dle distribuce UC a CD

† – procento případů v rámci skupiny IBD–asociovaného KRK

‡ – procento z hodnotitelných lézí, bez KRK

* $p = 2,2 \times 10^{-27}$ porovnávací výskyt PPL v rámci UC a CD v rámci celého souboru

$p = 0,04$ pro častější výskyt jakékoliv slizniční léze v IBD typu UC než CD

Zkratky: CD – Crohnova choroba; IBD – idiopatický střevní zánět; KRK – kolorektální karcinom; N – počet; PPL – potenciální prekursorová léze; UC – ulcerózní kolitida

6.1.1. Morfologie a vztahy zastižených slizničních lézí

Pilovitá epiteliální změna (SEC) byla charakterizována variabilně vyjádřenou pilovitou přeměnou povrchové sliznice a žlázek. Léze byly obvykle přisedlé nebo lehce elevované a v některých případech tvořily drobné povrchové papilární výběžky. Pilovité změny byly zachyceny především v horní nebo střední třetině sliznice bez nápadnější dilatace žlázek při bazi. Jádra epitelí byla obvykle lehce zvětšená, oválná a vezikulární, někdy s patrnými jádérky. Nápadnější atypie a jaderná hyperchromázie suspektní z dysplázie byly nalezeny pouze ve 3 případech. Tři léze typu SEC byly asociovány s KRK ve stejném bloku a byly v těsném vztahu ke karcinomu. Osm dalších SEC lézí bylo zachyceno v jiném bloku vzdáleném od KRK a 2 SEC léze byly nalezeny v dodatečném endoskopickém bioptickém vzorku.

Vilózní hypermucinózní změna byla zastižena v 6 vzorcích a byla tvořena tenkými jemnými papilárními, resp. vilózními výběžky v jinak ploché sliznici. Papily byly lemovány cylindrickým epitelem s nápadně světlou cytoplazmou. Jádra epitelu byla obvykle menší a obvykle bazálně lokalizovaná. Přejít do dysplázie byl zastižen v jedné vilózní lézi z kontrolní endoskopické biopsie u pacienta s ulcerózní kolitidou a u jednoho pacienta přímo v sousedství KRK. Ve dvou dalších případech vilózní změny asociované s přilehlým KRK nebyla zastižena dysplázie, ale přechod vilózní léze do karcinomu byl plynulý a nádorové buňky karcinomu si zachovávaly obdobný světlý vzhled.

Pět studovaných slizničních lézí pak v morfologii kombinovalo oba růstové a buněčné vzory s fokusy pilovité přeměny podobně jako v SEC, ale epitelie vykazovaly ložiskově hypermucinózní přeměnu anebo tvorbu vilózních formací. Přesné zařazení lézí bylo obtížné a hodnoceny tedy byly samostatně jako **smíšené pilovité/hypermucinózní léze** stejně jako 4 případy lézí **podobných hyperplastickému polypu (HP-like léze)** z důvodu podobnosti s hyperplastickým polypem, ale bez splnění všech kritérií pro HP. Žádná z těchto lézí nebyla asociována s kolorektálním karcinomem.

V rámci vyšetřovaného souboru byly zastiženy všechny typy **pilovitých polypů**.

Hyperplastické polypy (6 případů) byly nejčastěji přítomny v dodatečných endoskopických vzorcích a v nezánětlivém pozadí (4 ze 6). Sesilní pilovitý adenom (SSA, 7 případů) byl zastižen jak v zánětlivém (aktivním i chronickém) pozadí (4 ze 7) tak v nezánětlivé sliznici (3 ze 7). Oba zachycené TSA byly sdruženy s dysplázií, jeden případ s low-grade dysplastickými změnami, druhý s high-grade dysplázií.

IBD dysplázie byla celkově zastižena v 6 případech. Morfologicky byla u všech lézí splněna kritéria adenomatózní dysplázie. Tři případy byly hodnoceny jako low-grade stupeň dysplastických změn. High-grade dysplázie byla popsána v dalších třech lézích, které vykazovaly i komplexní architektonické změny. Čtyři z případů IBD dysplázie byly zastiženy v přímém přechodu do invazivního karcinomu, a to včetně dvou případů low-grade dysplázie.

Léze z jednotlivých skupin byly zastiženy v různých kombinacích celkem u 19 pacientů. Zachyceny byly jak kombinace lézí ze skupiny PPL a pravých pilovitých polypů, tak kombinace PPL a IBD-dysplázie. U 8 pacientů s KRK pak byly zastiženy v různých kombinacích léze ze skupiny PPL, pravých pilovitých polypů i prekurzorové dysplázie. Výskyt jednotlivých kombinací lézí včetně pacientů s IBD-asociovaným KRK je shrnut v Tabulce 5. Pro pacienty s KRK je pak ještě doplněno schématické zobrazení na Obr. 2.

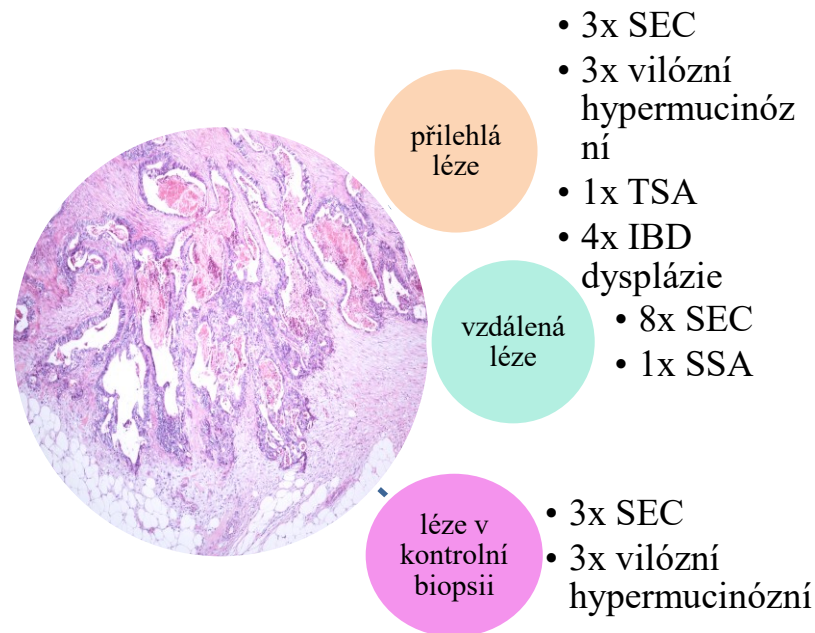
Tab. 5: Kombinace různých typů lézí v případě nálezu u jednoho pacienta.

Typy lézí v kombinaci	Počet pacientů s danou kombinací*	Typ materiálu
SEC + SSA	4	různé biopsie
SEC + HP	1	různé biopsie
SEC + KRK	8	3x přilehlá léze, 8x vzdálená léze, 3x v dodatečné biopsii
vilózní hypermucinózní + TSA	1	různé biopsie
vilózní hypermucinózní + IBD-dysplázie	1	různé biopsie
vilózní hypermucinózní + KRK	3	3x přilehlá léze, 3x v dodatečné biopsii
SEC + vilózní hypermucinózní + KRK	2*	1x přilehlá léze, 1x v dodatečné biopsii
SEC + IBD-dysplázie + KRK	3*	SEC jako léze v dodatečné biopsii

* pacienti s trojkombinací jsou zahrnuti i v součtu dvojkombinace (SEC + KRK, vilózní hypermucinózní + KRK)

Zkratky: HP – hyperplastický polyp; IBD – idiopatický střevní zánět; KRK – kolorektální karcinom; N – počet; PPL – potenciální prekurzorová léze; SEC – pilovitá epiteliální změna; SSA – sesilní pilovitý adenom; TSA – tradiční pilovitý adenom

Obr. 2: Zjednodušené schéma vztahu různých slizničních lézí ke KRK popsaných u pacientů s IBD–asociovaným karcinomem.



