

**Univerzita Karlova  
1. lékařská fakulta**



**UNIVERZITA KARLOVA  
1. lékařská fakulta**

**Autoreferát disertační práce**

Achalázie jícnu – etiologie, patofyziologie a léčba  
Esophageal achalasia – etiology, pathophysiology and treatment

MUDr. Zuzana Vacková

Praha 2020

**Doktorské studijní programy v biomedicině**  
*Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky*

**Obor:** Fyziologie a patofyziologie člověka

**Předseda oborové rady:** prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc.

**Školící pracoviště:** Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

**Školitel:** doc. MUDr. Jan Martínek, Ph.D., AGAF

**Konzultant (byl-li):** -

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

## OBSAH

|  |    |
|--|----|
| ABSTRAKT .....   | 4  |
| ABSTRACT .....   | 5  |
| ÚVOD .....   | 6  |
| HYPOTÉZY .....   | 7  |
| CÍLE PRÁCE .....   | 7  |
| METODIKA.....  | 8  |
| FREKVENCE HLA-DQB1 RIZIKOVÉ ALELY U RŮZNÝCH HRM TYPŮ ACHALÁZIE ..... | 8  |
| PERORÁLNÍ ENDOSKOPICKÁ MYOTOMIE.....                                 | 8  |
| MOTILITA JÍCNU PO POEM .....   | 9  |
| VÝSLEDKY .....   | 10 |
| FREKVENCE HLA-DQB1 RIZIKOVÉ ALELY U RŮZNÝCH HRM TYPŮ ACHALÁZIE ..... | 10 |
| Charakteristika pacientů a výsledky HRM.....                         | 10 |
| Genotyp-fenotyp asociační analýza.....                               | 10 |
| Replikace a populační frekvence.....                                 | 11 |
| PERORÁLNÍ ENDOSKOPICKÁ MYOTOMIE.....                                 | 11 |
| Charakteristika pacientů .....                                       | 11 |
| Bezpečnost výkonu a nežádoucí účinky.....                            | 11 |
| Symptomatické a fyziologické výsledky.....                           | 11 |
| Reflux po POEM.....  | 12 |
| Prediktory rekurence a refluxní esofagitidy po POEM .....            | 12 |
| Léčba selhání/rekurence .....  | 12 |
| MOTILITA JÍCNU PO POEM .....   | 12 |
| Charakteristika pacientů .....                                       | 12 |
| Charakteristika ezofago-gastrické junkce.....                        | 13 |
| Manometrická klasifikace jícnové motility .....                      | 13 |
| Obnova peristaltiky po POEM .....                                    | 13 |
| Klinický význam návratu peristaltiky.....                            | 13 |
| DISKUZE.....   | 14 |
| FREKVENCE HLA-DQB1 RIZIKOVÉ ALELY U RŮZNÝCH HRM TYPŮ ACHALÁZIE ..... | 14 |
| PERORÁLNÍ ENDOSKOPICKÁ MYOTOMIE.....                                 | 15 |
| MOTILITA JÍCNU PO POEM .....   | 16 |
| ZÁVĚRY .....   | 17 |
| LITERATURA.....  | 18 |
| SEZNAM PUBLIKACÍ .....   | 22 |

## ABSTRAKT

**Úvod:** Achalázie je primární porucha motility jícnu, kterou lze dle manometrie s vysokým rozlišením (high-resolution manometry, HRM) klasifikovat do tří typů (I-III). Přesná etiopatogeneze není známá, v etiologii se mj. uplatňují vlivy genetické a imunitní, což podporuje i prokázaná asociace genetické rizikové varianty rs28688207 v genu HLA-DQB1 s achalázií. Perorální endoskopická myotomie (POEM) je nejnovější metodou v léčbě achalázie. Její dlouhodobá účinnost, bezpečnost a vliv na fyziologii jícnu nejsou zatím dostatečně známy. Cílem našich studií bylo provést první genotyp-fenotyp asociační analýzu frekvence výskytu rizikové varianty rs28688207 u jednotlivých typů achalázie, zhodnotit účinnost a bezpečnost POEM a vyhodnotit změny motility jícnu se zaměřením na možný návrat peristaltiky po endoskopické myotomii u pacientů s achalázií.

**Pacienti a metody:** Jednalo se o tři retrospektivní studie. Vyšetření na přítomnost rs28688207 inzerce jsme provedli pomocí real-time PCR u 347 pacientů z ČR (163), Německa (114) a Řecka (70). Účinnost a bezpečnost POEM jsme hodnotili u 133 pacientů léčených v našem centru (IKEM), efektivita byla hodnocena pomocí Eckardtova skóre, funkčních vyšetření jícnu (HRM, RTG pasáž) a gastroscopie. Byla provedena podrobná analýza nežádoucích účinků včetně gastroezofageálního refluxu po POEM. Změny motility jícnu jsme klasifikovali pomocí Chicagské klasifikace u 237 pacientů, u kterých byla provedena HRM před a po výkonu.

**Výsledky:** Mezi jednotlivými typy achalázie jsme prokázali významný rozdíl ve výskytu rizikové alely ( $p=0,038$ ). Nejčastěji byla přítomná u typu I (14,6 %) vs. 9,5 % u typu II a 6,3 % u typu III. POEM byl úspěšně proveden u 132 pacientů (99,2 %), vyskytla se jedna závažná komplikace. Úspěšnost léčby za 3, 12 a 24 měsíců byla 95,5 % (CI 89,6-98,1), 93,4 % (86,5-96,8) a 84,0 % (71,4-91,4). Patologický gastroezofageální reflux byl prokázán u 41,5 % pacientů po POEM. Celkem 68 pacientů (68/237; 28,7 %) mělo po POEM známky peristaltické kontraktilní aktivity tubulárního jícnu, ve 47 případech (47/214; 22,9 %) došlo k novému objevení kontrakcí. Tito pacienti měli statisticky významně vyšší hodnoty integrovaného relaxačního času (IRP) a klidového tlaku dolního jícnového svěrače před a IRP po POEM ve srovnání s pacienty bez kontrakcí. Návrat peristaltiky byl častější u achalázie II. typu ( $p=0,097$ ). Eckardtovo skóre po POEM se významně nelišilo mezi skupinami s a bez přítomnosti kontrakcí.

**Závěr:** 1. Riziková genetická varianta rs28688207 byla nejčastější u HRM typu I, což naznačuje možný podíl imunitních mechanismů vyvolaných touto inzerací na rychlejší progresi onemocnění u typu I. 2. POEM je vysoce účinná a bezpečná metoda v léčbě achalázie s efektivitou u >84 % pacientů za 24 měsíců. Nevýhodou metody může být patologický kyselý reflux přítomný u cca 40 % pacientů. 3. Více než 20 % pacientů s achalázií má známky částečného návratu peristaltiky jícnu po POEM, který je nejčastější u achalázie II. typu, nicméně klinický význam tohoto fenoménu je nejspíše zanedbatelný.

## ABSTRACT

**Background:** Achalasia is a primary motility disorder of the esophagus that can be classified into three types (I-III) based on high-resolution manometry (HRM). Exact pathogenesis is unknown, but immune-mediated processes and genetic predisposition play a role, which is supported by finding of a genetic risk variant (rs28688207 insertion) in HLA-DQB1 that is strongly associated with achalasia. Peroral endoscopic myotomy (POEM) has become a standard treatment for achalasia, but the long-term efficacy, safety and impact on esophageal physiology are not fully discovered. The aims of our studies were to perform the first genotype-phenotype analysis investigating the frequency of rs28688207 across the three HRM types of achalasia, to evaluate the efficacy and safety of POEM and to assess the post-POEM esophageal motility with emphasis to potential peristaltic recovery and its clinical significance.

**Patients and methods:** These were three retrospective studies of prospectively collected data. Genotyping of the rs2868827 insertion was performed using real-time PCR in 347 patients from the Czech Republic ( $n=163$ ), Germany ( $n=114$ ), Greece ( $n=70$ ). The efficacy and safety of POEM were evaluated in 133 patients treated in our center. The post-POEM esophageal motility was assessed according to the Chicago Classification in 237 patients in whom HRM was performed prior to and after POEM.

**Results:** The frequency of the rs2868827 insertion was significantly different across achalasia types ( $p=0.038$ ), being most prevalent in type I (14.6 %) vs. type II (9.5 %) and III (6.3 %). POEM was successfully completed in 132 (99.2 %) patients, only one serious adverse event occurred. Treatment success at 3, 12, and 24 months was 95.5 % (CI 89.6-98.1), 93.4 % (86.5-96.8) and 84.0 % (71.4-91.4), respectively. Pathological gastroesophageal reflux was observed in 41.5 % of patients after POEM. Altogether 68 patients (68/237, 28.7 %) had signs of contractile activity after POEM, newly appearing in 47 patients (47/214, 22.9 %). In these patients the pre-POEM IRP, LESP and post-POEM IRP were significantly higher than in the patients without contractions. Peristaltic recovery was more frequent in type II achalasia ( $p=0.097$ ). The post-POEM Eckardt score and fluoroscopically assessed esophageal emptying did not significantly differ between the groups with and without contractions after POEM.

**Conclusions:** **1.** The HLA-DQB1 risk allele was most prevalent in type I, suggesting the role of immune mechanisms triggered by the insertion in the more rapid progression of the disease in type I. **2.** POEM is highly effective and safe treatment method for achalasia with treatment success in >84 % at 24 months. Post-POEM reflux occurs in about 40 % of patients. **3.** More than 20 % of achalasia patients have signs of partial recovery of esophageal peristalsis after POEM and it occurs more frequently in type II achalasia, although it seems to be clinically irrelevant.

