

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI  
ŠIKLŮV ÚSTAV PATOLOGIE



AUTOREFERÁT K DOKTORSKÉ DIZERTAČNÍ PRÁCI  
**KLINICKOPATOLOGICKÉ ASPEKTY A DIFERENCIÁLNÍ  
DIAGNÓZA LYNCHOVA SYNDROMU**

MUDr. MARTIN DUŠEK

PLZEŇ 2017  
OBOR PATOLOGIE

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

PŘEDKLADATEL: **MUDr. MARTIN DUŠEK**  
ŠIKLŮV ÚSTAV PATOLOGIE LF UK V PLZNI

PŘEDESDA  
OBOROVÉ RADY: **Prof. MUDr. MICHAL MICHAL**  
ŠIKLŮV ÚSTAV PATOLOGIE LF UK V PLZNI

ŠKOLITEL: **Doc. MUDr. ONDŘEJ DAUM, Ph.D.**  
ŠIKLŮV ÚSTAV PATOLOGIE LF UK V PLZNI

KONZULTANT: **Prof. MUDr. DMITRY KAZAKOV, Ph.D.**  
ŠIKLŮV ÚSTAV PATOLOGIE LF UK V PLZNI

OPONENTI: **Prof. MUDr. JOSEF ZÁMEČNÍK, Ph.D.**  
ÚSTAV PATOLOGIE A MOLEKULÁRNÍ  
MEDICÍNY 2. LF UK V PRAZE

**RNDr. RADEK ŠÍMA, Ph.D.**  
BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, V.V.I.,  
ČESKÉ BUDĚJOVICE

Autoreferát byl rozeslán dne: \_\_\_\_\_

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

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

## ABSTRAKT

Doktorská dizertační práce shrnuje teoretické poznatky o historii, diagnostice, klinických aspektech a diferenciální diagnostice Lynchova syndromu, který byl podkladem postgraduálního studia MUDr. Martina Duška na Univerzitě Karlově v Praze, Lékařské fakultě v Plzni v období let 2013 – 2017.

Práce je zaměřena především na vývoj funkčního algoritmu plošné morfologické depistáže Lynchova syndromu na základě morfologického vyšetření kolorektálního karcinomu a endometriálního karcinomu. Obsahuje také práce popisující management Lynchova syndromu na Šiklově ústavu patologie v Plzni, které byly publikovány v recenzovaných časopisech.

Během let 2013 – 2016 bylo diagnostikováno 23 pacientů s Lynchovým syndromem. Z toho ve 20 případech se syndrom prezentoval kolorektálním karcinomem, ve 2 karcinomem endometria a v 1 případě adenokarcinomem duodena.

Molekulárně genetické vyšetření odhalilo i nové, v literatuře dosud nepopsané zárodečné mutace.

## SUMMARY

This doctoral thesis summarizes current knowledge of the history, diagnosis, clinical aspects and differential diagnosis of Lynch syndrome, which was the basis of the postgraduate study of Martin Dušek, MD at Medical faculty in Pilsen of Charles University in Prague during 2013 – 2017.

The thesis is focused on establishing an efficient algorithm of morphological screening of Lynch syndrome based on histopathological investigation of samples of colorectal carcinoma and endometrial carcinoma. It also includes articles describing management of Lynch syndrome at Sikl's department of pathology in Pilsen, which were published in peer-reviewed journals.

Twenty three patients with Lynch syndrome were diagnosed during the years 2013-2016. Twenty of them presented with colorectal cancer, two with endometrial cancer and one case with duodenal adenocarcinoma.

Molecular genetic analysis has even revealed new, previously in the literature undescribed germline mutations.

OBSAH	
ABSTRAKT .....	1
SUMMARY .....	2
ÚVOD .....	4
VARIANTY LYNCHOVA SYNDROMU .....	5
DIAGNOSTIKA .....	6
KLINICKOPATOLOGICKÉ ASPEKTY LYNCHOVA SYNDROMU .....	9
DIFERENCIÁLNÍ DIAGNÓZA.....	10
CÍL PRÁCE.....	11
MATERIÁL A VYŠETŘOVACÍ METODY .....	12
VÝSLEDKY .....	13
DISKUSE .....	15
ZÁVĚR .....	18
LITERATURA.....	19
PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI .....	25
• PŘEDNÁŠKY .....	27

## ÚVOD

Lynchův syndrom (LS) je definován jako autozomálně dominantně dědičné onemocnění vytvářející predispozici ke vzniku maligních nádorů. Podkladem je zárodečná mutace některého z genů odpovědných za opravy replikačních chyb v DNA, tzv. mismatch repair (MMR) genů, germinální mutace genu *EPCAM* nebo germinální metylace genu *MLH1*.