Zkratky: IBD – idiopatický střevní zánět; SEC – pilovitá epiteliální změna; SSA – sesilní pilovitý adenom; TSA – tradiční pilovitý adenom

6.1.2. Charakteristiky IBD-asociovaných karcinomů

V rámci samostatného hodnocení byly karcinomy podrobně definovány, klinické charakteristiky jsou popsány v Tabulce 6. Přestože všechny případy spadaly do morfologické kategorie blíže neurčeného adenokarcinomu tlustého střeva (adenocarcinoma, NOS - not otherwise specified), vykazovaly jednotlivé případy výraznou vnítronádorovou heterogenitu. Podrobné histomorfologické charakteristiky jsou uvedeny pro každý případ v Tabulce 7. Nádorový grade byl stanoven dle kritérií platné WHO Klasifikace nádorů. (18) Větší část karcinomů byla hodnocena jako grade 2 (6 z 10) s různým podílem tubulárních a kribriformních formací. Dva karcinomy byly hodnoceny jako dobře diferencované a další dva jako high-grade (grade 3) karcinomy. Oba dobře diferencované (grade 1) karcinomy sdílely podobné morfologické rysy a byly tvořeny dobře diferencovanými žlázkami s cylindrickými nádorovými buňkami se světlou cytoplazmou připomínající gastrickou foveolární diferenciaci (potvrzena částečnou imunohistochemickou expresí antigenů MUC5AC a MUC6 v nádorových buňkách – vyšetřeno pro účely publikace na jiném pracovišti). Ve 3 případech KRK byla zastižena minoritní (cca 20–30 %) komponenta vzhledu mucinózního karcinomu.

Osm případů KRK vykazovalo invazi do lymfatických cév. U všech se jednalo o tzv. extramurální typ lymfangoinvaze; u čtyř byla zároveň zastižena i intramurální lymfangoinvaze. Invaze do krevních cév byla prokázána u 3 karcinomů. U tří případů KRK bylo zjištěno výrazné perineurální šíření s prominentní infiltrace myenterického plexu. Osm karcinomů spadalo do kategorie Bd1 nádorového buddingu (0 nebo lehký stupeň) i přes infiltrativní charakter nádorové hranice. Dva případy byly hodnoceny jako střední intenzita buddingu (Bd2) a další dva případy jako vysoký stupeň buddingu (Bd3).

Tab. 6: Klinické charakteristiky pacientů s IBD-asociovaným KRK.

Případ č.	Pohlaví	Typ IBD	Věk (v době KRK, v letech)	Lokalizace KRK	Staging KRK – pTNM a klinické stadium
1	Ž	CD	29	slezinné ohbí	pT3 pN1b IIIB
2	Ž	UC	26	sestupný tračník	pT3 pN0 IIA
3	M	UC	36	rektum	pT4a pN2b IIIC
4	Ž	UC	57	příční tračník	pT4 pN1b IIIB
5	Ž	UC	42	vzestupný tračník	pT2 pN0 I
6	Ž	UC	48	rektum	pT2 pN0 I
7	M	UC	42	cékum	pT1 N1 IIIA
8	Ž	CD	31	příčný tračník	pT3 pN0 II
9	M	CD	55	slezinné ohbí	pT4a N2b IIIC
10	M	UC	52	rektum	pT3 pN0 IIA
11	M	UC	79	rektum	ypT4a ypN0 IIB

Zkratky: CD – Crohnova choroba; IBD – idiopatický střevní zánět; KRK – kolorektální karcinom; M – muž; pTNM – patologický staging tumor – node – metastasis; UC – ulcerózní kolitida; Ž – žena

Tab. 7: Histomorfologické charakteristiky IBD-asociovaných KRK.

Případ č.	Grade	Histomorfologie KRK	Cytologické vlastnosti – cytoplazma, jádra, jadérka	Morfologické markery – konfigurace nádorové hranice, Bd, LyAI, AI, Pn
1	grade 1	větší nepravidelné žlásky, světlé, gastrická diferenciacie	světlá cytoplazma, oválná a okrouhlá jádra, nenápadná jadérka	infiltrativní hranice, Bd0, LyAI ext, AI 0, Pn 0
2	grade 2	velké kribriformní žlásky	tmavě eosinofilní cytoplazma, apikální výběžky, velká jádra, nápadná jadérka	infiltrativní hranice, Bd2 (5), LyAI ext, Ai 0, Pn 0
		mucinózní komponenta (30 %)	světlá cytoplazma, menší jádra	
3	grade 3	solidně kribriformní růst, komedo nekrózy	tmavě eosinofilní cytoplazma, neuroendokrinní rysy, velká jádra s jadérky	infiltrativní hranice, Bd3 (20), LyAI int/ext, AI int/ext, Pn ext
		mucinózní komponenta (30 %)	světlá cytoplazma, malá jádra	
		špatně kohezivní (difúzní) komponenta (30 %)	světlá cytoplazma, vakuoly s hlenem, malá jádra	
4	grade 2	kribriformní růst, komedo nekrózy	cylindrické elementy s hojnou cytoplazmou, velká jádra, hrubý chromatin, misty jadérka	infiltrativní hranice, Bd2 (6), LyAI ext, Ai 0, Pn 0
5	grade 1	tubulární růst, gastrická diferenciacie (foveolární)	tmavší cytoplazma v tubulárních oblastech, světlá cytoplazma s hlenem, vesikulární jádra s jadérky	expanzivní hranice, Bd0, LyAI 0, AI 0, Pn 0
		mucinózní komponenta (20 %)	světlá cytoplazma	
6	grade 2	pilovitý a tubulopapilární růst, splývající kribriformní struktury, horizontální myenterické šíření	hojná tmavá eosinofilní cytoplazma, velká jádra s jadérky	infiltrativní hranice, Bd 0, LyAI 0, AI 0, Pn int ext myenterické

Zkratky: Ai – angioinvaze; Bd – budding; ext – extramurální; IBD – idiopatický střevní zánět; int – intramurální; KRK – kolorektální karcinom;

LyA – lymfangioinvaze; Pn – perineurální šíření; RT – radioterapie

Tab. 7: Histomorfologické charakteristiky IBD-asociovaných KRK - pokračování

Případ č.	Grade	Histomorfologie KRK	Cytologické vlastnosti – cytoplazma, jádra, jadérka	Morfologické markery – konfigurace nádorové hranice, Bd, LyAI, AI, Pn
7	grade 2	mucinózní karcinom (nad 60 %)	světlá cytoplazma, malá jádra	expanzivní hranice, Bd0, LyAI ext, přímé LU šíření, Ai ext, Pn 0
		tubulární komponenta	tmavší cytoplazma, malá jádra	
8	grade 2	malá kribriformní fomace, tubulární růst, horizontální myenterické šíření	světlá eosinofilní cytoplazma, menší tmavá jádra bez jadérek	infiltrativní hranice, Bd0, LyAI int/ext, AI 0, Pn int/ext, myenterické
9	grade 2	tmavší a světlejší kribriformní struktury, světlé solidní úseky, horizontální myenterické šíření	eosinofilní cytoplazma, vesikulární jádra s jadérky v kribriformních oblastech, světlá cytoplazma v solidních úsecích, histiocytoidní vzhled, vesikulární jádra	infiltrativní hranice, Bd1 (2), LyAI int/ext, AI ext, Pn int/ext – myenterické
	grade 3 solidní			
10	grade 2	tubulární a kribriformní růst, komedo nekrózy	tmavá cytoplazma, tmavá jádra, nenápadná jadérka	infiltrativní hranice, Bd0, LyAI int/ext, AI 0, Pn0
11	grade nelze	malé kribriformní formace, jednotlivé buňky, skóre regrese dle Dworaka 2	hojná eosinofilní cytoplazma, velká jádra s jadérky	infiltrativní hranice, Bdx (postRT), LyAI 0, AI 0, Pn 0

Zkratky: AI – angioinvaze; Bd – budding; ext – extramurální; IBD – idiopatický střevní zánět; int – intramurální; KRK – kolorektální karcinom;

LyAI – lymfangioinvaze; Pn – perineurální šíření; RT – radioterapie

6.2. IMUNOHISTOCHEMICKÉ VÝSLEDKY

Expres MLH1 byla zachována ve většině vyšetřených PPL lézích. Aberantní ztráta exprese byla zastižena pouze v jednom případě vilózní hypermucinózní změny přidružené k MMR proficientnímu KRK. Komplexní aberantní exprese p53 v rámci nekonvenčních lézí byla zastižena ve 3 případech SEC a v jedné vilózní hypermucinózní změně spojené s HGD. Ztráta exprese MGMT byla zastižena v 17 případech SEC, 4 případech vilózní hypermucinózní změny a po dvou případech HP-like změny a kombinovaných lézí. Výsledky IHC pro skupinu 1 jsou součástí Tabulky 8.

Ve skupině pravých pilovitých polypů byla patrná zachovaná exprese MLH1. Aberantní exprese v p53 byla zastižena pouze v jednom případě TSA. Ztráta exprese MGMT byla zastižena ve všech 7 případech SSA, obou TSA a u dvou případů hyperplastického polypu, což z celé skupiny PPP představovalo 73,3 %.