## ÚVOD

Achalázie je primární porucha motility jícnu neznámé etiologie, při které dochází v důsledku degenerace a zániku inhibičních neuronů myenterického plexu k narušení relaxační schopnosti dolního jícnové svěrače a poruše peristaltiky tubulárního jícnu. V klinickém obrazu dominuje dysfagie, regurgitace a nekardiální bolest na hrudi. Mezi diagnostické metody patří gastroskopie, skiaskopické vyšetření pasáže jícnem s baryovou kontrastní látkou a zejména jícnová manometrie. V současné době je achalázie klasifikována do třech typů dle tzv. Chicagské klasifikace (Chicago Classification, CC), která je založená na nálezech jícnové manometrie s vysokým rozlišením (high-resolution manometrie, HRM), reflektující patofyziologické rozdíly mezi jednotlivými jednotkami a jejich klinický dopad.<sup>1-4</sup>

Přesná etiopatogeneze achalázie nebyla do dnešní doby plně objasněna. Existuje několik teorií - virová, autoimunní, infekční a genetická, nicméně v současnosti se za nejpravděpodobnější považuje kombinovaná teorie, dle které je achalázie multifaktoriální onemocnění, na jehož počátku je iniciální inzult, jímž může být např. virová infekce či jiný environmentální faktor, který u geneticky predisponovaného jedince spustí autoimunitní reakci namířenou proti inhibičním neuronům myenterického plexu způsobující zánět a vedoucí ve svém důsledku k jejich destrukci a zániku.<sup>5,6</sup> Recentně byla v rámci genetické asociační studie identifikována riziková alela, lokalizována v HLA-DQB1 oblasti na chromozomu 6, kterou tvoří jednonukleotidový polymorfismus (single nucleotide polymorphism, SNP) rs28688207 vedoucí k alternativnímu sestřihu a inzerci 8-aminokyselinového zbytku do proteinu HLA-DQβ1.<sup>7</sup> HLA-DQβ1 tvoří podjednotku HLA-DQ receptoru, který je přítomný na povrchu antigen prezentujících buněk (APC). Tento nález podporuje hypotézu, že imunitní procesy hrají v patogenezi achalázie významnou roli.

V současné době je léčba achalázie jícnu pouze symptomatická, kauzální léčba není vzhledem k neznalosti přesné patogeneze a nemožnosti diagnostiky časných asymptomatických stádií možná. V léčbě se uplatňují metody endoskopické a chirurgické. Mezi endoskopické patří intrasfinkterická injekce botulotoxinu, pneumatická dilatace a perorální endoskopická myotomie (POEM), mezi chirurgické laparoskopická Hellerova myotomie s parciální fundoplikací (LHM) a u konečných stádií nereagujících na standardní léčbu pak ezofagektomie. POEM je nejnovější metodou využívající princip submukózního tunelu umožňující přístup k jícnové svalovině z lumenální strany. V současné době již POEM patří ke standardním metodám léčby achalázie a krátkodobé a střednědobé výsledky jsou vynikající.<sup>8-12</sup>

Několik prací se věnovalo tématu možného návratu peristaltiky jícnu po myotomii s cílem objasnit, zda porucha motility tubulárního jícnu může vznikat sekundárně v důsledku dlouhotrvající obstrukce v oblasti ezofagogastrické junkce.<sup>13-18</sup> V takovém případě by porucha motility mohla být potenciálně reverzibilní, pokud by došlo k uvolnění obstrukce. Podrobná manometrická analýza na dostatečném počtu pacientů s hodnocením klinického významu částečné obnovy peristaltiky však dosud nebyla provedena.

Základem této disertační práce jsou tři samostatné retrospektivní studie.

## **HYPOTÉZY:**

1. Frekvence rizikové alely v HLA-DQB1 asociované s achalázií je rozdílná u jednotlivých manometrických typů achalázie.
2. Perorální endoskopická myotomie je účinná a bezpečná metoda v léčbě achalázie.
3. Uvolnění spazmu v oblasti dolního jícnového svěrače při perorální endoskopické myotomii vede kromě změny základních manometrických parametrů také k částečné obnově peristaltiky tubulárního jícnu. Tento návrat peristaltiky má klinický význam a existují parametry k jeho predikci.

## **CÍLE PRÁCE:**

1. Potvrdit dříve popsanou asociaci genetické varianty rs28688207 (kódující inzerci v HLA-DQB1) s achalázií jícnu u pacientů z ČR a dále její geografický severojižní gradient u pacientů z různých regionů Evropy. Zjistit, zda je frekvence rizikové alely u jednotlivých HRM typů achalázie rozdílná pomocí genotyp-fenotyp asociační analýzy.
2. Zhodnocení bezpečnosti a dlouhodobé efektivity perorální endoskopické myotomie (POEM) na dostatečně velkém souboru pacientů s achalázií.
3. K posouzení vlivu POEM na fyziologii jícnu a ke zhodnocení peristaltické rezervy pacientů s achalázií provést manometrii s vysokým rozlišením na souboru pacientů před a po výkonu, porovnat hlavní měřené parametry se zaměřením na potenciální návrat peristaltiky jícnu a zhodnotit jeho klinický význam, dále se pokusit identifikovat případné prediktivní faktory tohoto návratu peristaltiky.

## METODIKA

### 1. Frekvence HLA-DQB1 rizikové alely u různých HRM typů achalázie

Jednalo se o retrospektivní, multicentrickou, mezinárodní, populační, průřezovou, genotyp-fenotyp asociační studii sledující frekvenci HLA-DQB1 varianty u pacientů s jednotlivými HRM typy achalázie probíhající v období mezi březnem 2015 a srpnem 2016. Zařazeni byli pacienti s idiopatickou achalázií starší 18 let ze tří terciárních gastroenterologických center z ČR, Německa a Řecka. K vytvoření kontrolní skupiny z ČR/SR byly použity vzorky konsektivních dárců krve z krevní banky Thomayerovy nemocnice v Praze, kontrolní skupina pro řecké pacienty byla vytvořena z databáze 594 „population-based“ vzorků ze studie THISEAS.<sup>19</sup> K potvrzení přítomnosti již dříve prokázaného severojižního gradientu frekvence HLA-DQβ1 inzerce u pacientů s achalázií byly použity vzorky z ČR, Slovenska a Řecka. Vzorky z Německa byly pro tuto analýzu vyřazeny, neboť většina z nich již byla v tomto smyslu analyzována v předchozí studii<sup>20</sup>.

Všichni pacienti s achalázií podstoupili jícnovou manometrii s vysokým rozlišením (HRM). Ve všech centrech byl použitý stejný přístroj ManoScan 360 High Resolution Manometry device (Given Imaging). Po kalibraci přístroje bylo měření prováděno dle standardního protokolu, který zahrnuje 30 s klidové fáze bez polykání a následně 10 polknutí 5ml vody v poloze vleže. Všechny HRM záznamy z provedených vyšetření byly analyzovány manuálně zkušenými vyšetřujícími za použití softwaru ManoView (Given Imaging, Los Angeles, California, USA). HRM typ achalázie byl určen na základě kritérií Chicagské klasifikace (CC v3.0).<sup>21</sup>

Genotyp rs28688207 (kódující inzerci v HLA-DQβ1) byl testován v naší studii u pacientů s achalázií a pacientů z kontrolní skupiny z České republiky a Slovenska a dále u pacientů s achalázií z Řecka pomocí real-time PCR (polymerase chain reaction) za použití speciální (na zakázku vyrobené) TaqMan genotypizační soupravy a sond (Applied Biosystems). Data týkající se genotypu rs28688207 u pacientů i kontrol z Německa již byly k dispozici z předchozí studie.<sup>20</sup> V řecké kontrolní skupině z THISEAS kohorty byly použity SNPs z celogenomové genotypizace společně s informacemi o vazebné nerovnováze (linkage disequilibrium) mezi SNPs v referenční kohortě a riziková varianta byla testována imputací pomocí softwaru IMPUTE2 a databáze 1000 Genomes.<sup>19,22,23</sup>

V rámci genotyp vs fenotyp (GxP) analýzy jsme porovnali frekvence rizikové alely kódující inzerci rs28688207 mezi jednotlivými HRM typy achalázie pomocí Kruskal-Wallisova testu. Ke srovnání distribuce věku u jednotlivých HRM typů byl použit Studentův t-test. K testování, zda přítomnost rizikové alely sleduje severojižní gradient mezi Evropany, jsme použili Cochran-Armitage trend test porovnávající distribuci genotypů u pacientů a kontrol v jednotlivých populacích.

### 2. Perorální endoskopická myotomie

V této retrospektivní analýze jsme hodnotili prospektivně sbíraná data pacientů, kteří podstoupili POEM na našem pracovišti (IKEM) v období mezi prosincem 2012 a červencem 2016. Protokol výkonu byl schválen Ministerstvem zdravotnictví ČR a místní etickou komisí (v době zahájení programu se jednalo o experimentální metodu). Výkon prováděli dva endoskopisté.

Z celkového počtu 192 referovaných pacientů s achalázií podstoupilo POEM 155 pacientů. Dvacet dva pacientů podstoupilo POEM v rámci randomizované studie srovnávající POEM a LHM, tyto pacienti do naší analýzy zařazeni nebyli.<sup>24</sup> Analyzovaných pacientů v rámci prezentované studie bylo tedy celkem 133.



Diagnóza achalázie byla stanovená pomocí gastrokopie, HRM a RTG polykacího aktu. Kritéria zařazení byla symptomatická (Eckardt skóre >3) achalázie (nebo tzv. kladivový jícen), věk nad 18 let a podepsaný informovaný souhlas. Před výkonem bylo zaznamenáno symptomové Eckardtovo skóre hodnotící tíži symptomů (0-12 bodů, hodnotí se 4 symptomy: dysfagie, regurgitace, retrosternální bolest, váhový úbytek, kdy každý může být ohodnocen maximálně 3 body dle frekvence/tíže, celkové skóre je jejich součtem), léčba inhibitory protonové pumpy (IPP) či jinými léky inhibujícími sekreci žaludeční kyseliny a pacienti vyplnili dotazník kvality života (Eypasch-Williams Quality of Life Score, QoL).<sup>25</sup>

Všichni pacienti byli hospitalizováni na lůžkovém oddělení den před výkonem a všem byla provedena gastrokopie k případnému odstranění zbytků stravy z jícnu. Antibiotická profylaxe (ceftriaxon 2 g a metronidazol 500 mg intravenózně) a inhibitory protonové pumpy byly podány před výkonem a dále standardně do prvního pooperačního dne včetně. Všechny výkony byly provedeny v celkové anestézii, v poloze nznak, endoskopem s vysokým rozlišením obrazu s nasazeným průhledným distálním nástavcem a za použití CO<sub>2</sub> insuflace. POEM byl prováděn technikou dle prof. Inoueho.<sup>26</sup>

První pooperační den byla provedena u všech pacientů RTG pasáž jícnem k vyloučení úniku kontrastní látky (KL) mimo lumen. Pacienti byli propuštěni první nebo druhý pooperační den, pokud nedošlo k rozvoji komplikace. Po dimisi užívali inhibitor protonové pumpy (IPP) po dobu 30 dnů a dále dle potřeby.