První poznatky o možné predispozici ke vzniku nádorového onemocnění publikoval v roce 1913 prof. Warthin v časopise *Archives of Internal Medicine*. [45]

Podobné pozorování rodinného výskytu karcinomů u dvou rodin poté publikoval v roce 1966 ve stejném časopise prof. Lynch a v roce 1970 doplnil údaje k původní rodině G popsané profesorem Warthinem. [24,26]

V roce 1990 byla ustanovena mezinárodní skupinou *International Collaborative Group on HNPCC (ICG-HNPCC)* tzv. Amsterdamská kritéria pro klinickou diagnostiku Lynchova syndromu, která byla v roce 1999 pro zvýšení senzitivity a možnost prezentace syndromu extrakolonickou malignitou revidována na tzv. Amsterdamská kritéria II. [43,44]

V letech 1993-1995 byly objeveny geny s tzv. DNA mismatch repair funkcí (MMR geny) a mutace ve čtyřech z nich (*MSH2*, *MLH1*, *MSH6* a *PMS2*) identifikovány jako příčina Lynchova syndromu. [5,7,20,34,36]

Bylo zjištěno, že tumory v rámci LS jsou typické vysokým stupněm tzv. mikrosatelitní nestability (MSI-H) projevující se charakteristickou morfologií a následně byly vyvinuty Bethesda guidelines pro výběr pacientů s kolorektálním karcinomem (CRC) vhodných pro genetické vyšetření na LS. [42]

#### VARIANTY LYNCHOVA SYNDROMU

Syndrom Muir-Torre (MTS) byl prvně popsán dvěma nezávislými skupinami autorů, v roce 1967 jej popsal Muir s kolektivem a rok poté Torre s kolektivem. [28,40] Jde o vzácnou genodermatózu charakterizovanou kombinací alespoň jednoho kožního tumoru sebaceózních žlázek a nejméně jedné viscerální malignity. [14,18,31]

Turcotův syndrom (TS) byl prvně popsán v roce 1959. [27,39,41] Vyznačuje se vznikem primárních nádorů centrálního nervového systému (CNS) jako je glioblastoma multiforme (GBM) nebo meduloblastom, spolu s četnými adenomatózními kolorektálními polypy a adenokarcinomy. TS je někdy také označován jako „brain-tumor polyposis“ pro výskyt primárních tumorů mozku



společně s mnohočetnými kolorektálními adenomy nebo karcinomy. [21,35]

Syndrom konstitučního mismatch repair deficitu (constitutional mismatch repair deficiency, CMMRD) je velmi vzácně se vyskytující porucha způsobená zárodečnou bíalelickou mutací MMR genů. [1,2,8] Dědičný vzor je autozomálně recesivní a vyskytuje se tedy především jako výsledek příbuzenských vztahů.

#### DIAGNOSTIKA

Pro definitivní potvrzení diagnózy LS je nutný průkaz germinální mutace některého z MMR genů, genu *EPCAM* nebo germinální metylace genu *MLH1*. Vzhledem k finanční a technické náročnosti tohoto vyšetření byly vypracovány pomocné metody k výběru pacientů vhodných pro toto molekulárně genetické vyšetření.

Důležitou roli v diagnóze LS hraje získání komplexní rodinné anamnézy nádorů všech anatomických oblastí s důrazem na hlavní znaky LS, mezi které patří: autozomálně dominantní vzor dědičnosti syndromových nádorů v rodokmenu, časnější průměrný věk vzniku CRC než v normální populaci, častější proximální (pravostranná) lokalizace CRC, akcelerovaná kancerogeneze (drobné adenomy mohou projít rychlejším maligním zvratem v karcinom než u běžné

populace), zvýšené riziko vzniku dalšího (metachronního) CRC, zvýšené riziko vzniku extrakolonických malignit určitých lokalizací (zahrnujících endometrium, ovárium, žaludek, tenké střevo, hepatobiliární trakt, pankreas, horní močový trakt, mozek u Turcotova syndromu a mnohočetné sebaceózní tumory u syndromu Muir–Torre).