Expres MLH1 byla v IBD dysplázii zachována. Ve třech případech byla zastižena aberantní exprese p53 a ve dvou případech ztráta exprese MGMT. V případech KRK bylo provedeno imunohistochemické vyšetření všech 4 MMR proteinů. Ve dvou karcinomech byl prokázán MMR deficientní status. Jeden pacient vykazoval izolovanou ztrátu exprese MSH6, která byla zastižena i v přilehlé vilózní hypermucinózní změně. Druhý pacient vykazoval ztrátu ve dvojici MMR proteinů MLH1 a PMS2. Celkově u 6 případů KRK byla zastižena kompletní ztráta exprese p53 nebo silná aberantní overexpres. Ztráta exprese MGMT byla patrná v 6 případech KRK. Výsledky pro skupinu 2 a 3 jsou v Tabulce 9.

6.3. MOLEKULÁRNÍ VÝSLEDKY

V celém studovaném souboru jsme zastihli mutace ve všech třech testovaných genech. Nejčastěji mutovaným genem byl gen *KRAS*, ve skupině PPL pak signifikantně častěji v porovnání s ostatními skupinami ($p = 0,017$). Mutace v genu *KRAS* i *NRAS* byly nejčastěji zastiženy v exonu 2. Většina mutací v genu *BRAF* byla v oblasti V600E (15 případů) a V600A (4 případy). Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 10

Ve skupině PPL byla nejvíce zastižena mutace genu *KRAS*, nejčastěji v lézích typu SEC (16 případů). Mutace v genu *NRAS* byla prokázána v jedné SEC v kombinaci s mutací v genu *KRAS*. Mutace v genu *BRAF* byla zastižena nejvíce v případech SEC (6x), navíc v neobvyklé kombinaci se současnou mutací v genu *KRAS* (2 případy) anebo *NRAS* (1 případ). Výsledky molekulárního vyšetření pro skupinu 1 jsou součástí Tabulky 8 – viz výše.

Tab. 8: Výsledky imunohistochemického a molekulárního vyšetření pro nekonvenční slizniční léze (skupina 1).

	Pilovitá epiteliální změna N = 41 (100 %, \$)	Vilózní hypermucinózní změna N = 6 (100 %, \$)	Kombinovaná pilovitá a vilózní léze N = 5 (100 %, \$)	HP-like léze N = 4 (100%, \$)	Všechny PPL N = 56 (\$ 100 %)
IHC výsledky					
MGMT ztráta exprese	17 (41 %, \$ 30 %)	4 (67 %, \$ 7,1 %)	2 (40 %, \$ 3,6 %)	2 (50 %, \$ 3,5 %)	25 (\$ 44,6 %)
p53 aberantní exprese (komplexní a baze)	14 (26,9 %, \$ 19,7 %)	2 (33,3 %, \$ 3,6 %)	1 (20 %, \$ 1,8 %)	1 (25 %, \$ 1,8 %)	17 (\$ 30,4 %)
MLH1 ztráta	0	1 (16,6 %, \$ 1,8 %)	0	0	1
Molekulární výsledky					
<i>KRAS/NRAS</i> mutace*	17 (41,5 %, \$ 30,6 %)	2 (33,3 %, \$ 3,6 %)	4 (80 %, \$ 7,1 %)	1 (25 %, \$ 1,8 %)	24 (\$ 42,9 %) *
<i>BRAF</i> mutace*	6 (15 %, \$ 10,7 %)	2 (33,3 %, \$ 3,6 %)	0	1 (25 %, \$ 1,8 %)	9 (16,4 %, \$16,1 %) *
Souběžná <i>KRAS(NRAS)</i> a <i>BRAF</i> mutace	3 (7,3 %, \$ 5,3 %)	0	0	0	3 (\$ 5,3 %)

Poznámka:

\$ – procento ze všech lézí typu PPLs

* p = 0,017 pro rozdílný výskyt mutace v genu *KRAS* a *BRAF* ve skupině PPL

Zkratky: HP-like – hyperplastickému polypu podobný; IHC – imunohistochemie; N – počet; PPL – potenciální prekurzorová léze

Tab. 9: Výsledky imunohistochemického a molekulárního vyšetření v pravých pilovitých polypech (skupina 2) a IBD-asociovaných neopláziích (skupina 3).

	HP N= 6 (100 %)	SSA N = 7 (100 %)	TSA N = 2 (100 %)		IBD dysplázie N = 6 (100 %)	IBD–asociovaný KRK N = 11 (100 %)
<i>IHC výsledky</i>						
MGMT ztráta	2 (33,3 %)	7 (100 %)	2 (100 %)		2 (33,3 %)	6 (54,5 %)
p53 aberantní exprese (komplexní a baze)	1 (16,6 %)	1 (14,2 %)	2 (100 %)		3 (50 %)	6 (54,5 %)
MLH1 ztráta	0	0	0		0	0
<i>Molekulární výsledky</i>						
<i>KRAS/NRAS</i> mutace	3 (50 %)	4 (57,1 %)	2 (100 %)		4 (66,6 %)	8 (72,7 %)
<i>BRAF</i> mutace	4 (66,6 %)	4 (57,1 %)	0		0	1 (9,1 %)
<i>Souběžná KRAS(NRAS) a BRAF</i> mutace	2 (33,3 %)	2 (28,6 %)	0		0	0

Zkratky: HP – hyperplastický polyp; IBD – idiopatický střevní zánět; IHC – imunohistochemie; KRK – kolorektální karcinom; N – počet; SSA – sesilní pilovitý adenom; TSA – tradiční pilovitý adenom

Tab. 10: Typy detekovaných mutací v genech *KRAS*, *NRAS* a *BRAF*.

Gen	exon 2					exon 3	exon 4
Mutace	G12D	G13D	G12V	G12C	G12S	Q61	K117N/A146T
<i>KRAS</i> (N)	16*	12*	7	2	1	2	1
<i>NRAS</i> (N)	2 # \$	1\$	–	–	1#	–	1
	exon 15						
	V600E	V600A	V600E i V600A				
<i>BRAF</i> (N)	13	2	2				

* u jednoho případu zastižena kombinace mutací G12D a G13D v genu *KRAS*

mutace G12D a G12S v genu *NRAS* byla zastižena u stejného případu

\$ mutace G12D a G13D v genu *NRAS* byla zastižena u stejného případu

Zkratky: N – počet

Ve skupině pravých pilovitých polypů byla mutace genu *KRAS* zastižena v obou TSA, polovině HP (3x) a ve 3 ze 7 případů SSA. *BRAF* byl mutován ve 4 případech hyperplastického polypu a 4 SSA. Čtyři ze šesti případů IBD dysplázie vykazovaly mutaci v genu *KRAS*. Mutace v genech *NRAS* a *BRAF* nebyly v této skupině detekovány. Celkem 8 případů KRK z 11 vyšetřených vykazovalo mutaci v některém z vyšetřovaných genů. Mutace genu *KRAS* byla zastižena v 6 případech. Jeden případ nesl mutaci jak v genu *KRAS*, tak v genu *NRAS*. Jeden případ vykazoval mutaci v genu *BRAF*. Tři zbývající případy KRK vykazovaly wild-type status ve všech třech genech. Výsledky molekulárního vyšetření pro skupinu 2 a 3 jsou součástí Tabulky 9 – viz výše.

Karcinomy s mutací genu *KRAS* a *BRAF* sdílely stejnou mutaci s dalšími lézemi nalezenými ve stejném resekčním materiálu, a to morfologicky s IBD-dysplázií (3 případy), SEC (1 případ) a vilózní hypermucinózní změnou (1 případ).. Tři pacienti s KRK vykazovali mutaci pouze v karcinomu (vždy *KRAS*) bez mutací v lézích získaných ze stejného resektátu (dvě SEC léze a jedna vilózní hypermucinózní změna) U jednoho z wild-type karcinomů (případ 5) byla zastižena léze typu SEC s mutací *BRAF* V600E. Porovnání mutačního stavu případů KRK a přidružených PPL nebo dysplázií je shrnuto v Tabulce 11.

Tab. 11: Molekulární výsledky IBD-asociovaných KRK ve vztahu k dalším lézím zastiženým u daného pacienta.