Všichni pacienti podstoupili klinickou kontrolu 3 měsíce po POEM zahrnující zhodnocení Eckardtova skóre (ES), refluxních symptomů, QoL skóre, léčbu antisekrečními léky, gastrokopii a dále RTG pasáž jícnem, HRM a 24-hodinovou pH-metrii. Další návštěvy se uskutečnily za 6, 12 a 24 měsíců od výkonu. Při každé bylo zaznamenáváno ES, refluxní symptomy, QoL skóre a zda pacient užíval IPP či jiné antisekreční léky. Všichni pacienti byli dále sledováni minimálně 3 roky.

Statistická analýza byla provedena pomocí softwaru STATA 13.1. Kontinuální data jsou prezentována jako průměr se standardní odchylkou nebo medián a interkvartilové rozpětí; kategorická data jsou prezentována jako počty/hodnoty a procenta s intervaly spolehlivosti. Rozdíly mezi hodnotami před a po POEM byly testovány pomocí Studentova t-testu nebo Wilcoxonova párového testu. Kaplan-Meierova křivka byla použita k zobrazení trvání klinického efektu. Logistická regresní analýza byla provedena k hodnocení faktorů asociovaných s patologickým gastroezofageálním refluxem po POEM.

### **3. Motilita jícnu po POEM**

Jednalo se o retrospektivní analýzu prospektivně získaných dat pacientů, kteří podstoupili POEM v našem centru mezi prosincem 2012 a prosincem 2018. Do studie byli zahrnuti všichni konsektivní pacienti s achalázií jícnu, kteří podstoupili POEM na našem pracovišti, dokončili alespoň tříměsíční dobu sledování a u nichž byla provedena jícnová manometrie s vysokým rozlišením před a po výkonu.

Achalázie byla diagnostikována u všech pacientů pomocí endoskopie, HRM a RTG polykacího aktu. Tíže symptomů byla hodnocena pomocí Eckardtova skóre. Zaznamenávána byla i demografická data pacientů a všichni pacienti byli sledováni dle standardizovaného protokolu. V rámci první klinické kontroly 3 měsíce po výkonu byla provedena gastrokopie, HRM, polykací akt a 24-hodinová pH metrie. K hodnocení klinického efektu bylo použito Eckardtovo skóre, kdy léčebný úspěch byl definován jako ES < 3.

HRM byly prováděny ve třech terciárních gastroenterologických centrech (IKEM, Praha, Fakultní nemocnice Plzeň, Nemocnice Kolín), technika provedení se neliší od popisu výše (str. 8). Všechny provedené HRM záznamy byly opětovně vyhodnoceny jedním expertem (ZV). Z manometrických parametrů byl hodnocen průměrný klidový tonus dolního jícnového svěrače (lower esophageal sphincter pressure, LESP), průměrný integrovaný

relaxační tlak (IRP) a motilita jícnu byla jako celek klasifikována před i po POEM dle aktuální platné verze Chicagské klasifikace (CC) v3.0.<sup>21</sup> Peristaltická kontraktilní aktivita po POEM byla definována přítomností integrity v 20 mmHg izobarické kontuře v délce alespoň 3 cm distálně od přechodové zóny. Tzv. selhaná peristaltika (žádná peristaltická kontraktilní aktivita) byla definována jako <3 cm nebo nepřítomné 20 mmHg izobarické integrity.

Data jsou prezentována jako počty a procenta nebo jako průměry se směrodatnou odchylkou, pokud v textu není specifikováno jinak. Ke srovnání manometrických hodnot před a po POEM jsme použili neparametrický Wilcoxonův test. Neparametrický Mann-Whitneyův U test pro kontinuální hodnoty a Fisherův exaktní test pro kategorické hodnoty byly použity k porovnání dat z nezávislých skupin (kde pacienti byli rozděleni podle určitého specifického parametru). Ke srovnání rozdílů mezi 3 typy achalázie jsme použili Kruskal-Wallisův test. K modelaci vlivu typu achalázie a předchozí léčby na hodnotu IRP byla provedena multilineární regrese. Intervaly spolehlivosti u diskrétních hodnot byly stanoveny pomocí bootstrappingu. Univariantní analýza pomocí Mann-Whitneyova U testu a logistické regrese připravené pro každý parametr byla použita k hledání prediktivních faktorů obnovení kontraktility jícnu po myotomii. Statistická analýza byla provedena pomocí softwaru SciPy (verze 1.3.1) pro Python a Statsmodels (verze 0.10.1) pro Python v 2.7.16.

## VÝSLEDKY

### 1. Frekvence HLA-DQB1 rizikové alely u různých HRM typů achalázie

#### *Charakteristika pacientů a výsledky HRM*

Celkem jsme do studie zařadili 347 pacientů s achalázií jícnu klasifikovaných do tří typů (I-III) dle Chicagské klasifikace. Jednalo se o 163 pacientů z České republiky/Slovenska (71 žen, 92 mužů), 114 pacientů z Německa (65 žen, 49 mužů) a 70 pacientů z Řecka (36 žen, 34 mužů). V době zařazení byl celkový průměrný věk pacientů 49 ( $\pm 13$ ) let. V jednotlivých skupinách dle typu achalázie byl průměrný věk následující: 43 ( $\pm 17$ ) u typu I, 49 ( $\pm 15$ ) u typu II a 56 ( $\pm 16$ ) u typu III. Pacienti s achalázií typu I byli významně mladší než pacienti s typem II ( $p=0,005$ ) a III ( $p=0,0002$ ). Z celkového počtu 347 pacientů mělo 89 (25,7 %) achalázii typu I, 210 (60,5 %) typu II a 48 (13,8 %) typu III.

#### *Genotyp-fenotyp asociační analýza*

GxP analýza ukázala, že frekvence alely C (reprezentující rs28688207 polymorfismus, tedy alelu kódující HLA-DQ $\beta$ 1 inzerci) byla mezi jednotlivými HRM typy významně odlišná a v některých případech dosáhly tyto rozdíly statistické významnosti ( $p=0,038$ ). Nejvyšší prevalence alely byla u pacientů s achalázií typu I (27,0 %), dále u typu II (16,7 %) a nejnižší u typu III (10,4 %). Kromě toho, při kombinaci homozygotních (CC) a heterozygotních (CT) nositelů alely C u jednotlivých HRM typů byla potvrzena asociace rizikové alely s achalázií typu I. Tato asociace byla statisticky významná při porovnání typu I a II ( $p=0,033$ ) a hraničně významná při porovnání typu I a II ( $p=0,056$ ). Nález byl konzistentní i při hodnocení jednotlivých populací zvláště, alela C byla nejčastější u typu I ve srovnání s typem II a III v populacích z České republiky/Slovenska, Německa i Řecka.

### *Replikace a populační frekvence*

Analýza frekvence rs28688207 varianty v české a slovenské populaci potvrdila významnou asociaci alely C s achalázií ( $p=9,44 \times 10^{-6}$ , relativní riziko (RR)= 4,31). Frekvence alely C byla 10,7 % u pacientů a 2,7 % u kontrol. Stejně tak jsme potvrdili tuto asociaci v souboru řeckých pacientů a kontrol ( $p=0,013$ , RR= 1,88). Zde byla frekvence alely C 15,7 % u pacientů a 9,0 % u kontrol. Frekvence alely C tak byla třikrát nižší (2,7 % vs. 9,0 %) v české/slovenské populaci ve srovnání s populací řeckou. Potvrdili jsme tak již dříve popsany severojižní gradient frekvence rizikové alely.

## **2. Perorální endoskopická myotomie**

### *Charakteristika souboru*

Do studie bylo zařazeno celkem 132 pacientů (62 žen, 46,9 %), s průměrným věkem 47 let. HRM diagnózy (118/132) byly následující: achalázie I. typu - 18 (15,3 %), achalázie II. typu - 88 (74,6 %), achalázie III. typu - 10 (8,5 %), kladivový jícn - 1 (0,8 %), obstrukce výtokové části ezofagogastrické junkce (EGJOO) - 1 (0,8 %), neurčeno - 14. Předchozí léčbu podstoupilo 35 pacientů (26,5 %) a 5 pacientů podstoupilo re-POEM.

Průměrná doba sledování po POEM byla 19 měsíců (rozpětí 2-41). Výkon se podařilo provést u všech kromě jednoho ze 133 pacientů. Technický neúspěch byl způsoben těžkou submukózní fibrózou v důsledku předchozího ozařování, díky níž nebylo možné vytvořit submukózní tunel. U 35 pacientů, kteří podstoupili jinou léčbu před POEM (botulotoxin, pneumatická dilatace nebo LHM), byla průměrná doba mezi poslední léčbou a POEM 23 měsíců (rozpětí 3-480 měsíců).

### *Bezpečnost metody a nežádoucí účinky*

U 108 pacientů (82,0 %) jsme nezaznamenali žádné nežádoucí účinky, u 24 pacientů (18,0 %) se vyskytly perioperační, většinou mírné, komplikace jako např. nechtěné poranění sliznice, periprocedurální krvácení, subkutánní emfyzém, teplota po výkonu atd. Jeden pacient musel po výkonu podstoupit drenáž pleurálního výpotku (nejspíše v důsledku odloženého krvácení do submukózního tunelu). Při drenáži a podání antibiotik došlo k úpravě stavu a pacient byl 15. pooperační den propuštěn. Tato komplikace byla hodnocena jako Clavien-Dindo IIIa, všechny ostatní jako Clavien-Dindo I.<sup>27</sup> U všech pacientů jsme pomyotomii úspěšně uzavřeli slizniční vstup endoskopickými klipy během výkonu, nicméně u 2 pacientů bylo nutné přidat 1-2 klipy při kontrolní endoskopii první den po výkonu. U jednoho pacienta byl diskretní únik KL prokázán na skioskopii řešen odložením perorálního příjmu o 1 den, než došlo k definitivnímu spontánnímu uzávěru incize. Nechtěné poranění sliznice bylo identifikováno u 8 pacientů (6,0 %) a bylo řešeno buď uzávěrem klipy ( $n=1$ ) nebo se zhojilo spontánně ( $n=7$ ).