Histologické vyšetření využívá toho, že tumory s vysokým stupněm tzv. mikrosatelitní nestability (MSI-H) vykazují typické histologické znaky zahrnující lymfoidní odpověď organismu charakterizovanou tumor infiltrujícími lymfocyty, peritumorálním lymfoidním lemem nebo Crohn-like lymfocytární reakcí, mucinózní morfologii nebo se vyznačují buňkami tvaru pečetního prstenu (signet-ring cells) se špatnou diferenciací. [15,16,17,38] Medulární karcinom byl popsán jako podtyp v klasifikaci Světové zdravotnické organizace (World Health Organization classification, WHO) a vyskytuje se téměř výhradně v tumorech s MSI-H. [10]

V imunohistochemickém (IHC) vyšetření se využívá komerčně dostupných protilátek proti proteinům MLH1, PMS2, MSH2 a MSH6 k průkazu jejich deficitní exprese. Při použití všech čtyř protilátek je senzitivita IHC vyšetření srovnatelná se stanovením MSI. [11,37] Oproti stanovení MSI však IHC umožňuje stanovit mutovaný MMR gen a

tím snížit náklady na molekulárně genetické vyšetření. Jako pomocné IHC metody lze dle literatury využít Annexin A10, který je u LS tumorů exprimován pouze v 5%, případně protilátku VE1, která ukazuje na mutaci V600E genu *BRAF*. [6,13,33]

Přestože je MSI-H sice typická pro LS, není specifická. Tumory s MSI-H totiž vznikají dvěma různými mechanismy. Buď jako sporadické nádory vyvolané genetickými a/nebo epigenetickými změnami v somatické buňce, nebo jako familiárně se vyskytující nádory v rámci LS způsobené zárodečnou mutací některého z MMR genů. Pokud je u osob nesoucích jednu zárodečně mutovanou alelu MMR genu během jejich života inaktivována i alela druhá, dochází ke vzniku maligních tumorů. Příčinou této inaktivace může být somatická mutace v druhé alele genu, ztráta heterozygoty (LOH) nebo metylace promotoru, jak tomu bývá u genu *MLH1*. [9,32] Stanovení metylace promotoru genu *MLH1* je proto další metodou pomáhající v rozlišení sporadických MSI-H tumorů.

Užitečným pomocným vyšetřením je i detekce přítomnosti mutace genu *BRAF*, která v MSI-H karcinomu obvykle svědčí pro sporadický CRC. [30]

Pro definitivní diagnózu LS u pacientů u kterých předchozí metody nepotvrdily sporadický MSI-H karcinom se pak provádí molekulárně genetické vyšetření zárodečné

mutace genu MMR z periferní krve za pomoci PCR přímým sekvenováním dle Sangera.

## KLINICKOPATOLOGICKÉ ASPEKTY LYNCHOVA SYNDROMU

Syndromové nádory se u LS v rodokmenu dědí na základě autozomálně dominantního vzoru. [25] Kolorektální karcinom vzniká u pacientů s LS průměrně v časnějším věku než v normální populaci a častěji s proximální (pravostrannou) predilekcí. Drobné adenomy tlustého střeva mohou mít rychlejší zvrát v karcinom než je tomu u běžné populace a je zvýšené riziko následného vzniku dalšího CRC. Histologicky jsou CRC u LS častěji hůře diferencované, uvádí se však zvýšené přežití. U nosičů zárodečné mutace MMR genu je navíc zvýšené riziko vzniku dalších extrakolonických nádorů, a to zejména nádorů endometria, ovarií, žaludku, tenkého střeva, hepatobiliárního traktu, pankreatu, močového traktu, mozku a kůže. [3,46]

Klinické projevy LS se mohou lišit v závislosti na postiženém genu nebo konkrétním typu mutace. Zatímco mutace *MLH1* je často spojena s diagnózou CRC jakožto jedinou malignitou, u pacientů se zárodečnou mutací v genu *MSH2* se častěji vyskytují extrakolonické nádory. [19] Mutace v genu *MSH6* a *PMS2* se vyznačují nižší penetrancí, přičemž mutace *MSH6* je spojována

s častějším výskytem karcinomu endometria a levostrannou lokalizací CRC. [4,12] Na základě fenotypických vlastností vznikají někdy takové kombinace klinických znaků, které zapříčinily popis nových, výše zmíněných, klinických syndromů, i když ve skutečnosti jde pouze o varianty LS.

Vzhledem k častějšímu a časnějšímu výskytu malignit u LS oproti běžné populaci byly vypracovány také pokyny k intenzivnějšímu screeningu u těchto pacientů a jejich příbuzných nesoucích stejnou germinální mutaci. [22,23,29]

#### DIFERENCIÁLNÍ DIAGNÓZA

Kromě sporadických nádorů připadají v diferenciální diagnóze LS v úvahu i následující syndromy:

- Lynch-like syndrom
- Familiární kolorektální karcinom typu X
- Familiární adenomatózní polypóza
- MUTYH-associovaná polypóza
- Peutz–Jeghersův syndrom
- Familiární juvenilní polypóza
- Cowdenův syndrom
- Syndrom hereditární smíšené polypózy

- Polymerase proofreading-asociovaná polypóza
- Brooke-Spieglerův syndrom
- Gorlinův syndrom (Basal cell nevus syndrome)
- Ferguson-Smithův syndrom
- Tuberózní skleróza
- Syndrom Birt–Hogg–Dube
- Syndrom hyperplastické polypózy
- Ashkenazi I1307-k
- Mutace 1100delC genu CHEK2

## CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo zavedení algoritmu depistáže Lynchova syndromu, protože nastavení optimálního managementu vyšetřování je pro diagnostiku LS klíčové.