	Karcinom			SEC			Vilózní hypermucinózní změna			IBD dysplázie			SSA			TSA		
	KRAS	NRAS	BRAF	KRAS	NRAS	BRAF	KRAS	NRAS	BRAF	KRAS	NRAS	BRAF	KRAS	NRAS	BRAF	KRAS	NRAS	BRAF
1*	p.G12D	WT	WT	x	x	x	WT	WT	WT	x	x	x	x	x	x	x	x	x
2	p.G13D	WT	WT	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
3	WT	WT	WT	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
4	p.G12D	WT	WT	WT	WT	WT	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
5*	WT	WT	WT	WT	WT	V600E	WT	WT	WT	x	x	x	x	x	x	x	x	x
6#	p.G12D	12/13	WT	p.G12D	WT	WT	x	x	x	p.G12D	WT	WT	p.G12D	WT	WT	x	x	x
7\$	WT	WT	V600A/E	WT	WT	V600A	WT	WT	V600A	x	x	x	x	x	x	x	x	x
8#	p.G12D	WT	WT	WT	WT	WT	x	x	x	p.G12D	WT	WT	x	x	x	x	x	x
9#	WT	WT	WT	WT	WT	WT	x	x	x	WT	WT	WT	x	x	x	x	x	x
10	p.G12D	WT	WT	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
11	p.G13D	WT	WT	x	x	x	x	x	x	p.G13D	WT	WT	x	x	x	p.G13D	WT	WT

x léze v daném případě KRK nepřítomna

* případy se dvěma vilózními hypermucinózními změnami

případy se dvěma SEC, reportován případ s mutací

\$ případ se třemi SEC lézemi

Zkratky: IBD – idiopatický střevní zánět; KRK – kolorektální karcinom; SEC – pilovitá epitelální změna; SSA – sesilní pilovitý adenom; TSA – tradiční pilovitý adenom; WT – wild-type

7. Diskuze

Úvodem je nutné zdůraznit, že rešerše tématu idiopatických střevních zánětů a pilovitých lézí/změn vede v prohledávané literatuře k heterogenní skupině směsných výsledků, které zahrnují studie zacílené pouze na pravé pilovité polypy a IBD, studie popisující spíše léze typu PPL s rměnlivou anebo vyvíjející se terminologií, a dále studie kombinující IBD a pravé polypy i léze typu PPL.

7.1. PILOVITÉ LÉZE TYPU SEC, VILÓZNÍ HYPERMUCINÓZNÍ ZMĚNA AJ. A IBD

Léze ze skupiny PPL byly opakovaně popsány různými autory. Vilózní hypermucinózní změna byla poprvé zmíněna pod názvem „vilózní adenomatózní léze“, resp. „vilózní dysplázie“ v sérii 40 pacientů s dlouhotrvající ulcerózní kolitidou již v roce 1984. (34) Podobnou změnu následně popsali Chaubert et al. a prokázali častý výskyt mutace v genu *KRAS* a aberantní overexpresi proteinu p53 jak ve vzorcích z karcinomů, tak ve vilózní i v nenádorové zánětlivé sliznici. (35) Andersen et al. následně v roce 1999 popsali obdobné výsledky s častější přítomností mutace v genu *KRAS* u vilózní hypermucinózní změny v sérii 13 pacientů s UC. (36) Oba typy lézí – pilovité i vilózní změny byly následně popsány znovu Rubiem v roce 2000 (44) znovu společně s dalšími adenomatózními změnami u IBD studovány stejnou skupinou v roce 2007. (3)

Imunohistochemické vyšetření bylo součástí pouze některých studií. Expresi proteinu p53 byla studována autory Kilgore et al. v hyperplastic-like lézích, které vykazovaly silnou expresi p53 v části popsaných lézí, a to především v epitelu bazálních částí krypt. (37) Obdobný charakter barvení se silnou bazální p53 pozitivitou jsme zaznamenali i některých našich lézích, jmenovitě u jedné vilózní hypermucinózní změny, jedné HP-like léze a jedné kombinované léze. Recentní studie autorů Hirsch et al. dále prokázala zvýšený výskyt *TP53* mutací v KRK asociovaném s Crohnovou chorobou se shodnou mutací přítomnou i prekurzorových lézích stejně jako v nedysplastické okolní sliznici. Navíc mutace v *TP53* byly mnohem častěji přítomny v CD-asociovaných KRK ve srovnání se sporadickými KRK. (45) Charakter barvení MLH1 nevykazoval ve většině lézí ze skupiny PPL známky aberance kromě jedné vilózní hypermucinózní změny s kompletní ztrátou exprese. Ve skupině PPL tedy MLH1 expresní profil nepomohl k identifikaci lézí, které by mohly vykazovat případné časné dysplastické znaky na IHC úrovni, jak je tomu u pravých pilovitých polypů.(43)

Dále jsme zastihli 25 z 56 (44,6 %) lézí typu PPL, které vykazovaly ztrátu exprese MGMT. Naše nálezy sice vykazovaly nižší četnost ztráty exprese MGMT než například léze ve studii skupiny Svrcek et al. (až 70 % z testovaných vzorků), nicméně zmíněná studie byla zaměřena

především na případy sporadických, hereditární a IBD-asociovaných KRK a na přiléhající nenádorovou sliznici. (26) Bohužel, z důvodu charakteru naší studie bez kontrolní skupiny jsme nebyli schopni výsledky porovnat s normální nebo zánětlivou změněnou sliznicí bez pilovité léze.

Vzhledem k celkově nízkému počtu předchozích studií, které byly převážně morfologicky deskriptivní, jsme limitováni možnostmi diskuze molekulárních vlastností PPL.

Jak již bylo zmíněno výše, mutace v genu *KRAS* byly popsány ve vilózních regenerativních i dysplastických změnách u dlouhotrvající UC autory Chaubert et al. (35) a Andersen et al., a to až v 61 % studovaných lézí. (36) Mutační stav genu *BRAF* však nebyl v těchto lézích studován. Studie zahrnující pilovitou dráhu IBD onkogeneze popisovaly častěji právě pilovité polypy (viz níže) jako HP nebo SSA s průkazem očekávané mutace v genu *BRAF*. (29, 31) Nicméně některé studie prokázaly i výskyt mutace v genu *KRAS* u pilovitých lézí. Například Srivastava et al. prokázali mutace v genu *KRAS* ve více než polovině všech studovaných lézí, které byly zastiženy u dvou IBD pacientů s mnohočetnými polypy splňujícími kritéria pro syndrom pilovité polypózy (u které by byla spíše očekávatelná mutace v genu *BRAF*). (30) V naší studii byla mutace genu *KRAS* prokázána ve velké části (42,9 %) nekonvenčních a neoplastických lézí. Naše výsledky mohou být ovlivněny malým počtem lézí v neoplastické skupině 3 a dále chybějící kontrolní skupinou sporadických lézí pro skupinu 1 (PPLs).

Zajímavým nálezem v naší studii byla přítomnost současné mutace v genech *KRAS/BRAF* (6 případů) nebo *NRAS/BRAF* (1 případ). Obecně jsou mutace v genech *KRAS/NRAS* a *BRAF* považovány za tzv. vzájemně se vylučující, nicméně několik publikací tuto mutační koexistenci u KRK popisuje, obvykle s odkazem na nádorovou heterogenitu. (46–49) V naší studii nicméně nebyly současné mutace zastiženy u případů karcinomů, ale u 3 případů SEC, dvou HP a dvou případů SSA, a to v 5 endoskopických vzorcích a ve 2 disekovaných vzorcích z chirurgických resektátů. Všechny léze s koexistencí obou mutací byly bez známek dysplázie. Kontaminace materiálu byla vyloučena, ale opakované vyšetření mutačního stavu nebylo provedeno.

Vysvětlení tohoto nálezu zůstává problematické, protože oba markery jsou zřídka testovány najednou. Zůstává spekulací, zda tyto nálezy rozšiřují spektrum molekulární heterogenity i na prekurzorové léze.

7.2. PRAVÉ PILOVITÉ POLYPY A IBD

Studie zaměřující se na pravé pilovité polypy, jejich výskyt u IBD a účast pilovité dráhy v karcinogenezi IBD-asociovaného karcinomu jsou spíše recentního data, a to především z důvodu relativně nové definice a terminologie pilovitých polypů i pilovité dráhy. (29, 31, 50–

51) Bossard et al. revidovali celkem 36 pacientů, u kterých identifikovali léze morfoloicky odpovídající hyperplastickému polypu a tradičnímu pilovitému adenomu (TSA) a u obou prokázali *BRAF* V600E mutaci. (29) V naší studii tvořily pravé pilovité polypy pouze 17 % ze všech zastižených slizničních lézí. Zachyceny byly všechny typy PPP. V rámci provedených vyšetření je zajímavým výsledkem relativně vysoká přítomnost aberantní exprese MGMT (73 %) v rámci celé skupiny PPP. V rámci molekulárních změn pak pravé pilovité polypy obvykle vykazovaly očekávanou mutaci v genu *BRAF* (SSA a HP) nebo v genu *KRAS* (TSA). Naše výsledky i závěry některých výše uvedených studií dokládají výskyt pravých pilovitých polypů u IBD pacientů a potvrzují podobnost pilovitých polypů u IBD se sporadickými pilovitými lézemi u non-IBD pacientů ve smyslu molekulárních a imunohistochemických vlastností. (54) Je tedy možné, že v budoucnosti bude nutné pravé pilovité polypy u IBD histologicky přesně odlišovat do nekonvenčních lézí typu SEC a vilózní hypermucinózní změny, stejně jako je nutné již nyní odlišovat sporadické konvenční adenomy od IBD dysplázie z důvodu odlišné prognózy a nutnosti sledování.