### *Symptomatické a fyziologické výsledky*

Symptomy byly hodnoceny 3 měsíce ( $n=112$ ), 6 měsíců ( $n=92$ ), 12 měsíců ( $n=74$ ) a 24 měsíců ( $n=40$ ) po výkonu. Všichni pacienti byli sledováni a žádný pacient ze sledování nevypadl. Léčebný úspěch definovaný jako  $ES < 3$  byl přítomen u 93,4 % (CI 86,5-96,8) pacientů za 12 měsíců a u 84,0 % (CI 71,4-91,4) pacientů za 24 měsíců (obrázek 3). HRM analýza ukázala významný pokles LESP [41,7 ( $\pm 20,1$ ) mmHg vs. 21,3 ( $\pm 11,5$ ) mmHg] i IRP [27,5 ( $\pm 13,9$ ) mmHg vs. 12,7 ( $\pm 6,1$ ) mmHg]. Polykací akt prokázal významné zlepšení vyprazdňování jícnu [výška sloupce KL v 5. minutě 8,8 ( $\pm 4,4$ ) cm vs. 1,5 ( $\pm 2,8$ ) cm] a zmenšení jeho šíře [3,8 ( $\pm 1,2$ ) cm vs. 2,9 ( $\pm 0,9$ ) cm].

### *Reflux po POEM*

Pyróza a/nebo regurgitace byly přítomny u 28 pacientů 3 měsíce po POEM (25,2 %) a u 22 pacientů 12 měsíců po POEM (29,7 %). Tři měsíce po POEM byla refluxní ezofagitida diagnostikována u 41 pacientů (37,6 %). U žádného pacienta nebyla přítomna těžká ezofagitida (stupně C nebo D dle Los Angeles klasifikace). 24hod pH-metrie (po vysazení IPP) ukázala abnormální expozici kyselině u 39 pacientů (41,5 %). Celkem u 42 pacientů (37,8 %) byly nasazeny inhibitory protonové pumpy, buď jednou denně nebo v režimu „on-demand“, tj. podle potřeby. IPP byly podány pacientům se symptomy nebo těm s ezofagitidou; patologické hodnoty DeMeesterova skóre >14,72 při pH-metrii nebyly samy o sobě indikací k léčbě IPP.

Mužské pohlaví bylo jediným faktorem významně asociovaným s přítomností refluxní ezofagitidy po POEM ( $p=0,04$ ; OR 2,3) v univariální logistické regresní analýze; žádnou asociaci jsme neprokázali mezi refluxní ezofagitidou a věkem, původním BMI, délkou myotomie, vstupním a výstupním IRP, šířkou jícnu před a po POEM měřenou na RTG a Eckardtovým skóre před a po POEM. V multivariální analýze však již žádná signifikantní asociace prokázána nebyla.

### *Prediktory rekurence a refluxní ezofagitidy po POEM*

Ke studii faktorů asociovaných s rekurencí jsme použili deskriptivní statistiku, jelikož počet pozorovaných jevů byl nedostatečný k provedení multivariální analýzy. Faktory, u kterých jsme zjišťovali možnou asociaci s rekurencí, byly: věk, původní BMI, pohlaví, IRP před a po POEM, Eckardtovo skóre před POEM, délka myotomie, šířka jícnu před a po POEM, refluxní ezofagitida po POEM, předchozí léčba a typ achalázie. Pouze typ achalázie se ukázal být potenciálním prediktorem rekurence: větší část pacientů s typem I měla rekurenci (3 z 18; 16,7 %) než pacientů s typem II (1 z 88; 1,1 %) a typem III (0 z 10; 0 %;  $p<0,05$ ).

### *Léčba selhání/rekurence*

U celkem 5 pacientů nebyla léčba ve 3 měsících úspěšná (nebyl přítomný úspěch léčby) a u těchto pacientů jsme stav hodnotili jako primární selhání léčby (jednalo se o pacienty s pořadovými čísly 13, 43, 92, 102, 122). Jeden z těchto pacientů znovu podstoupil POEM, který byl úspěšný, 3 pacienti byli úspěšně léčeni pneumatickou dilatací (PD; 2 pacienti nicméně potřebovali opakovaní PD větším balónem) a jeden pacient nepodstoupil doposud žádnou léčbu. U dalších 6 pacientů se vyskytla rekurence po iniciální úspěšné léčbě [za 6M (2x), 7M (2x), 23M (1x) a 26M (1x)]. Tři z nich byli úspěšně znovu léčeni POEM, dva pacienti podstoupili PD a jeden pacient s Eckardtovým skóre 3 je stále spokojen s kvalitou života a nevyžadoval reintervenci.

## **3. Motilita jícnu po POEM**

### *Charakteristika pacientů*

Z celkového počtu 305 pacientů, kteří podstoupili v daném období POEM, bylo do studie zařazeno 237 (60 pacientů bylo vyřazeno pro inkompletní vyšetření nebo chybějící data a 8 pacientů pro jinou diagnózu než achalázie), z toho 144 mužů (60,8 %) a 93 žen (39,2 %). Padesát pacientů (50/237; 21,1 %) již před POEM podstoupilo jinou léčbu.

### *Charakteristika ezofago-gastrické junkce*

Průměrná hodnota IRP před POEM byla 28,9 ( $\pm 13,3$ ) mmHg, průměrná hodnota LESP byla 42,3 ( $\pm 17,9$ ) mmHg. Vstupní IRP i LESP byly významně nižší ve skupině pacientů, kteří již před POEM podstoupili léčbu ( $p < 0,001$ ). Statisticky významné rozdíly v průměrných hodnotách IRP a LESP byly také mezi pacienty s jednotlivými typy achalázie [IRP: typ I vs. II 21,5 ( $\pm 11,3$ ) mmHg vs 30,7 ( $\pm 13,3$ ),  $p = < 0,001$  a typ I vs. III 21,5 ( $\pm 11,3$ ) vs 28,5 ( $\pm 10,4$ ) mmHg,  $p < 0,009$ , typ II vs III  $p = 0,257$ ]. Po POEM poklesl průměrný IRP na 13,4 ( $\pm 5,7$ ) mmHg ( $p < 0,001$ ) a k normalizaci ( $< 15$  mmHg) došlo u 120/201 (59,7 %) pacientů. LESP se snížil na 23,6 ( $\pm 10,2$ ) mmHg ( $p < 0,001$ ). IRP i LESP byly i po léčbě významně nižší u pacientů, kteří podstoupili předchozí léčbu před POEM ( $p < 0,001$ ).

### *Manometrická klasifikace jícnové motility*

Před POEM byly manometrické diagnózy dle Chicagské klasifikace (CC) následující: achalázie II. typu u 173 pacientů (73,0 %), achalázie I. typu u 42 pacientů (17,7 %) a achalázie III. typu u 22 pacientů (9,3 %). Alespoň částečná jícnová peristaltická kontraktilita byla patrná před POEM u 23 pacientů (9,7 %), jednalo se téměř výlučně o pacienty s achalázií III. typu (22 pacientů), pouze v 1 případě o pacienta s achalázií II. typu, u kterého se polknutí s jasnou kontrakcí střídala s polknutími s panesofageální presurizací.

Po POEM byla jícnová peristaltika reklasifikována pomocí CC kategorií následovně: 112x absence kontraktility, 42x achalázie I. typu, 15x achalázie II. typu, 11x achalázie III. typu, 26x inefektivní jícnová motilita (IEM), 18x obstrukce výtokové části ezofago-gastrické junkce (EGJOO), 10x fragmentovaná peristaltika a 3x distální jícnový spasmus (DES).

### *Obnova peristaltiky po POEM*

Z 214 pacientů bez známek jakékoli peristaltické kontrakce před POEM (pacienti s achalázií I. typu a všichni kromě jednoho pacienta s achalázií II. typu) se nově objevily známky jícnové peristaltiky u 47 z nich (22,0 %), dle CC klasifikace byly HRM nálezy: 4x (8,5 %) fragmentovaná peristaltika, 7x (14,9 %) achalázie III. typu, 2x (4,3 %) distální jícnový spasmus, 14x (29,8 %) EGJOO a 20x (42,5 %) inefektivní jícnová motilita.

Ve snaze identifikovat prediktivní faktory obnovy peristaltiky jsme porovnali manometrické parametry pacientů s ( $n = 47$ ) a bez ( $n = 167$ ) částečného návratu peristaltiky po POEM. IRP a LESP před POEM a IRP po POEM byly významně vyšší u pacientů s nově objevenými kontrakcemi po POEM ( $p = 0,003$ ;  $p = 0,010$ ;  $p = 0,039$ ). Při použití logistické regrese jsme však neprokázali, že by některý z těchto parametrů byl významným prediktorem. Mezi jednotlivými HRM typy achalázie byla částečná obnova peristaltiky nejčastěji přítomna u achalázie II. typu [24,4 % (95 % CI 18,0-30,8 %)] ve srovnání s typem I [11,9 % (95 % CI 2,4-23,8 %)]. Tento trend však nebyl statisticky významný ( $p = 0,097$ ).