Některé dílčí postupy se mohou v jednotlivých zařízeních lišit, zejména s ohledem na personální, finanční nebo technické možnosti laboratoře. Optimální vyšetřovací algoritmus by měl být co nejefektivnější, což zahrnuje nejen co nejvyšší senzitivitu a specifitu, ale také efektivitu logistiky a finančních nákladů. Vzhledem k často nedostatečné anamnéze slouží klinická kritéria spíše jako pomocný faktor a navíc se jejich samostatná senzitivita a

specifita ukázala nedostatečnou. Základem vyšetřovacího postupu je v současné době detekce MSI-H tumorů. Její průkaz lze provádět jednak přímo, jednak zprostředkovaně pomocí IHC exprese MMR proteinů, nebo na základě histologických znaků typických pro MSI-H tumory. Právě systém použití těchto metod se může lišit. Plnohodnotný postup by měl zahrnovat všechny zmíněné metody z důvodu jejich vzájemné komplementárnosti, nicméně z finančních i časových důvodů je nutné nalézt vstupní metodu detekce, která je dostatečně efektivní při zachování únosných nákladů (finančních, časových i personálních).

## MATERIÁL A VYŠETŘOVACÍ METODY

Pro histologickou analýzu byly použity standardní vzorky tkáně fixované v 10% formolu, zpracované klasickou parafinovou technikou a obarvené hematoxylinem a eosinem při tloušťce řezů 4  $\mu\text{m}$ .

Pro IHC vyšetření byly použity primární protilátky proti MMR proteinům od společnosti Ventana a Cell Marque s detekcí zprostředkovanou alkalickou fosfatázou s amplifikací nebo inkubací DAB. Kvalita barvení byla verifikována vnější i vnitřní kontrolou. Jako ztráta exprese bylo označeno negativní barvení nádorové tkáně při zachované barvitelnosti vnitřní kontroly.

Pro vyšetření MSI ve tkáni byla použita multiplexní PCR s následnou fragmentační analýzou pěti monukleotidových a dvou pentanukleotidových repetitív.

Mutace genu *BRAF* byly prováděny vyšetřením části exonu 15 se zaměřením na detekci mutací v kodonech V600 a K601 metodou PCR a reverzní hybridizace nebo metodou real-time PCR.

Analýza metylace promotoru genu *MLH1* byla prováděna pomocí metody bisulfidické konverze a metylačně specifické PCR.

Detekce mutací MMR genů byla provedena pomocí metody PCR a přímého sekvenování.

## VÝSLEDKY

Celkem bylo v letech 2013-2016 vyšetřeno 5814 pacientů s diagnózou C18-20 (4397 pacientů v Biopstické laboratoři s.r.o. a 1417 v Šiklově ústavu patologie). Suspektní MSI-H morfologii a/nebo IHC deficit MMR proteinů vykazovalo 228 případů. Zárodečná mutace definující LS byla molekulárně geneticky potvrzena u 20 pacientů (0,3 %) s CRC. V Biopstické laboratoři s.r.o. bylo diagnostikováno 10 případů, což při přepočtu na celkově vyšetřené případy CRC v této laboratoři činí 0,2 %. Šiklův ústav patologie diagnostikoval také 10 případů, ale vzhledem k menšímu



počtu vyšetření s diagnózou CRC byl podíl LS 0,7 %. Navíc byl u dvou pacientek LS diagnostikován na podkladě vyšetření adenokarcinomu endometria a u jedné pacientky prezentující se adenokarcinomem duodena. U 4 pacientů (0,1 %) byl diagnostikován LLS. Sporadický MSI-H karcinom se prokázal u 178 pacientů (3,1 %). Celkem 26 pacientů (0,4 %) se dosud nepodařilo z různých důvodů vyšetřit molekulárně genetickou analýzou germinálních mutací, z toho 21 pacientů (0,4 %) je velmi suspektních z diagnózy LS. U 4 pacientů byla stanovena diagnóza Lynch-like syndromu.