7.3. IBD-ASOCIOVANÉ KRK – DISKUZE MORFOLOGICKÝCH, FENOTYPOVÝCH A MOLEKULÁRNÍCH CHARAKTERISTIK.

V celé revidované skupině 309 resekovaných IBD případů za desetileté období jsme identifikovali 11 pacientů s IBD-asociovaným KRK. V rámci skupiny případů IBD-asociovaného KRK jsme pozorovali značnou morfoloickou heterogenitu jednotlivých případů. Nicméně právě heterogenita morfoloogie, minimum nádorové nekrotizace, mucinózní nebo prstěncitá diferenciace anebo naopak dobře diferencovaná morfoloogie jsou znaky, které jsou popisovány ve větších souborech IBD-asociovaných karcinomů. (55) Další, často diskutovaný parametr u IBD-KRK, je stav mismatch repair proteinů (MMR) se zaměřením na MMR deficit anebo MSI-H status, který je detekován až u 10 % případů (55–56) V naší sérii jsme zaznamenali celkem dva MMR deficientní případy KRK (1 %). Molekulární vyšetření MSI nebylo provedeno. V rámci studií, které porovnávají morfoloogii a molekulární vlastnosti IBD-asociovaných KRK se sporadickými a hereditárními karcinomy a stavem MMR systému se zdá, že mechanismus vzniku MMR deficitu u IBD-asociovaných karcinomů je spíše podobný mechanismům popsáným u hereditárních MSI-H karcinomů, ale jsou na rozdíl od nich spojeny spíše s mutacemi v genu *BRAF*. Cílové geny, ve kterých dochází v rámci mikrosatelitní nestability k mutacím v tandemových repeatech, jsou nicméně u IBD karcinomů podobné jako ve sporadických a hereditárních MSI-H KRK. (26, 55, 57)

Výsledky vyšetření imunohistochemické exprese **MGMT** vykazovaly aberantní ztrátu exprese v 6 případech IBD-asociovaného KRK a také v 16 přidružených slizničních lézích především ze skupiny PPL. Jak bylo prokázáno některými autory, ztráta funkce a exprese MGMT bývá přítomna jak u sporadických, tak u IBD-asociovaných a hereditárních KRK a může být zastižena také v přiléhající nenádorové anebo zánětlivě změněné sliznici. (26, 30) Tyto nálezy podporují hypotézu, že metylace MGMT se ztrátou funkce může předcházet další molekulární změny a maligní transformaci epitelu. U IBD-karcinomů je dále možná asociace mezi ztrátou MGMT a MSI stavem, ale dle některých autorů bez vazby na mutovaný stav genů *KRAS* nebo *BRAF*. (26) V rámci naší studie jsme nicméně ve skupině MGMT-negativních karcinomů prokázali mutaci v genu *KRAS* ve třech případech KRK a mutaci genu *BRAF* v jednom případě KRK. Naše výsledky jsou spíše v souladu se studií, ve které byla metylace v promotoru *MGMT* spojena s výskytem mutací v genu *KRAS*. (58) Novější studie zabývající se molekulárními vlastnostmi KRK vznikajícího u IBD nicméně upozorňují na poměrně nižší výskyt mutací v genu *KRAS* a vyšší podíl mutací v *TP53* v porovnání se sporadickými karcinomy. (45, 59–62) S těmito recentními studiemi se naše výsledky rozcházejí, ale důvodem může být limitní počet vyšetřovaných karcinomů v rámci studovaného souboru a větší podíl slizničních lézí a nemožnost porovnat výsledky s kontrolní skupinou.

Přestože je **IBD dysplázie** (intraepiteliální neoplázie) považována za hlavní prekurzorovou lézi pro KRK u IBD pacientů a je tedy také hlavním znakem pro sledování případné progresy (2, 5, 7, 63) identifikovali jsme v naší skupině KRK pouze 3 ploché IBD-dysplázie a 1 elevovanou IBD-dysplastickou lézi. Žádná z těchto lézí navíc nebyla identifikována v rámci kontrolní sledovací endoskopie a byly odhaleny až v době diagnózy KRK ve stejném resekčním materiálu. Nicméně u těchto pacientů nemáme k dispozici přesná data týkající se četnosti kontrolních endoskopií, resp. dodržování kontrol ze strany pacienta.

Ze skupiny pravých pilovitých polypů jsme zastihli kolorektální karcinom u 1 případu TSA, a to v blízkosti KRK a u jednoho případu SSA, nalezeného ve vzorku vzdáleném od KRK. U žádného z pacientů s hyperplastickým polypem karcinom zastižen nebyl. V rámci studií zabývajících se přítomností pravých pilovitých polypů u IBD pacientů byly obdobně zastiženy spíše jednotlivé případy KRK buď jako synchronní léze, (29–31) nebo jako metachronní karcinomy zastižené v rámci sledování pacientů (31–32) Vzhledem k malému množství popsaných případů nelze jednoznačně posoudit případné rozdíly mezi asociací KRK s pravými

pilovitými polypy u IBD a non-IBD pacientů.

Nejzajímavějším nálezem ve skupině IBD-asociovaných KRK byl právě průkaz přímého vztahu karcinomu nejen s očekávanou konvenční IBD-dysplázií, ale také s jiným typem PPL, a to celkově u 7 pacientů. Z dalších slizničních lézí jsme v přímé asociaci s KRK zaznamenali 3 případy **vilózní hypermucinózní změny**. Dva z těchto případů KRK sdílely určité morfologické znaky v podobě gastrické diferenciaci, resp. vzhledu foveolární části žaludeční sliznice. V jednom případě pak KRK sdílel s přiléhající PPL ztrátu exprese MGMT, u druhého karcinomu nebyla prokázána mutace v žádném ze sledovaných genů *KRAS*, *NRAS* a *BRAF*, ale asociovaná vilózní hypermucinózní léze vykazovala mutaci *BRAF* V600E. Třetí karcinom sdružený s vilózní hypermucinózní lézí sdílel s touto PPL stejnou mutaci genu *BRAF*. Možná asociace vilózní hypermucinózní změny a ulcerózní kolitidy byla zmíněna v publikaci autorů Andersen et al. (36) Morfologicky podobné léze pak byly popsány i autory Kilgore et al. (37) v roce 2000 u pacientů s Crohnovou chorobou.

Další lézí ze skupiny PPL, kterou jsme zastihli v přímé asociaci s KRK, byla **pilovitá epiteliální změna (SEC)**, a to opět ve třech případech. Dvě ze SEC lézí sdílely s asociovaným KRK stejnou mutaci v genu *KRAS*, resp. *BRAF*. Jedna z lézí pak sdílela s přidruženým KRK aberantní overexpresi proteinu p53. Pilovité změny a pilovitá dysplázie byly pak popsány u IBD-asociovaného KRK u pacientů s UC Rubiem (3) jako pilovitý růstový vzorec u 12 % zachycených lézí a ve studii Parian et al. (6) s limitacemi jejich přesného morfologické a prognostického zařazení.