### *Klinický význam návratu peristaltiky*

Průměrné Eckardtovo skóre (ES) před POEM bylo 6,9 ( $\pm 2$ ). Léčebného úspěchu ve 3-6 měsících bylo dosaženo u 224 pacientů (224/231, 97,0 %). Průměrné ES po POEM bylo 0,4 ( $\pm 0,8$ ). Průměrné ES bylo 0 i u většiny pacientů, u kterých se IRP po POEM nenormalizoval (tzn.  $> 15$  mmHg, 60/80, 75,0 %). Výška sloupce stagnující kontrastní látky v 5ti minutách při skiagrafičtém vyšetření jícnu významně klesla z 7,9 ( $\pm 4,2$ ) cm před POEM na 1,4 ( $\pm 2,5$ ) cm po POEM ( $p < 0,001$ ), stejně tak i maximální šíře jícnu klesla z 3,7 ( $\pm 1,3$ ) cm na 2,6 ( $\pm 1,2$ ) cm ( $p < 0,001$ ). S ohledem na částečnou obnovu peristaltiky se ani ES, ani RTG parametry nelišily u pacientů s a bez návratu peristaltické aktivity jícnu ( $p = 1,000$ ).

## DISKUZE

### 1. Frekvence HLA-DQB1 rizikové alely u různých HRM typů achalázie

Tato studie je první genotyp-fenotyp (GxP) asociační studií u achalázie hodnotící vztah mezi nedávno objevenou nejsilnější genetickou rizikovou variantou rs28688207 lokalizované v HLA-DQB1 regionu šestého chromozomu a třemi typy achalázie dle HRM klasifikace (I, II a III).<sup>7</sup>

GxP analýza prokázala statisticky významné rozdíly ve frekvenci HLA-DQB1 inzerce mezi jednotlivými HRM typy achalázie. Ukázali jsme, že pacienti s typem I jsou častěji nositeli této inzerce ve srovnání s typem III a nejspíše i typem II (zde byl statistický rozdíl hraniční). Naše výsledky naznačují, že u achalázie typu I, která je manometricky charakterizovaná kompletní absencí jícnové kontraktility v důsledku myenterické agangliózy a klinicky reprezentuje těžší formu choroby, může inzerce hrát v patogenezi významnější roli oproti ostatním typům.

Na molekulární úrovni způsobuje rs28688207 inzerce 8-aminokyselinového zbytku do proteinu HLA-DQB1 a vede ke strukturální změně cytoplazmatického konce HLA-DQ receptoru. HLA-DQ, jako MHC molekula II. třídy, vystavuje antigeny na povrchu antigenprezentujících buněk (APC), což vede k aktivaci CD4+ T-lymfocytů a zahajuje tak adaptivní (buněčnou i protilátkovou) imunitní odpověď. Cytoplazmatický konec (cytoplasmatic tail, CT) HLA-DQ receptoru se účastní různých kontrolních aspektů imunitní odpovědi jako např. nitrobuněčné distribuce a aktivace některých signálních drah. U nosičů rizikové rs28688207 alely představuje HLA-DQB1 inzerce spojující peptidový motiv, který řídí nitrobuněčnou signální dráhu cyklického adenosin monofostátu (cAMP), která je nezbytná pro aktivaci B-lymfocytů a produkci protilátek v rámci imunitní odpovědi. Na druhou stranu, v případě nepřítomnosti rizikové alely je signální motiv nahrazen a cAMP signální dráha je narušená. Nosiči HLA-DQB1 inzerce tak mohou mít hypoteticky zesílenou imunitní odpověď ve srovnání s těmi, kteří inzerce nemají.<sup>28</sup>

Tak jak se liší výskyt rizikové alely mezi jednotlivými typy achalázie, může se lišit i intenzita imunitní odpovědi. Tato hypotéza je podpořena nálezem několika (i když nečetných) patologických studií, které ukázaly, že rozsah a nálezy typických histopatologických změn ve vzorcích muscularis propria jícnu pacientů s achalázií, jako jsou zánětlivá infiltrace, deplece ganglionárních buněk a fibróza, nejsou ve všech případech uniformní.<sup>29-33</sup> Např. u pokročilejších stádií onemocnění (pacienti vyžadující ezofagektomii, manometricky odpovídající typu I.) byla deplece neuronů myenterického plexu významnější.<sup>32</sup> Sodikoff et al. navíc analyzovali heterogenitu histopatologických nálezů v kontextu manometrických typů a prokázali signifikantně vyšší četnost nálezu aganglionózy či alespoň významnější redukci ganglionárních buněk v muscularis propria ve vzorcích pacientů s achalázií I. typu ve srovnání s typem II.<sup>30</sup> Ze všech těchto studií lze tedy usuzovat, že achalázie I. typu může reprezentovat těžší či pokročilejší fenotyp onemocnění, kde je progresse a rychlost poškození myenterického plexu v důsledku destruktivního autoimunitního zánětu akcelerována. Tyto mechanismy mohou být teoreticky, bezesporu ale společně s dalšími faktory, nastartovány zvýšenou imunitní odpovědí díky HLA-DQB1 inzerce.

Naše studie současně potvrdila severojižní gradient ve výskytu HLA-DQB1 inzerce u pacientů s achalázií napříč Evropou – tj. že inzerce je častější (a to nejen u pacientů, ale i v normální populaci) na jihu a méně častá na severu Evropy. Obdobný gradient byl již dříve popsán u jiných imunitně zprostředkovaných chorob (jako např. Crohnova choroba, diabetes mellitus 1. typu, IgA nefropatie), u kterých genetická variabilita HLA lokusu hraje důležitou roli v patogenezi.<sup>34,35</sup> Příčiny těchto geografických gradientů nejspíše souvisí s evolučními

mechanismy jako genetický drift či přírodní selekce v kontextu různých faktorů daného prostředí.

## 2. Perorální endoskopická myotomie

V naší retrospektivní analýze jsme prokázali výborný krátkodobý léčebný efekt POEM. Tři měsíce po výkonu byla léčba úspěšná u více než 95 % pacientů a počet relapsů byl během prvního roku velmi malý; úspěch léčby zůstal nad 90 %. Tyto výsledky jsou srovnatelné s výsledky řady jiných autorů prokazujících téměř vždy vynikající krátkodobý efekt u více jak 90 % pacientů.<sup>9-12,36</sup> Dva roky po výkonu došlo v našem souboru k poklesu terapeutického úspěchu na 84 % v důsledku rekurencí, což značí, že klinická efektivita klesá v čase. Je to nejspíše dáno přirozeným vývojem achalázie jako chronického a prozatím nevyléčitelného onemocnění s nevratnými patologickými a patofyziologickými změnami. V době analýzy bylo k dispozici zatím velmi málo dat hodnotících dlouhodobé výsledky POEM.

Dvě multicentrické studie hodnotily retrospektivně klinický efekt POEM u pacientů s minimální dobou sledování 2 roky. Werner et al. zjistili, že po počátečním úspěchu 96,3 % došlo k rekurenci u 18 % pacientů.<sup>37</sup> Druhá studie analyzovala data z 10 center a zjistila pouze mírný pokles účinnosti v čase – léčebný úspěch poklesl z iniciálního 98 % na 91 % za 2 roky.<sup>38</sup> V naší studii je frekvence selhání léčby přibližně 15 % za 2 roky a nachází se tak mezi hodnotami ve výše uvedených studiích. Zdá se, že u POEM lze z dlouhodobého hlediska očekávat rekurenci až 20 %. Ve velké prospektivní randomizované studii srovnávající PD s LHM došlo po pěti letech k cca 15 % relapsům v obou skupinách.<sup>39</sup> Zásadní údaje přinesla recentně publikovaná randomizovaná studie (jejíž bylo naše centrum součástí), srovnávající POEM s LHM. Dva roky po POEM či LHM byl počet relapsů srovnatelný u obou metod kolem 20 %.<sup>24</sup> Ať už je tedy zvolena jakákoli léčba, měli by být pacienti s achalázií dlouhodobě sledováni, neboť část z nich bude vyžadovat opakování léčby.

Významným aspektem v hodnocení účinnosti a bezpečnosti POEM je rozvoj gastroezofageálního refluxu po provedení endoskopické myotomie. POEM, na rozdíl od LHM, není doplněn žádným antirefluxním výkonem. Podle publikovaných metaanalýz je refluxní ezofagitida přítomna po POEM u 13-19 % pacientů.<sup>11,40</sup> V některých studiích však její výskyt dosáhl až 37-59 %.<sup>9,38</sup> Ezofagitida po POEM obvykle nebývá těžkého stupně (většinou jde o stupně Los Angeles klasifikace A-B) a zatím se zdá, že je uspokojivě řešitelná pomocí inhibitorů protonové pumpy. V našem souboru byl výskyt ezofagitidy 38 %; 25 % pacientů udávalo ve 3 měsících a 30 % ve 12 měsících přítomnost refluxních příznaků. Zásadní údaje k problematice refluxu po POEM (a po LHM s fundoplikací) přinesla již výše zmíněná randomizovaná studie – refluxní ezofagitida byla přítomna ve 3 měsících u 57 % pacientů po POEM a u 20 % pacientů po LHM (statisticky významný rozdíl, OR 5,74, 95 % CI, 2,99-11). Dva roky po POEM byla (většinou mírná) ezofagitida přítomna u 44 % pacientů po POEM a u 29 % pacientů po LHM – rozdíl zde již nebyl statisticky významný (OR 2,0, 95 % CI, 1,03-3,85). IPP bylo léčeno 53% vs 27% pacientů ve dvou letech. Tato studie potvrdila, že iatrogenní reflux po POEM je častý a až polovina pacientů musí být léčena IPP. Překvapením však bylo zjištění, že GE reflux není nevýznamný ani po LHM s parciální fundoplikací, IPP zde muselo brát téměř 30% pacientů.<sup>24</sup> V každém případě je nezbytné pečlivě sledovat a analyzovat dlouhodobé důsledky iatrogenního refluxu a pacienti indikovaní k POEM musí být o tomto riziku předem poučeni.