Germinální mutace v genu *MLH1* byla zaznamenána u 6 případů (26 %), v genu *PMS2* u 3 případů (13 %), v genu *MSH2* u 5 případů (22 %) a v genu *MSH6* u 9 případů (39 %). LS se potvrdil u 10 pacientů mužského pohlaví ve věku 26-80 let (průměr 58,5 let) a 13 pacientů byly ženy ve věku 38-78 let (průměr 55,3 let), přičemž 5 pacientům (21,7 %) bylo v době diagnózy více než 70 let, což znamená, že v literatuře někdy udávaná hranice 70 let pro vyšetřování pacientů na LS je neopodstatněná. Kolorektální karcinomy byly lokalizovány u 7 pacientů (30 %) v céku, u 2 pacientů (8,7 %) v colon ascendens, u 2 pacientů (8,7 %) v oblasti hepatálního ohbí, u 3 pacientů (13 %) v colon transversum, u jednoho pacienta (4,3 %) v colon descendens, u jednoho (4,3 %) v colon colon sigmoideum a u jednoho (4,3 %) v rektosigmatu. V soulase s literaturou je tak většina CRC v rámci LS lokalizována pravostranně. U 3 pacientů (13 %) nebyla lokalizace v tlustém střevě upřesněna.

## DISKUSE

Frekvence záchytu LS na našem pracovišti je nižší než je udávána v literatuře. Zejména je-li hodnocena souhrnně pro Bioptickou laboratoř (0,2 %) a Šiklův ústav (0,7 %). Nepoměr mezi těmito dvěma pracovišti je však snadno vysvětlitelný systémem financování zdravotnictví v ČR, který je jednoznačně orientován na terapii, nikoli prevenci a tudíž ani na screening. Zdaleka ne u všech případů totiž bylo možno vyslovit podezření na LS nebo provést další vyšetření. Většina klientů (klinických lékařů) Bioptické laboratoře se totiž postavila proti vyšetřování jejich materiálu na Lynchův syndrom, jelikož by jim příliš navyšovalo indukovanou péči.

Nicméně i frekvence Lynchova syndromu mezi pacienty s kolorektálním karcinomem vyšetřovaným v Šiklově ústavu je relativně nízká, a i po započtení případů suspektních, u nichž dosud vyšetření nebylo dokončeno (protože nebyla dodána periferní krev k analýze germinálních mutací) tvoří pouze 1,3 %. Možných vysvětlení je několik:

- 1) Vzhledem k celkově nízkému počtu pacientů s kolorektálním karcinomem v regionu není statistické zhodnocení zcela spolehlivé, protože v malých souborech statistické odchylky získávají na významnosti.

- 2) V České republice je každý rok hlášeno více než 8000 nově diagnostikovaných případů kolorektálního karcinomu (MKN C18-20), z toho okolo 550 případů

v Plzeňském kraji, který má nejvyšší incidenci v ČR. Námi zaznamenaná nižší incidence LS u CRC oproti literatuře může být způsobena nejen tím, že nám některé případy unikají, ale také možnou souvislostí s některými exogenními faktory zapříčiňujícími vyšší incidenci CRC v Plzeňském kraji za snížení podílu geneticky podmíněných CRC.

3) Ne všechny literární zdroje udávající incidenci, prevalenci nebo četnost Lynchova syndromu v rámci kolorektálního karcinomu, mají jasně definována kritéria diagnózy Lynchova syndromu, tedy podle dnešní definice průkaz germinálních mutací MMR genů, germinálních mutací genu *EPCAM* nebo germinální metylace promotoru genu *MLH1*. Tyto zdroje mohou zahrnovat tedy i případy Lynch-like syndromu, případně, byla-li použita pouze klinická kritéria, i jiné familiární syndromy asociované s CRC.

4) Nesoulad mezi hodnocením exprese MMR proteinů na základě imunohistochemického vyšetření a funkcí daného proteinu může být dán jednak charakterem mutace, která sice umožní syntézu proteinu zachovávajícího antigenicitu, ale postrádajícího funkci, jednak chybným hodnocením imunohistochemické reakce. Tato možnost přichází v úvahu zejména v případě komplexu MLH1/PMS2. Je totiž známo, že tyto proteiny jsou velmi citlivé na autolýzu, a proto zejména ve větších resekátech je jejich antigenicita často snížena v důsledku pomalého a/nebo nedostatečného průniku fixativa do

tkáňe. Z toho vyplývající adaptivní snížení nároků na intenzitu hodnocené imunohistochemické reakce pak může mít za následek mylnou interpretaci slabého zbarvení v důsledku abnormální struktury proteinu jako následek neadekvátní fixace. Pro tuto možnost by mohl svědčit fakt, že v našem souboru výrazně převažovaly případy LS asociované s germinální mutací *MSH6* nad případy způsobenými germinální mutací *MLH1*, což je dle literatury nejčastější možnost.