8. Závěry vlastní práce

V rámci provedené studie jsme potvrdili přítomnosti různých typů slizničních lézí vznikajících ve sliznici pacientů s idiopatickým střevním zánětem. Kromě očekávané IBD dysplázie, jsme potvrdili také přítomnost pravých pilovitých polypů i dalších nekonvenčních lézí jako je pilovitá epiteliální přeměna (SEC) a vilózní hypermucinózní změna ve sliznici IBD pacientů. Jednotlivé typy slizničních změn nebo polypů se mohou vyskytovat u jednoho pacienta multifokálně nebo jako kombinace různých typů lézí v různých odběrech. Kromě toho jsme zjistili, že nekonvenční PPL léze mohou vykazovat dysplastickou morfolonii a mohou být nalezeny v bezprostřední blízkosti invazivního karcinomu. PPL léze navíc mohou vykazovat mutace v genech *KRAS/NRAS* nebo *BRAF* a navíc, pokud jsou v blízkosti invazivního KRK, mohou s tímto karcinomem stejný typ mutace sdílet. V rámci naší studie tyto nekonvenční PPL léze představovaly největší skupinu ze všech popsanych lézí (celkově 63 %) a byly nalezeny častěji, než očekávaná a sledovaná IBD dysplázie (7 %). V souboru karcinomů jsme kromě vazby na konvenční prekurzorovou lézi, kterou je IBD dysplázie, popsali take přímý vztah karcinomu s jinými nekonvenčními lézemi jako je vilózní hypermucinózní změna a pilovitá epiteliální změna. V rámci malé podskupiny samostatně hodnocených IBD-asociovaných karcinomů tvořily PPL více než 80 % zachycených slizničních změn a jejich výskyt byl tedy častější než konvenční IBD-dysplázie. Navíc 6 z 22 lézí, (27 %) bylo zastiženo ve sliznici, která buď těsně přiléhala k zastiženému invazivnímu karcinomu, anebo byl zachycen přímý přechod PPL léze do invazivního KRK. Jsme přesvědčeni, že naše výsledky podporují v literatuře již recentně vyslovené podezření, že léze typu pilovitá epiteliální změna (SEC) a vilózní hypermucinózní změna mohou představovat další podtyp prekurzorové léze při rozvoji IBD-asociovaného KRK a že dále rozšiřují poznatky o jejich imunohistochemických a molekulárních vlastnostech i vztahu ke karcinomu. Dále naše práce potvrzuje výskyt pravých pilovitých polypů u pacientů s IBD a popisuje jejich vztah k dalším lézím i KRK. Vzhledem k tomu, že všechny léze byly zastiženy retrospektivně v rámci cíleného pátrání, je pravděpodobné, že jsou léze typu PPL v rámci rutinního histologického vyšetření přehlédnuty a nejsou tedy popsány v bioptické zprávě, což má za následek jejich celkové podhodnocení. Povědomí o výskytu těchto nekonvenčních lézí je nutné. Jejich rozpoznání patologem je zásadní včetně zahrnutí jejich popisu do bioptických výsledků v rámci endoskopických kontrol. Sjednocení terminologie, přesná endoskopická i histomorfologická kritéria a další studium asociace pilovité epiteliální změny k dysplázii a IBD-asociovanému karcinomu jsou pak tématem pro budoucí výzkum.

9. Použitá literatura

1. K. Geboes et al. (eds.), *Colitis: A Practical Approach to Colon Biopsy Interpretation*, Springer International Publishing Switzerland 2014
2. Laine L, Kaltenbach T, Barkun A et al. SCENIC international consensus statement on surveillance and management of dysplasia in inflammatory bowel disease. *Gastrointest Endosc* 2015; 81: 489-501.
3. Rubio CA. Serrated neoplasias and de novo carcinomas in ulcerative colitis: a histological study in colectomy specimens. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1024-1031.
4. Parian A, Koh J, Limketkai BN et al. Association between serrated epithelial changes and colorectal dysplasia in inflammatory bowel disease. *Gastrointest Endosc* 2016; 84: 87-95
5. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R et al. Third European Evidence-based (5) Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions, Diagnosis, Extra-intestinal Manifestations, Pregnancy, Cancer Surveillance, Surgery, and Ileo-anal Pouch Disorders. *J Crohns Colitis* 2017; 11(6): 649-670.
6. Gomollón F, Dignass A, Annese V et al. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 1: Diagnosis and Medical Management. *J Crohns Colitis* 2017; 11(1): 3-25.
7. Magro F, Langner C, Driessen A et al. European consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2013; 7: 827-851.
8. Langner C, Magro F, Driessen A et al. The histopathological approach to inflammatory bowel disease: a practice guide. *Virchows Arch.* 2014; 464(5): 511-527.
9. Dyson JK, Rutter MD. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: what is the real magnitude of the risk? *World J Gastroenterol.* 2012; 18(29): 3839-3848.
10. Lukas M. Inflammatory bowel disease as a risk factor for colorectal cancer. *Dig Dis* 2010; 28: 619-624.
11. Munkholm P. Review article: the incidence and prevalence of colorectal cancer in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 1-5.
12. Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JR. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut* 2001; 48: 526–535.
13. Sebastian S, Hernández V, Myrelid P et al. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: results of the 3rd ECCO pathogenesis scientific workshop (I). *J Crohns Colitis* 2014; 8: 5-18.
14. Stidham RW, Higgins PDR. Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease. *Clin Colon Rectal Surg* 2018; 31(3): 168-178.
15. Riddell RH, Goldman H, Ransohoff DF et al. Dysplasia in inflammatory bowel disease: standardized classification with provisional clinical applications *Hum Pathol* 1983; 14(11): 931-968.
16. Šerclová Z, Ryska O, Bortlík M et al. Doporučené postupy chirurgické léčby pacientů s idiopatickými střevními záněty – 3. část: ulcerózní kolitida, indikace k operaci. *Gastroent Hepatol* 2016; 70(3): 252–261.
17. Šerclová Z, Ryska O, Bortlík M et al. Doporučené postupy chirurgické léčby pacientů s idiopatickými střevními záněty – 2. část: Crohnova choroba. *Gastroent Hepatol* 2016; 70(3): 252–261. *Gastroent Hepatol* 2015; 69(3): 223–238

18. Bosman FT, Carnelro F, Hruban RH, Theise ND (Eds). WHO Classification of Tumours of the Digestive System, IARC Press: Lyon 2010
19. Ústav zdravotních informací a statistiky ČR: Novotvary 2015, Zdravotnická statistika
20. Pavlík T, Májek O, Büchler T et al. Trends in stage-specific population-based survival of cancer patients in the Czech Republic in the period 2000-2008. *Cancer Epidemiol.* 2014; 38(1): 28-34.
21. Colussi D, Brandi G, Bazzoli F, Ricciardiello L. Molecular Pathways Involved in Colorectal Cancer: Implications for Disease Behavior and Prevention. *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14, 16365-16385
22. Bettington M, Walker N, Clouston A et al. The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. *Histopathology.* 2013; 62(3): 367-86.
23. Pino MS, Chung DC. The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology.* 2010; 138(6): 2059-2072.
24. Scarpa M, Castagliuolo I, Castoro C et al. Inflammatory colonic carcinogenesis: A review on pathogenesis and immunosurveillance mechanisms in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(22): 6774–6785.
25. Beaugerie L, Itzkowitz SH. Cancers complicating inflammatory bowel disease. *N Engl J Med.* 2015; 372(15): 1441-52.
26. Svrcek M, Buhard O, Colas C et al. Methylation tolerance due to an O6-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) field defect in the colonic mucosa: an initiating step in the development of mismatch repair-deficient colorectal cancers. *Gut* 2010; 59(11): 1516-1526.
27. Gerrits MM, Chen M, Theeuwes M et al. Biomarker-based prediction of inflammatory bowel disease-related colorectal cancer: a case-control study. *Cell Oncol (Dordr).* 2011; 34(2): 107-117.
28. van Schaik FD, Oldenburg B, Offerhaus GJ et al. Role of immunohistochemical markers in predicting progression of dysplasia to advanced neoplasia in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2012; 18(3): 480-488.
29. Bossard C, Denis MG, Bezieau S et al. Involvement of the serrated neoplasia pathway in inflammatory bowel disease-related colorectal oncogenesis. *Onco Rep* 2007; 18: 1093-1097.
30. Srivastava A, Redston M, Farraye FA et al. Hyperplastic/serrated polyposis in inflammatory bowel disease: a case series of a previously undescribed entity. *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 296-303.
31. Ko HM, Harpaz N, McBride RB et al. Serrated colorectal polyps in inflammatory bowel disease. *Mod Pathol* 2015; 28: 1584-1593.
32. Yang C, Tarabishy Y, Dassopoulos T et al. Clinical, Histologic, and Immunophenotypic Features of Serrated Polyps in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology Res* 2018; 11: 355-360.
33. Jackson WE, Achkar JP, Macaron C et al. The Significance of Sessile Serrated Polyps in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2016; 22(9): 2213-20.
34. Rubio CA, Johansson C, Slezak P et al. Villous dysplasia: an ominous histologic sign in colitis patients. *Dis. Colon Rectum* 1984; 27: 283–287.
35. Chaubert P, Benhattar J, Saraga E et al. K-ras mutations and p53 alterations in neoplastic and nonneoplastic lesions associated with longstanding ulcerative colitis. *Am J Pathol* 1994; 144(4): 767-775.