Potvrdili jsme, že POEM je bezpečný výkon. Nepozorovali jsme žádné závažné komplikace jako např. mediastinitidu či peritonitidu. Nejzávažnější komplikací byl pleurální výpotek, který musel být přechodně drénován. Ostatní komplikace jsme hodnotili jako Clavien-Dindo I a nebyly klinicky významné. Tyto výsledky jsou v souladu s výsledky již

publikovanými.<sup>8,11,12,38-43</sup> Zdá se, že POEM je dokonce bezpečnější než současný „zlatý standard“ (LHM) ve výskytu pooperačních závažných komplikací. Dvě recentní metaanalýzy zahrnující 1045 a 2373 pacientů s POEM nepopsaly jediný případ, kdy by pacient musel být operován či by dokonce došlo k úmrtí.<sup>40,43</sup> Naproti tomu byl po LHM výskyt závažných komplikací 2,4 % v národním auditu všech provedených LHM (1237 případů) zaznamenaných v databázi chirurgických výkonů v letech 2005-2011 z USA.<sup>44</sup> Mezi těmito komplikacemi byly 4 případy úmrtí (0,3 %), 2,3 % reoperací, 3,1 % rehospitalizací a 0,7 % pacientů mělo septický šok. Mortalita LHM může tedy být 10x vyšší (cca 0,4 %) než u POEM (cca 0,04 %). Na tomto místě je vhodné zmínit, že k jednomu ze čtyř známých úmrtí v souvislosti s POEM na světě došlo na našem oddělení, POEM samotný však nebyl bezprostřední příčinou úmrtí, které bylo kardiální etiologie.<sup>45</sup>

### 3. Motilita jícnu po POEM

Tato studie hodnotila doposud největší soubor pacientů, u kterých byla motilita jícnu po POEM charakterizovaná pomocí manometrie s vysokým rozlišením. Hlavním výsledkem studie je zjištění, že u téměř čtvrtiny pacientů (22,0 %) se peristaltika nebo spíše kontraktilní aktivita v těle jícnu po uvolnění obstrukce v oblasti ezofagogastrické junkce částečně navrátila. Zvláště se tak dělo u achalázie II. typu. Z klinického hlediska jsme však nenašli jasnou asociaci tohoto jevu s klinickým efektem. Hodnocení obnovení peristaltiky, která u achalázie před léčbou typicky není vůbec přítomna, po uvolnění obstrukce v oblasti dolního jícnového svěrače má význam ze dvou důvodů. Jednak nám umožňuje hlouběji se zamyslet nad patofyziologií achalázie s cílem objasnit, zda narušená či zcela nepřítomná peristaltika u achalázie je jevem primárním či sekundárním. A zadruhé, pokud opravdu dojde k obnově kontraktility, je otázkou, zda tento fenomén má klinický význam.

Recentně se otázce možné obnovy peristaltiky po laparoskopické nebo endoskopické myotomii věnovalo několik studií s omezeným počtem pacientů, většina z nich se zaměřilo pouze na HRM parametry (IRP a LESP).<sup>9,13,17,18</sup> Nicméně fenomén návratu peristaltiky po uvolnění obstrukce ezofagogastrické junkce (EGJ) je znám a byl popsán v řadě studií v minulosti, ať již klinických či experimentálních na zvířecích modelech.<sup>14-16</sup> V naší současné studii jsme ukázali, že peristaltické kontrakce jsou patrné u 28,7 % všech pacientů po POEM, včetně těch pacientů, kteří měli peristaltiku přítomnou již před POEM (achalázie III. typu), o skutečnou obnovu peristaltiky (pacienti s achalázií I a II typu před POEM) se jednalo ve 22,0 %. Tato frekvence je významně nižší ve srovnání s předchozími studii hodnotícími fyziologické výsledky po myotomii. Např. Teitelbaum et al. popsali obnovu peristaltiky u 47 % (8/21) pacientů po POEM a Roman et al. dokonce u 57 % pacientů po LHM a POEM.<sup>9,13</sup> Není proto nejspíše pochyb, že tento fenomén existuje, ale data o jeho frekvenci se významně liší. V naší studii jsme zaznamenali zatím nejnižší frekvenci obnovy peristaltiky po POEM. Důvodem může být, že do naší studie bylo zahrnuto významně více pacientů než ve všech předešlých (21-45 pacientů v ostatních studiích vs. 237 pacientů v naší studii) a dále fakt, že metodologie se v různých studiích liší. Zároveň vyvstává otázka, jak tyto „nové“ peristaltické kontrakce vznikají. Hypotéza je taková, že u pacientů s achalázií II. typu, charakterizovaného panezofageálními presurizacemi (což jsou simultánní kontrakce longitudinální svalové vrstvy stěny jícnu), je určitá kontraktilní rezerva zachována, ale je těmito silnými presurizacemi zamaskována a až po uvolnění obstrukce EGJ dojde k odhalení těchto kontrakcí. Pokud je tato hypotéza správná, pak je reálné procento pacientů s obnovou peristaltiky ještě nižší.

Zajímavým nálezem je, že pacienti s achalázií jícnu II. typu (ve srovnání s I. typem) mají určitou predispozici k obnově peristaltiky. Přestože však frekvence pacientů s achalázií



II. typu s obnovou peristaltiky byla dvojnásobná oproti typu I., tento rozdíl nebyl statisticky významný ( $p=0,097$ ). Z patofyziologického hlediska však tento nálezn může být významný. Z klinických studií je známo, že různé manometrické typy achalázie reagují na léčbu odlišně.<sup>2,46</sup> V histopatologických studiích byla také prokázána významná heterogenita v míře zániku či degenerace inhibičních neuronů myenterického plexu, intenzitě zánětlivé infiltrace i fibrotických změn ve vzorcích svaloviny jícnu mezi pacienty s achalázií.<sup>29-33</sup> Achalázie I. typu se zdá být pokročilejší formou onemocnění s kompletní ztrátou ganglionických neuronů, výraznější fibrózou a tedy i kompletní absencí peristaltiky, bez potenciálu na její obnovu a reprezentuje tak nejspíše agresivnější fenotyp, zatímco typ III a nejspíše i typ II se zdají mít poněkud rozdílné patogenetické dráhy či alespoň pomalejší rychlost progresu patologických změn s alespoň částečně zachovalou peristaltikou jícnu či potenciálem k její obnově po myotomii.

Přestože fenomén částečného návratu peristaltiky není vzácný, ale pravděpodobně ani tak častý, jak bylo uváděno dříve, jeho klinický význam nebyl jasný, neboť většina studií vztah ke klinickému efektu léčby nehodnotila. V naší studii jsme neprokázali asociaci mezi restaurací peristaltiky a symptomatickým efektem hodnoceným pomocí RTG parametrů vyprazdňování jícnu a Eckardtova skóre, které je, navzdory zřejmým limitacím tohoto skórovacího systému, z klinického pohledu nejdůležitější.

## **ZÁVĚRY**

### **1. Frekvence HLA-DQB1 rizikové alely u různých HRM typů achalázie**

Naše studie potvrzuje HLA-DQB1 inzerci jako významný rizikový faktor asociovaný s idiopatickou achalázií. Jako první jsme ukázali, že zastoupení této inzerce se liší mezi jednotlivými HRM typy achalázie a je nejčastější u typu I. Přesná role této genetické rizikové varianty v ovlivnění imunitních procesů účastnících se patogeneze achalázie však zatím není objasněna.

### **2. Perorální endoskopická myotomie**

Naše studie potvrdila výbornou krátkodobou i střednědobou účinnost i bezpečnost metody POEM v léčbě achalázie jícnu. Naše výsledky naznačují, že vyšší výskyt rekurencí lze očekávat po 2 letech od výkonu. U více než třetiny pacientů došlo ke vzniku refluxní ezofagitidy a více než 40 % pacientů mělo prokázaný patologicky zvýšený kyselý reflux. K zvládnutí základní operační techniky je potřebné provedení minimálně 18 výkonů.

### **3. Motilita jícnu po POEM**

V naší studii jsme ukázali, že částečný návrat peristaltiky po POEM není sice vzácný, ale nejspíše ani tak častý fenomén, jak se doposud předpokládalo. Nově byly kontrakce v jícnu pozorovány u 22 % pacientů a v rámci manometrických typů se častěji vyskytuje u achalázie II. typu. Z klinického hlediska se však zdá, že tento fenomén nemá zásadní význam, neboť restaurace peristaltiky nebyla asociovaná s lepším symptomatickým efektem myotomie či vyprazdňováním jícnu při RTG pasáži.

## LITERATURA:

1. Bredenoord AJ, Fox M, Kahrilas PJ, Pandolfino JE, Schwizer W, Smout AJ. Chicago classification criteria of esophageal motility disorders defined in high resolution esophageal pressure topography. *Neurogastroenterology and Motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2012;24 Suppl 1:57-65.
2. Pandolfino JE, Kwiatek MA, Nealis T, Bulsiewicz W, Post J, Kahrilas PJ. Achalasia: a new clinically relevant classification by high-resolution manometry. *Gastroenterology* 2008;135:1526-33.
3. Kahrilas PJ, Ghosh SK, Pandolfino JE. Esophageal motility disorders in terms of pressure topography: the Chicago Classification. *Journal of Clinical Gastroenterology* 2008;42:627-35.
4. Pandolfino JE, Fox MR, Bredenoord AJ, Kahrilas PJ. High-resolution manometry in clinical practice: utilizing pressure topography to classify oesophageal motility abnormalities. *Neurogastroenterology and Motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2009;21:796-806.
5. Ates F, Vaezi MF. The Pathogenesis and Management of Achalasia: Current Status and Future Directions. *Gut and Liver* 2015;9:449-63.
6. Gockel HR, Schumacher J, Gockel I, Lang H, Haaf T, Nothen MM. Achalasia: will genetic studies provide insights? *Human Genetics* 2010;128:353-64.
7. Gockel I, Becker J, Wouters MM, Niebisch S, Gockel HR, Hess T, Ramonet D, Zimmermann J, Vigo AG, Trynka G, de Leon AR, de la Serna JP, Urcelay E, Kumar V, Franke L, Westra HJ, Drescher D, Kneist W, Marquardt JU, Galle PR, Mattheisen M, Annese V, Latiano A, Fumagalli U, Laghi L, Cuomo R, Sarnelli G, Muller M, Eckardt AJ, Tack J, Hoffmann P, Herms S, Mangold E, Heilmann S, Kiesslich R, von Rahden BH, Allescher HD, Schulz HG, Wijmenga C, Heneka MT, Lang H, Hopfner KP, Nothen MM, Boeckstaens GE, de Bakker PI, Knapp M, Schumacher J. Common variants in the HLA-DQ region confer susceptibility to idiopathic achalasia. *Nature Genetics* 2014;46:901-4.
8. Inoue H, Sato H, Ikeda H, Onimaru M, Sato C, Minami H, Yokomichi H, Kobayashi Y, Grimes KL, Kudo SE. Per-Oral Endoscopic Myotomy: A Series of 500 Patients. *Journal of the American College of Surgeons* 2015;221:256-64.
9. Teitelbaum EN, Soper NJ, Santos BF, Arafat FO, Pandolfino JE, Kahrilas PJ, Hirano I, Hungness ES. Symptomatic and physiologic outcomes one year after peroral esophageal myotomy (POEM) for treatment of achalasia. *Surgical Endoscopy* 2014;28:3359-65.
10. von Renteln D, Inoue H, Minami H, Werner YB, Pace A, Kersten JF, Much CC, Schachschal G, Mann O, Keller J, Fuchs KH, Rosch T. Peroral endoscopic myotomy for the treatment of achalasia: a prospective single center study. *The American Journal of Gastroenterology* 2012;107:411-7.
11. Patel K, Abbassi-Ghadi N, Markar S, Kumar S, Jethwa P, Zaninotto G. Peroral endoscopic myotomy for the treatment of esophageal achalasia: systematic review and pooled analysis. *Diseases of the Esophagus : official journal of the International Society for Diseases of the Esophagus* 2016;29:807-819.
12. Ramchandani M, Nageshwar Reddy D, Darisetty S, Kotla R, Chavan R, Kalpala R, Galasso D, Lakhtakia S, Rao GV. Peroral endoscopic myotomy for achalasia cardia: Treatment analysis and follow up of over 200 consecutive patients at a single center. *Digestive Endoscopy : official journal of the Japan Gastroenterological Endoscopy Society* 2016;28:19-26.