Ačkoli je problematika nízké frekvence LS v našem souboru zajímavá a důležitá a vyžaduje hlubší analýzu většího souboru v ještě delším časovém období, aktuálně se jako zásadnější jeví vysoký počet nedovyšetřených případů suspektních z Lynchova syndromu. Vzhledem k tomu, že analýzu germinálních mutací může dle platné legislativy indikovat pouze lékařský genetik, k němuž může pacienta odeslat pouze jiný klinický lékař, je evidentní, že na této úrovni screeningového systému se jeho management dostává zcela mimo možnosti ovlivnění patologií. Mezioborová spolupráce s aktivní účastí zainteresovaných klinických lékařů je tak v současnosti jedním z nejkritičtějších momentů v diagnostice LS. V dalších letech bude tedy nezbytné zainteresovat do diagnostiky LS i klinické lékaře, bez jejichž aktivní účasti není možná kompletní diagnostika pacienta, jeho rodinných příslušníků ani navazující screeningové metody. Několik let snahy o zavedení plošného screeningového systému nás přesvědčilo i o

tom, že výše uvedené nebude možné bez politické podpory a bez finanční účasti zdravotních pojišťoven.

## ZÁVĚR

Přestože byla vypracována klinická kritéria pro diagnózu LS, jejich efektivita se ukazuje jako nedostatečná a diagnostika je tak, mimo jiné pro absenci premorbidního fenotypu (tj. změn, které by předcházely vzniku malignit), z velké části v rukou patologů. Aby diagnostika LS byla co nejefektivnější, je nezbytné vhodně nastavit algoritmus uvedených vyšetřovacích metod a logistický postup s ohledem na možnosti konkrétní laboratoře. Velmi důležitá je, jak již bylo řečeno, také spolupráce s klinickými lékaři (především oborů chirurgie, gastroenterologie, onkologie a praktické lékařství) a to nejen pro další screeningový dohled nad pacientem a jeho příbuznými, ale také pro samotný odběr periferní krve pacienta k vyšetření na zárodečné mutace. Právě tato fáze s odběrem krve se také často ukazuje jako problematická. Žádost laboratoře o periferní krev na genetickou analýzu totiž zůstává v záplavě administrativy a dalšího pooperačního managementu často nevyslyšena. Ačkoli se vlastně jedná pouze o převážně administrativní fázi celého procesu, může zanedbání řešení její problematiky způsobit selhání celého systému založeného na racionálním a etablovaném morfologickém algoritmu.

## LITERATURA

- 1. Baas AF, Gabbett M, Rimac M, et al.** Agenesis of the corpus callosum and gray matter heterotopia in three patients with constitutional mismatch repair deficiency syndrome. *Europ. J. Hum. Genet.* 2013;21: 55-61, 2013.
- 2. Bandipalliam P.** Syndrome of early onset colon cancers, hematologic malignancies & features of neurofibromatosis in HNPCC families with homozygous mismatch repair gene mutations. *Fam Cancer* 2005;4:323–333. [PubMed: 16341812]
- 3. Barrow E, Robinson L, Alduaij W, et al.** Cumulative lifetime incidence of extracolonic cancers in Lynch syndrome: a report of 121 families with proven mutations. *Clin Genet* 2009;75:141–149. [PubMed: 19215248]
- 4. Berends MJ, Wu Y, Sijmons RH et al.** Molecular and clinical characteristics of MSH6 variants: an analysis of 25 index carriers of a germline variant. *Am J Hum Genet* 2002;70(1): 26-37.
- 5. Bronner CE, Baker SM, Morrison PT, et al.** Mutations in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nature* 1994;368:258–261. [PubMed: 8145827]
- 6. Capper D, Voigt A, Bozukova G, et al.** BRAF V600E-specific immunohistochemistry for the exclusion of Lynch syndrome in MSI-H colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2013 Oct 1;133(7):1624-30. doi: 10.1002/ijc.28183. Epub 2013 Apr 25.

- 7. Fishel R, Lescoe MK, Rao MR et al.** The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* 1993; 75(5): 1027-1038.
- 8. Gallinger S, Aronson M, Shayan K, et al.** Gastrointestinal cancers and neurofibromatosis type 1 features in children with a germline homozygous MLH1 mutation. *Gastroenterology* 2004;126:576–585. [PubMed: 14762794]
- 9. Goel A, Nagasaka T, Arnold CN, et al.** The CpG island methylator phenotype and chromosomal instability are inversely correlated in sporadic colorectal cancer. *Gastroenterology* 2007;132:127–138. [PubMed: 17087942]
- 10. Hamilton SR, Aaltonen LA, editors.** Tumours of the digestive system. Lyon: IARC Press; 2000.
- 11. Hampel H, Frankel WL, Martin E, et al.** Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:5783–5788. [PubMed: 18809606]
- 12. Hampel H, Frankel W, Panescu J, et al.** Screening for Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) among endometrial cancer patients. *Cancer Res* 2006; 66(15): 7810-7817.
- 13. Hang JF, Li AF, Chang SC, et al.** Immunohistochemical detection of BRAF V600E mutant protein in colorectal cancers in Taiwan is highly concordant with the molecular test. *Histopathology*. 2015 Nov 20. doi: 10.1111/his.12903.