36. Andersen SN, Lovig T, Clausen OP et al. Villous, hypermucinous mucosa in long standing ulcerative colitis shows high frequency of K-ras mutations. *Gut* 1999; 45: 686-692.
37. Kilgore SP, Sigel JE, Goldblum JR. Hyperplastic-Like Mucosal Change in Crohn's Disease: An Unusual Form of Dysplasia? *Mod Pathol* 2000; 13: 797-801.
38. Odze RD, Maley CC. Neoplasia without dysplasia: lessons from Barrett esophagus and other tubal gut neoplasms. *Arch Pathol Lab Med.* 2010; 134(6): 896-906.
39. Harpaz NI, Ward SC, Mescoli C et al. Precancerous lesions in inflammatory bowel disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2013; 27: 257-267.
40. Parian AM, Koh JM, Badamas J, Ciardello FM, Montgomery E, Lazerev M (2013) Serrated epithelial changes are associated with colorectal dysplasia in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 144(5): S11 Abstract 42 [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(13\)60038-4](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(13)60038-4)
41. Johnson DH, Khanna S, Smyrk TC et al. Detection rate and outcome of colonic serrated epithelial changes in patients with ulcerative colitis or Crohn's colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 1408-1417.
42. Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y et al. Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. *Mod Pathol* 2017; 30:1299-1311.
43. Liu C, Walker NI, Leggett B et al. Sessile serrated adenomas with dysplasia: morphological patterns and correlations with MLH1 immunohistochemistry. *Mod Pathol* 2017; 30(12): 1728-1738.
44. Rubio CA, Befrits R, Jaramillo E, Nesi G, Amorosi A. Villous and serrated adenomatous growth bordering carcinomas in inflammatory bowel disease. *Anticancer Res* 2000; 20(6C): 4761-4764.
45. Hirsch D, Wangsa D, Zhu YJ et al. Dynamics of genome alterations in Crohn's disease associated colorectal carcinogenesis *Clin. Cancer Res*; 2018; 24(20): 4997-5011
46. Sahin IH, Kazmi SM, Yorio JT et al. A Report of Three Cases of Concomitant KRAS and BRAF Mutation and a Review of the Literature. *J Cancer* 2013; 4: 320-322.
47. Larki P, Gharib E, Yaghoob Taleghani M et al. Coexistence of KRAS and BRAF Mutations in Colorectal Cancer: A Case Report Supporting The Concept of Tumoral Heterogeneity. *Cell J* 2017; 19(Suppl 1): 113-117.
48. Van Cutsem E, Köhne CH, Láng I et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol.* 2011; 29(15): 2011-2019.
49. Sameer AS, ul Rehman S, Pandith AA et al. Molecular gate keepers succumb to gene aberrations in colorectal cancer in Kashmiri population, revealing a high incidence area. *Saudi J Gastroenterol.* 2009; 15(4): 244-252.
50. Shen J, Gibson JA, Schulte S et al. Clinical, pathologic, and outcome study of hyperplastic and sessile serrated polyps in inflammatory bowel disease. *Hum Pathol* 2015; 46: 1548-1556.
51. Iacucci M, Hassan C, Fort Gasia M et al. Serrated adenoma prevalence in inflammatory bowel disease surveillance colonoscopy, and characteristics revealed by chromoendoscopy and virtual chromoendoscopy. *Can J Gastroenterol Hepatol* 2014; 28: 589-594.
52. Lee LH, Iacucci M, Fort Gasia M et al. Prevalence and Anatomic Distribution of Serrated

and Adenomatous Lesions in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2017; 2017: 5490803.

53. Parian AM, Lazarev MG. Serrated Colorectal Lesions in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2018 Jan; 14(1): 19-25.

54. Yang Y, Wang D, Jin L et al. Prognostic value of the combination of microsatellite instability and BRAF mutation in colorectal cancer. *Cancer Manag Res.* 2018; 10: 3911-3929.

55. Liu X, Goldblum JR, Zhao Z et al. Distinct clinicohistologic features of inflammatory bowel disease-associated colorectal adenocarcinoma: in comparison with sporadic microsatellite-stable and Lynch syndrome-related colorectal adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2012; 36(8): 1228-1233.

56. Schulmann K, Mori Y, Croog V et al. Molecular phenotype of inflammatory bowel disease-associated neoplasms with microsatellite instability. *Gastroenterology* 2005; 129: 74-85.

57. Svrcek M, El-Bchiri J, Chalastanis A et al. Specific clinical and biological features characterize inflammatory bowel disease associated colorectal cancers showing microsatellite instability. *J Clin Oncol* 2007; 25(27): 4231-4238.

58. de Vogel S, Weijenberg MP, Herman JG et al. MGMT and MLH1 promoter methylation versus APC, KRAS and BRAF gene mutations in colorectal cancer: indications for distinct pathways and sequence of events. *Ann Oncol* 2009; 20: 1216-1222.

59. Yashiro M. Molecular Alterations of Colorectal Cancer with Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis Sci.* 2015; 60(8): 2251-2263.

60. Robles AI, Traverso G, Zhang M et al. Whole-Exome Sequencing Analyses of Inflammatory Bowel Disease-Associated Colorectal Cancers. *Gastroenterology* 2016; 150(4): 931-943.

61. Saraggi D, Fassan M, Mescoli C et al. The molecular landscape of colitis-associated carcinogenesis. *Dig Liver Dis.* 2017; 49(4): 326-330.

62. Du L, Kim JJ, Shen J, Chen B, Dai N. KRAS and TP53 mutations in inflammatory bowel disease-associated colorectal cancer: a meta-analysis. *Oncotarget.* 2017; 28;8(13): 22175-22186.

63. Bressenot A, Cahn V, Danese S et al. Microscopic features of colorectal neoplasia in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2014; 20(12): 3164-3172.

10. Přehled publikační činnosti autora

Původní vědecké práce v impaktovaném časopise

1. **Kamarádová K**, Vošmiková H, Rozkošová K, Ryška A, Tachecí I, Laco J. Non-conventional mucosal lesions (serrated epithelial change, villous hypermucinous change) are frequent in patients with inflammatory bowel disease – results of molecular and immunohistochemical single institutional study. *Virchows Arch.* 2019, accepted for publication – **IF 2,868**

2. **Kamarádová K**, Vošmiková H, Rozkošová K, Ryška A, Tachecí I, Laco J. Morphological, immunohistochemical and molecular features of inflammatory bowel disease associated colorectal carcinoma and associated mucosal lesions - Single institution experience. *Pathol Res Pract.* 2019 Apr; 215(4): 730-737. doi: 10.1016/j.prp.2019.01.010. – **IF 1,794**

3. Melichar B, Dvorak J, **Kamarádová K**, Krajina A, Studentova H. Hepatic arterial infusion in liver tumors of unknown, uncertain or unusual primary: single-center experience. *J BUON.* 2019 Jan-Feb; 24(1): 143-149. – **IF 1,379**

4. Raupach J, Vales J, Vojacek J, Hoffmann P, Lojik M, **Kamarádová K**, Cabelkova P, Chovanec V, Renc O, Krajina A, Maly R. Endovascular Treatment of Symptomatic Thoracic Aneurysm Due to Periaortic Lymphoma. *Vasc Endovascular Surg.* 2018 Jul; 52(5): 367-370. doi: 10.1177/1538574418762649. – **IF 0,859**

5. Zidar N, Langner C, Odar K, Hošnjak L, **Kamarádová K**, Daum O, Pollheimer MJ, Košorok P, Poljak M. Anal verrucous carcinoma is not related to infection with human papillomaviruses and should be distinguished from giant condyloma (Buschke-Löwenstein tumour). *Histopathology.* 2017 May; 70(6): 938-945. doi: 10.1111/his.13158. – **IF 3,267**

6. Laco J, **Kamarádová K**, Mottl R, Mottlová A, Doležalová H, Tuček L, Žatečková K, Slezák R, Ryška A. Plasma cell granuloma of the oral cavity: a mucosal manifestation of immunoglobulin G4-related disease or a mimic? *Virchows Arch.* 2015 Mar; 466(3): 255-63. doi: 10.1007/s00428-014-1711-6. – **IF 2,627**

7. Melichar B, Dvorak J, Ferko A, **Kamarádová K**, Krajina A. Hepatic arterial infusion in

hepatocellular carcinoma: a single center experience. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Česká Repub. 2015 Mar; 159(1): 139-44. doi: 10.5507/bp.2014.054. – **IF - 1,070**

8. Laco J, Podhola M, **Kamarádová K**, Novák I, Dobeš D, Brodák M, Hácová M, Ryška A. Idiopathic vs. secondary retroperitoneal fibrosis: a clinicopathological study of 12 cases, with emphasis to possible relationship to IgG4-related disease. Virchows Arch. 2013 Nov;463(5):721-30. doi: 10.1007/s00428-013-1480-7. – **IF 2,560**

9. Laco J, **Kamarádová K**, Vítková P, Sehnálková E, Dvořáková S, Václavíková E, Sýkorová V, Kašpírková J, Skálová A, Ryška A. Cribriform adenocarcinoma of minor salivary glands may express galectin-3, cytokeratin 19, and HBME-1 and contains polymorphisms of RET and H-RAS proto-oncogenes. Virchows Arch. 2012 Nov; 461(5): 531-540. doi: 10.1007/s00428-012-1320-1. – **IF 2,676**

10. Spacek M, Hubacek P, Markova J, Zajac M, Vernerova Z, **Kamarádová K**, Stuchly J, Kozak T. Plasma EBV-DNA monitoring in Epstein-Barr virus-positive Hodgkin lymphoma patients. APMIS. 2011 Jan; 119(1): 10-6. doi: 10.1111/j.1600-0463.2010.02685.x – **IF 1,991**

Ostatní práce v impaktovaném časopise (především přehledové, metodické, kazuistické)

-

Původní vědecké práce v recenzovaném neimpaktovaném časopise

11. Čepelová M, **Kamarádová K**, Kabičková E, Starý J, Cumlivská E, Kodet R, Gajdoš P. Expression of the active caspase-3 in children and adolescents with classical Hodgkin lymphoma. Cesk Patol. 2014 Jan;50(1):40-4.