13. Roman S, Kahrilas PJ, Mion F, Nealis TB, Soper NJ, Poncet G, Nicodeme F, Hungness E, Pandolfino JE. Partial recovery of peristalsis after myotomy for achalasia: more the rule than the exception. *JAMA Surgery* 2013;148:157-64.
14. Parrilla P, Martinez de Haro LF, Ortiz A, Morales G, Garay V, Aguilar J. Factors involved in the return of peristalsis in patients with achalasia of the cardia after Heller's myotomy. *The American Journal of Gastroenterology* 1995;90:713-7.
15. Patti MG, Galvani C, Gorodner MV, Tedesco P. Timing of surgical intervention does not influence return of esophageal peristalsis or outcome for patients with achalasia. *Surgical Endoscopy* 2005;19:1188-92.
16. Zaninotto G, Costantini M, Anselmino M, Boccu C, Ancona E. Onset of oesophageal peristalsis after surgery for idiopathic achalasia. *The British Journal of Surgery* 1995;82:1532-4.
17. Huh CW, Youn YH, Chung H, Lee YC, Park H. Functional restoration of the esophagus after peroral endoscopic myotomy for achalasia. *PLoS One* 2017;12:e0178414.
18. Lu B, Li M, Hu Y, Xu Y, Zhang S, Cai LJ. Effect of peroral esophageal myotomy for achalasia treatment: A Chinese study. *World Journal of Gastroenterology* 2015;21:5622-9.
19. Dimitriou M, Rallidis LS, Theodoraki EV, Kalafati IP, Kolovou G, Dedoussis GV. Exclusive olive oil consumption has a protective effect on coronary artery disease; overview of the THISEAS study. *Public Health Nutrition* 2016;19:1081-7.
20. Becker J, Haas SL, Mokrowiecka A, Wasielica-Berger J, Ateeb Z, Bister J, Elbe P, Kowalski M, Gawron-Kiszka M, Majewski M, Mulak A, Janiak M, Wouters MM, Schwammle T, Hess T, Veits L, Niebisch S, Santiago JL, de Leon AR, de la Serna JP, Urcelay E, Annese V, Latiano A, Fumagalli U, Rosati R, Laghi L, Cuomo R, Lenze F, Sarnelli G, Muller M, von Rahden BH, Wijmenga C, Lang H, Czene K, Hall P, de Bakker PI, Vieth M, Nothen MM, Schulz HG, Adrych K, Gasiorowska A, Paradowski L, Wallner G, Boeckxstaens GE, Gockel I, Hartleb M, Kostic S, Dziurkowska-Marek A, Lindblad M, Nilsson M, Knapp M, Thorell A, Marek T, Dabrowski A, Malecka-Panas E, Schumacher J. The HLA-DQB1\*03:01 insertion is a strong achalasia risk factor and displays a geospatial north-south gradient among Europeans. *European Journal of Human Genetics : EJHG* 2016;24:1228-31.
21. Kahrilas PJ, Bredenoord AJ, Fox M, Gyawali CP, Roman S, Smout AJ, Pandolfino JE. The Chicago Classification of esophageal motility disorders, v3.0. *Neurogastroenterology and Motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2015;27:160-74.
22. Marchini J, Howie B, Myers S, McVean G, Donnelly P. A new multipoint method for genome-wide association studies by imputation of genotypes. *Nature Genetics* 2007;39:906-13.
23. Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO, Marchini JL, McCarthy S, McVean GA, Abecasis GR. A global reference for human genetic variation. *Nature* 2015;526:68-74.
24. Werner YB, Hakanson B, Martinek J, Repici A, von Rahden BHA, Bredenoord AJ, Bisschops R, Messmann H, Vollberg MC, Noder T, Kersten JF, Mann O, Izbicki J, Pazdro A, Fumagalli U, Rosati R, Germer CT, Schijven MP, Emmermann A, von Renteln D, Fockens P, Boeckxstaens G, Rosch T. Endoscopic or Surgical Myotomy in Patients with Idiopathic Achalasia. *The New England Journal of Medicine* 2019;381:2219-2229.

25. Eypasch E, Williams JI, Wood-Dauphinee S, Ure BM, Schmulling C, Neugebauer E, Troidl H. Gastrointestinal Quality of Life Index: development, validation and application of a new instrument. *The British Journal of Surgery* 1995;82:216-22.
26. Inoue H, Minami H, Kobayashi Y, Sato Y, Kaga M, Suzuki M, Satodate H, Odaka N, Itoh H, Kudo S. Peroral endoscopic myotomy (POEM) for esophageal achalasia. *Endoscopy* 2010;42:265-71.
27. Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Annals of Surgery*. 2004;240(2):205–213.
28. Harton J, Jin L, Hahn A, Drake J. Immunological Functions of the Membrane Proximal Region of MHC Class II Molecules. *F1000Research* 2016;5.
29. Kilic A, Krasinskas AM, Owens SR, Luketich JD, Landreneau RJ, Schuchert MJ. Variations in inflammation and nerve fiber loss reflect different subsets of achalasia patients. *The Journal of Surgical Research* 2007;143:177-82.
30. Sodikoff JB, Lo AA, Shetuni BB, Kahrilas PJ, Yang GY, Pandolfino JE. Histopathologic patterns among achalasia subtypes. *Neurogastroenterology and Motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2016;28:139-45.
31. Goldblum JR, Whyte RI, Orringer MB, Appelman HD. Achalasia. A morphologic study of 42 resected specimens. *The American Journal of Surgical Pathology* 1994;18:327-37.
32. Goldblum JR, Rice TW, Richter JE. Histopathologic features in esophagomyotomy specimens from patients with achalasia. *Gastroenterology* 1996;111:648-54.
33. Gockel I, Bohl JR, Doostkam S, Eckardt VF, Junginger T. Spectrum of histopathologic findings in patients with achalasia reflects different etiologies. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2006;21:727-33.
34. Kiryluk K, Li Y, Sanna-Cherchi S, Rohanizadegan M, Suzuki H, Eitner F, Snyder HJ, Choi M, Hou P, Scolari F, Izzi C, Gigante M, Gesualdo L, Savoldi S, Amoroso A, Cusi D, Zamboli P, Julian BA, Novak J, Wyatt RJ, Mucha K, Perola M, Kristiansson K, Viktorin A, Magnusson PK, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Stefansson K, Boland A, Metzger M, Thibaudin L, Wanner C, Jager KJ, Goto S, Maixnerova D, Karnib HH, Nagy J, Panzer U, Xie J, Chen N, Tesar V, Narita I, Berthoux F, Floege J, Stengel B, Zhang H, Lifton RP, Gharavi AG. Geographic differences in genetic susceptibility to IgA nephropathy: GWAS replication study and geospatial risk analysis. *PLoS genetics* 2012;8:e1002765.
35. Borchers AT, Uibo R, Gershwin ME. The geoepidemiology of type 1 diabetes. *Autoimmunity Reviews* 2010;9:A355-65.
36. Familiari P, Gigante G, Marchese M, Boskoski I, Tringali A, Perri V, Costamagna G. Peroral Endoscopic Myotomy for Esophageal Achalasia: Outcomes of the First 100 Patients With Short-term Follow-up. *Annals of surgery* 2016;263:82-7.
37. Werner YB, Costamagna G, Swanstrom LL, von Renteln D, Familiari P, Sharata AM, Noder T, Schachschal G, Kersten JF, Rosch T. Clinical response to peroral endoscopic myotomy in patients with idiopathic achalasia at a minimum follow-up of 2 years. *Gut* 2016;65:899-906.
38. Ngamruengphong S, Inoue H, Chiu PW, Yip HC, Bapaye A, Ujiki M, Patel L, Desai PN, Hayee B, Haji A, Wong VW, Perretta S, Dorwat S, Pioche M, Roman S, Rivory J, Mion F, Ponchon T, Garros A, Nakamura J, Hata Y, Balassone V, Onimaru M, Hajiyeva G, Ismail A, Chen YI, Bukhari M, Haito-Chavez Y, Kumbhari V, Maselli R, Repici A, Khashab MA. Long-term outcomes of per-oral endoscopic myotomy in