- 14. Hare HH, Mahendraker N, Sarwate S, et al.** Muir-Torre syndrome: rare but important disorder. *Cutis*. 2008;82(4):252–256.
- 15. Jass JR.** Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology* 2007;50:113–130. [PubMed: 17204026]
- 16. Jass JR, Do K-A, Simms LA, et al.** Morphology of sporadic colorectal cancer with DNA replication errors. *Gut* 1998;42:673–679. [PubMed: 9659163]
- 17. Jass JR, Smyrk TC, Stewart SM, et al.** Pathology of hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Anticancer Res* 1994;14:1631–1634. [PubMed: 7979198]
- 18. Kacerovská D, Kazakov DV, Černá K et al.** Muir-Torre syndrom - a phenotypic variant of Lynch syndrome. *Cesk Patol* 2010;46(4): 86-94.
- 19. Kastrinos F, Stoffel EM, Balmaña J et al.** Phenotype comparison of MLH1 and MSH2 mutation carriers in a cohort of 1,914 individuals undergoing clinical genetic testing in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17(8): 2044-2051. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0301.
- 20. Leach FS, Nicolaidis NC, Papadopoulos N et al.** Mutations of a mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell* 1993; 75(6): 1215-1225. [PubMed: 8261515]
- 21. Lusi EA, Travers S, Jost SC, et al.** Glioblastomas with giant cell and sarcomatous features in patients with turcot syndrome type 1: a clinicopathological study of 3 cases. *Neurosurgery*, vol. 67, no. 3, pp. 811–817, 2010.



- 22. Lynch HT, Chapelle de la A.** Genetic susceptibility to non-polyposis colorectal cancer. *J Med Genet.* 1999;36(11):801-18. [PubMed:10544223]
- 23. Lynch HT, Chapelle de la A.** Genomic medicine: hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003;348:919–932. [PubMed: 12621137]
- 24. Lynch HT, Krush AJ.** Cancer family "G" revisited: 1895-1970. *Cancer* 1971; 27(6):1505-1511.
- 25. Lynch HT, Lynch PM, Lanspa SJ et al.** Review of the Lynch syndrome: history, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications. *Clin Genet.* 2009 Jul;76(1):1-18. doi: 10.1111/j.1399-0004.2009.01230.x.
- 26. Lynch HT, Shaw MW, Magnuson CW et al.** Hereditary factors in cancer. Study of two large midwestern kindreds. *Arch Intern Med* 1966; 117(2): 206-212.
- 27. Mori T, Nagase H, Horii A, et al.** Germ-line and somatic mutations of the APC gene in patients with Turcot syndrome and analysis of APC mutations in brain tumors. *Genes Chromosomes and Cancer*, vol. 9, no. 3, pp. 168–172, 1994.
- 28. Muir EG, Bell AJ, Barlow KA.** Multiple primary carcinomata of the colon, duodenum, and larynx associated with keratoacanthoma of the face. *Br J Surg.* 1967;54(3):191–195.
- 29. National Comprehensive Cancer Network.** Practice guidelines in oncology. 2008 [Accessed on: 2 April 2008]. Available at:  
[http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/default.asp](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/default.asp)

- 30. Nakagawa H, Nagasake T, Culling HM, et al.** Efficient molecular screening of Lynch syndrome by specific 30 promoter methylation of the MLH1 or BRAF mutation in colorectal cancer with high-frequency microsatellite instability. *Oncol Rep* 2009;21:1577–1583.
- 31. Navi D, Wadhera A, Fung MA, et al.** Muir-Torre syndrome. *Dermatol Online J.* 2006;12(5):4.
- 32. Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, et al.** CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut* 2009;58:90–96. [PubMed: 18832519]
- 33. Pai RK, Shadrach BL, Carver P et al.** Immunohistochemistry for annexin A10 can distinguish sporadic from Lynch syndrome-associated microsatellite-unstable colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2014; 38(4): 518– 525. doi: 10.1097/ PAS.000000000000148.
- 34. Papadopoulos N, Nicolaides NC, Wei Y-F, et al.** Mutation of a mutL homolog in hereditary colon cancer. *Science* 1994;263:1625–1629. [PubMed: 8128251]
- 35. Paraf F, Jothy S, Van Meir EG.** Brain tumor-polyposis syndrome: two genetic diseases? *Journal of Clinical Oncology*, vol. 15, no. 7, pp. 2744–2758, 1997.
- 36. Peltomäki P.** Lynch syndrome genes. *Fam Cancer.* 2005;4: 227-32. [PubMed: 16136382]
- 37. Shia J.** Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part I. The utility of immunohistochemistry. *J Mol Diagn* 2008; 10(4): 293-300. doi: 10.2353/jmoldx.2008.080031.