12. Kodet R, Campr V, Kalinová M, **Kamarádová K**, Mrhalová M, Soukup J. Histiocytární nekrotizující lymfadenitida / Kikuchiho-Fujimotova choroba (HNL/K-F) a její diferenciální diagnostika: analýza 19 případů. Cesk Patol. 2012 Oct;48(4):198-206. Česká.

13. **Kamarádová K**, Campr V, Kalinová M. Jaká je vaše diagnóza? Kožní lymfoidní infiltráty. Cesk Patol. 2012 Oct;48(4):207-8.

Ostatní práce v recenzovaném neimpaktovaném časopise:

14. **Kamarádová K**. Úskalí diagnostiky kožních lymfomů z pohledu patologa. Onkologie 2018; 12(3): 105-110

15. Kamarádová K. Morfologie, staging, prognostické a prediktivní markery kolorektálního karcinomu – pohled patologa. *Onko Rev* 2018;4:1-5

16. Virtová R, Gazdič T, Pirk J, Kočková R, Bělohávek O, Kamarádová K et al. Rare myxoid liposarcoma metastasis to the interventricular septum of the heart. *Cor et Vasa* 2014; 56(3): e274-278

Přednášky na odborných setkáních:

15-16.4. 2011 – 14. Seminář mladých patologů a 38. Sjezd Českých patologů, Litomyšl, Česká republika

Kamarádová K., Sticová E, Harmašová N, Musilová D, Campr V. *Lymfadenopatie s překvapením aneb nádorové mimikry.*

13-14.4. 2012 - 15. Seminář mladých patologů a 39. Sjezd Českých patologů, Litomyšl, Česká republika

Kamarádová K, Čandová J, Kalinová M, Campr V. *Rodí se nová kategorie v rámci periferních T-lymfomů?*

8-12.9. 2012 - 26th European Congress of Pathology, Praha, Česká Republika

Kamarádová K, Nová M, Kalinová M, Campr V. *Still's disease associated lymphadenopathy: report of two cases resembling malignant lymphoma with review of possible morphological findings.*

5-6.4. 2013 – 16. Seminář mladých patologů a 40. Sjezd Českých patologů, Litomyšl, Česká republika

Kamarádová K. *Low-grade fibromyxoidní sarkom/sklerózující epiteloidní fibrosarkom. kazuistika*

7-10.9. 2013 - 11th International Workshop on Bone Marrow Pathology, Mnichov, Německo

Kamarádová K. *Problematic evaluation of possible acute transformation in patient with CMML.*

28-29.3. 2014 - AAF/OMI Satellite Symposium on Surgical Pathology, Budapešť, Maďarsko

Kamarádová K. *Myeloidní sarkom s megakaryocytickou diferenciací jako konkurentní progresí v primární diagnostice pokročilé primární myelofibrózy.*

11.-12.4. 2014 - 17. Seminář mladých patologů a 41. Sjezd Českých patologů, Litomyšl, Česká republika

Kamarádová K. *Primární renální buněčný karcinom temporální kosti, kazuistika.*

25.4.2015 - Pathology of the Oesophagus (Rakouskon IAP), Graz, Rakousko, kazuistika/přednáška

Kamarádová K. Granulomatous esophagitis in a young female within a surprising disease setting

5-9.9.2015 - 29th European Congress of Pathology, Bělehrad, Srbsko zvaná přednáška
Kamarádová K. Knowing your path in GIT Path: Light and guide for deep and dark.

14.11.2015 - 33. český a slovenský gastroenterologický kongres, Praha – zvaná přednáška
Kamarádová K. Časné adenokarcinomy tlustého střeva – pohled patologa.

22.-23.4. 2016 - 19. Seminář mladých patologů a 41. Sjezd Českých patologů, Litomyšl, Česká republika, přednáška

Kamarádová K. Primární mediastinální seminom, kazuistika.

10.-14.5.2016 - 4th Pannonia Congress of Pathology, Osijek, Chorvatsko – 2 zvané přednášky
Kamarádová K. Innate and acquired immunodeficiencies and gastrointestinal tract.
Kamarádová K. Pediatric lymphoproliferations – practical issues.

4.-6.11.2016 1. Národní kongres gastrointestinální onkologie (NKGIO), Praha, Česká republika, zvaná přednáška

Kamarádová K. Morfologie, staging, prognostické a prediktivní markery kolorektálního karcinomu - pohled patologa.

22.-23.3.2017 - Zasedání Kooperativní lymfomové skupiny, Praha, Česká republika – zvaná přednáška

Kamarádová K. Diagnostika kožních lymfomů z pohledu patologa.

31.3. 2017 - 20. Seminář mladých patologů a 44. Sjezd Českých patologů, Litomyšl, Česká republika – přednáška

Kamarádová K. Dendritický fibromyxolipom/myxoidní vřetenobuněčný lipom, kazuistika.

7.-8.4.2017 - Meeting of GI Working Group of Pannonia Pathologists, Ljubljana, Slovenia – zvaná přednáška

Kamarádová K. Pathology of perianal skin.

16-19.5.2018 - 5th Pannonia Congress of Pathology, Mikulov, Česká Republika – zvaná přednáška

Kamarádová K. Early onset IBD and hereditary immune deficiency syndromes.

27.9.2018 - ÖGPath/IAP Rakousko meeting, Graz, Rakousko – zvaná přednáška

Kamarádová K. Practical approach to inflammatory dermatopathology.

22.10.2018 - 14. Fakultní konference studentů DSP, LFHK, 3. místo – přednáška na téma disertační práce

Kamarádová K, Vošmiková H, Rozkošová K, Tachecí I, Laco J. Serrated and other mucosal

lesions in inflammatory bowel disease – single institution molecular and immunohistochemical study.

2.-3.11.2018 - 2. Národní kongres gastrointestinální onkologie (NKGIO), Praha, Česká republika - 2 zvané přednášky

Kamarádová K. Význam nádorového buddingu v nádorech GIT.

Kamarádová K. Dysplastické změny u ISZ pacientů a rizika pro vznik KRK, pohled patologa.

5.-6.4. 2019 - 21. Seminář mladých patologů a 45. Sjezd Českých patologů, Litomyšl, Česká republika – přednáška

Kamarádová K. Serózní low-grade karcinom a mesonephric-like karcinom ovaria, kazuistika.

Plakátová sdělení na odborných setkáních:

17-18.4. 2009 - 12. Seminář mladých patologů a 36. Sjezd Českých patologů, Litomyšl, Česká republika

Veselá E., Kamarádová K., Stránská E., Mand'áková P., Augustiňáková A., Campr V., Kodet R. Kolize dvou lymfomů nižšího stupně malignity.

23-24.4. 2010 - 13. Seminář mladých patologů a 37. Sjezd Českých patologů, Litomyšl, Česká republika

Kamarádová K., Veselá E., Steyerová P., Axmannová E., Kodet R. Lymfoproliferativní onemocnění mléčné žlázy v bioptické praxi

31.8.-4.9. 2013 - 27th European Congress of Pathology, Lisabon, Portugalsko

Kamarádová K, Nova M, Cegan M Angioimmunoblastic T-cell lymphoma – report of four cases and review of possible diagnostic problems and pitfalls.

15.-18.5.2014 – 3rd Pannonia Congress of Pathology, Bled, Slovinsko, poster

Kamarádová K, Řezáčová V, Křížová J, Kopáčková M. Problematic evaluation of refractory celiac disease – case report and review of current diagnostic approach.

25.-29.9.2016 28th European Congress of Pathology and IAP Congress of Pathology, Kolín nad Rýnem, Německo – poster

Kamarádová K, Rozkoš T, Hornycvňová H. Serrated-like lesions and colorectal adenocarcinoma in patients with inflammatory bowel disease (IBD): Report of two cases with emphasis on morphology and mismatch repair status

7.-13.9.2018 30th European Congress of Pathology, Bilbao, Španělsko – poster, oceněno stipendiem ECP

Kamarádová K, Vošmiková H, Rokzkošova K, Tachecí I, Laco J. Serrated changes, lesions and adenocarcinoma in inflammatory bowel disease patients – single institution molecular and immunohistochemical study