- patients with achalasia with a minimum follow-up of 2 years: an international multicenter study. *Gastrointestinal Endoscopy* 2017;85:927-933 e2.
39. Vela MF, Richter JE, Khandwala F, Blackstone EH, Wachsberger D, Baker ME, Rice TW. The long-term efficacy of pneumatic dilatation and Heller myotomy for the treatment of achalasia. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2006;4:580-7.
  40. Akintoye E, Kumar N, Obaitan I, Alayo QA, Thompson CC. Peroral endoscopic myotomy: a meta-analysis. *Endoscopy* 2016;48:1059-1068.
  41. Hungness ES, Sternbach JM, Teitelbaum EN, Kahrilas PJ, Pandolfino JE, Soper NJ. Per-oral Endoscopic Myotomy (POEM) After the Learning Curve: Durable Long-term Results With a Low Complication Rate. *Annals of Surgery* 2016;264:508-17.
  42. Stavropoulos SN, Modayil RJ, Friedel D, Savides T. The International Per Oral Endoscopic Myotomy Survey (IPOEMS): a snapshot of the global POEM experience. *Surgical Endoscopy* 2013;27:3322-38.
  43. Talukdar R, Inoue H, Nageshwar Reddy D. Efficacy of peroral endoscopic myotomy (POEM) in the treatment of achalasia: a systematic review and meta-analysis. *Surgical Endoscopy* 2015;29:3030-46.
  44. Ross SW, Oommen B, Wormer BA, Walters AL, Matthews BD, Heniford BT, Augenstein VA. National outcomes of laparoscopic Heller myotomy: operative complications and risk factors for adverse events. *Surgical Endoscopy* 2015;29:3097-105.
  45. Hucl T, Uchytlova E, Markvartova J, Tomasek P, Kieslichova E, Spicak J, Martinek J. Cardiac arrest as a fatal periprocedural complication of peroral endoscopic myotomy (POEM). *Endoscopy* 2020.
  46. Andolfi C, Fisichella PM. Meta-analysis of clinical outcome after treatment for achalasia based on manometric subtypes. *British Journal of Surgery*. 2019 Mar;106(4):332-341.

## SEZNAM PUBLIKACÍ:

### 1. publikace *in extenso*, které jsou podkladem disertace

#### a) s impact factorem (uvést hodnotu IF)

VACKOVÁ, Z., NIEBISCH, S., TRIANTAFYLLOU, T., BECKER, J., HESS, T., KREUSER, N., KANONI, S., DELOUKAS, P., SCHUELLER, V., HEINRICHS, S., THIEME, R., NOETHEN, M., KNAPP, M., ŠPIČÁK, J., GOCKEL, I., SCHUMACHER, J., THEODOROU, D., MARTÍNEK, J. First genotype-phenotype study reveals HLA-DQ beta 1 insertion heterogeneity in high-resolution manometry achalasia subtypes. *United European gastroenterology journal*. 2019, 7(1), 45-51. ISSN 2050-6406. e-ISSN 2050-6414. IF 3,477

MARTÍNEK, J., ŠVECOVÁ, H., VACKOVÁ, Z., DOLEŽEL, R., NGO, O., KRAJČIOVÁ, J., KIESLICOVÁ, E., JANOUŠEK, R., PAZDRO, A., HARUSTIAK, T., ZDRHOVÁ, L., LOUDOVÁ, P., ŠTIRAND, P., ŠPIČÁK, J. Per-oral endoscopic myotomy (POEM): mid-term efficacy and safety. *Surgical endoscopy*. 2018, 32(3), 1293-1302. ISSN 0930-2794. e-ISSN 1432-2218. IF 3,117.

VACKOVÁ, Z., MAREŠ, J., KRAJČIOVÁ, J., RÁBEKOVÁ, Z., ZDRHOVÁ, L., LOUDOVÁ, P., ŠPIČÁK, J., ŠTIRAND, P., HUCL, T., MARTÍNEK, J. Esophageal Motility after Peroral Endoscopic Myotomy. *Submitted to Journal of Neurogastroenterology and Motility*, IF 3,008

### 2. publikace *in extenso* bez vztahu k tématu disertace

#### a) s IF (uvést hodnotu IF)

MARTÍNEK, J., AKIYAMA, J., VACKOVÁ, Z., FURNARI, M., SAVARINO, E., WEIJS, T., VALITOVA, E., VAN DER HORST, S., RUURDA, J., GOENSE, L., TRIADAFILOPOULOS, G. Current treatment options for esophageal diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2016, 1381(1), 139-151. ISSN 0077-8923. e-ISSN 1749-6632. IF 4,277

BAYER, J., VACKOVÁ, Z., ŠVECOVÁ, H., ŠTIRAND, P., ŠPIČÁK, J., MARTÍNEK, J. Gentamicin submucosal lavage during peroral endoscopic myotomy (POEM): a retrospective analysis. *Surgical endoscopy*. 2018, 32(1), 300-306. ISSN 0930-2794. e-ISSN 1432-2218. IF 3,117

ERHARTOVÁ, D., VACKOVÁ, Z., HUSŤAK, R., ŠPIČÁK, J., MARTÍNEK, J. Peroral endoscopic myotomy and peroral endoscopic pyloromyotomy as a single procedure for concomitant achalasia and gastroparesis. *Endoscopy*. 2018, 50(12), E336-E337. ISSN 0013-726X. e-ISSN 1438-8812. IF 6,629

KOLLÁR, M., ŠPIČÁK, J., HONSOVÁ, E., KRAJČIOVÁ, J., VACKOVÁ, Z., MARTÍNEK, J. Role of confocal laser endomicroscopy in patients with early esophageal neoplasia. *Minerva chirurgica*. 2018, 73(4), 417-427. ISSN 0026-4733. e-ISSN 1827-1626. IF 0,554.

KRAJČIOVÁ, J., VACKOVÁ, Z., ŠPIČÁK, J., MARTÍNEK, J. Radiofrequency ablation for Barrett's esophagus-related neoplasia. *Minerva chirurgica*. 2018, 73(4), 366-377. ISSN 0026-4733. e-ISSN 1827-1626. IF 0,554

MARTÍNEK, J., JUHAS, S., DOLEZEL, R., WALTEROVA, B., JUHASOVA, J., KLIMA, J., RÁBEKOVÁ, Z., VACKOVÁ, Z. Prevention of esophageal strictures after circumferential endoscopic submucosal dissection. *Minerva chirurgica*. 2018, 73(4), 394-409. ISSN 0026-4733. e-ISSN 1827-1626. IF 0,554

JERIE, M., VOJTECH, Z., MALIKOVA, H., PROCHÁZKOVÁ, S., VACKOVÁ, Z., ROLFS, A. Allgrove syndrome with prominent neurological symptoms. Case Report. *Neuroendocrinology letters*. 2016, 37(3), 184-188. ISSN 0172-780X. IF 0,754

MARTÍNEK, J., MALUŠKOVÁ, J., STEFANOVA, M., TUCKOVA, I., SUCHANEK, S., VACKOVÁ, Z., KRAJČIOVÁ, J., KOLLÁR, M., ZAVORAL, M., ŠPIČÁK, J. Improved specimen adequacy using jumbo biopsy forceps in patients with Barrett's esophagus. *World journal of gastroenterology*. 2015, 21(17), 5328-5335. ISSN 1007-9327. e-ISSN 2219-2840. IF 3,117

b) bez IF

MARTÍNEK, J., ŠVECOVÁ, H., ŠPIČÁK, J., KRAJČIOVÁ, J., VACKOVÁ, Z., PAZDRO, A., HARUŠTIAK, T., KIESLICOVÁ, E., JANOUŠEK, R., DOLEŽAL, R., FREMUNDOVÁ, L. Perorální endoskopická myotomie (POEM) – nová endoskopická možnost léčby achalázie jícnu. *Kardiologická revue. Interní medicína*. 2014, 16(3), 205-209. ISSN 2336-288X.

DOLEZEL, R., WALTEROVA, B., JUHAS, S., RYSKA, O., JUHASOVA, J., VACKOVÁ, Z., KRAJČIOVÁ, J., KRÁL, J., MARTÍNEK, J. Fixation of biomaterial to metallic stent and fixation of stents after circular endoscopic dissection in the esophagus on an animal model. *Rozhledy v chirurgii*. 2018, 97(5), 208-213. ISSN 0035-9351.

KOLLÁR, M., MALUŠKOVÁ, J., KRAJČIOVÁ, J., VACKOVÁ, Z., ŠPIČÁK, J., MARTÍNEK, J. Kvalita biopsií u pacientů s Barrettovým jícnem - jumbo vs. large capacity kleště. *Gastroenterologie a hepatologie*. 2015, 69(5), 431-436. ISSN 1804-7874.

KOLLÁR, M., KRAJČIOVÁ, J., HUSŤÁK, R., MALUŠKOVÁ, J., KMENT, M., VACKOVÁ, Z., ŠPIČÁK, J., MARTÍNEK, J. Konfokální laserová endomikroskopie v diagnostice onemocnění gastrointestinálního traktu - literární přehled a vlastní zkušenosti. *Rozhledy v chirurgii*. 2018, 97(12), 531-538. ISSN 0035-9351.

MARTÍNEK, J., ŠPIČÁK, J., WOHL, P., ŠTIRAND, P., HARUŠTIAK, T., MALUŠKOVÁ, J., VACKOVÁ, Z. První endoskopická submukózní resekce subepiteliálního nádoru (GIST) jícnu v ČR. *Gastroenterologie a hepatologie*. 2016, 70(3), 226-229. ISSN 1804-7874.

RÁBEKOVÁ, Z., VACKOVÁ, Z., ŠERCLOVÁ, Z., MALUŠKOVÁ, J., BENNETT, R., MARTÍNEK, J. Crohnova choroba apendixu - kazuistika. *Rozhledy v chirurgii*. 2018, 97(12), 563-567. ISSN 0035-9351.

VACKOVÁ, Z., STEFANOVÁ, M., TUČKOVÁ, I., PAZDRO, A., SMEJKAL, M., ZEMANOVÁ, M., ŠPIČÁK, J., MARTÍNEK, J. Úspěšná endoskopická léčba makroskopicky pokročilého adenokarcinomu jícnu u rizikového pacienta. *Gastroenterologie a hepatologie*. 2013, 67(4), 271-274. ISSN 1804-7874.