- 38. Smyrk TC, Watson P, Kaul K, et al.** Tumor-infiltrating lymphocytes are a marker for microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer* 2001;91:2417–2422. [PubMed: 11413533]
- 39. Tops CMJ, Vasen HFA, van Berge Henegouwen G, et al.** Genetic evidence that Turcot syndrome is not allelic to familial adenomatous polyposis. *Am J Med Genet* 1992;43:888-93.
- 40. Torre D.** Multiple sebaceous adenomas. *Arch Dermatol.* 1968;98(5):549–551.
- 41. Turcot J, Despres JP, St. Pierre F.** Malignant tumors of the central nervous system associated with familial polyposis of the colon: report of two cases. *Dis Colon Rectum* 1959;2:465-468.
- 42. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, et al.** Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:261–268. [PubMed: 14970275]
- 43. Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM et al.** The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum* 1991; 34(5): 424-425.
- 44. Vasen HF, Watson P, Mecklin JP et al.** New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999; 116(6): 1453-1456.
- 45. Warthin AS.** Heredity with reference to carcinoma as shown by the study of the cases examined in the

pathological laboratory of the University of Michigan, 1895-1913. Arch Intern Med 1913; 12(5):546-555.

**46. Watson P, Vasen HFA, Mecklin J-P, et al.** The risk of extra-colonic, extra-endometrial cancer in the Lynch syndrome. Int J Cancer 2008;123:444–449. [PubMed: 18398828]

#### PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI

**1. Dušek M, Chlumská A, Mukenšnabl P, Zámečník M: Hodnocení lymfatických uzlin v resekátech tlustého střeva s kolorektálním karcinomem. Rozhl Chir. 2013 May;92(5):250-4.**

2. Daum O, Beneš Z, Hadravský L, Stehlík J, Černá K, Dušek M, Kokošková B, Michal M: Lynchův syndrom v rukách patologa. Cesk Patol 2014; 50(1): 18-24.

3. Kokošková B, Daum O, Beneš Z, Dušek M, Stehlík J, Černá K, Hadravský L, Michal M: Moderní diagnostika Lynchova syndromu. Gastroent Hepatol 2014; 68(2): 157-165.

**4. Dušek M, Hadravský L, Černá K, Stehlík J, Švajdler M, Kokošková B, Dubová M, Michal M, Daum O: Diagnóza Lynchova syndromu od patologa. Klin Onkol. 2016;29(3):180-6.**

5. Pivovarcikova K, Pitra T, Vanecek T, Alaghehbandan R, Gomolcakova B, Ondic O, Peckova K, Rotterova P, Hora

M, Dusek M, Michal M, Hes O: Comparative study of TERT gene mutation analysis on voided liquid-based urine cytology and paraffin-embedded tumorous tissue. *Ann Diagn Pathol.* 2016 Oct;24:7-10. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2016.06.002. Epub 2016 Jun 18. **IF 2015 = 1.022**

6. Foix MP, Dunatov A, Martinek P, Mundó EC, Suster S, Sperga M, Lopez JI, Ulamec M, Bulimbasic S, Montiel DP, Alaghehbandan R, Peckova K, Pivovarcikova K, Ondrej D, Rotterova P, Skenderi F, Prochazkova K, Dusek M, Hora M, Michal M, Hes O: Morphological, immunohistochemical, and chromosomal analysis of multicystic chromophobe renal cell carcinoma, an architecturally unusual challenging variant. *Virchows Arch.* 2016 Dec;469(6):669-678. Epub 2016 Sep 15. **IF 2015 = 2.613**

7. Ulamec M, Skenderi F, Trpkov K, Kruslin B, Vranic S, Bulimbasic S, Trivunic S, Montiel DP, Peckova K, Pivovarcikova K, Ondic O, Daum O, Rotterova P, Dusek M, Hora M, Michal M, Hes O: Solid papillary renal cell carcinoma: Clinicopathologic, morphologic and immunohistochemical analysis of 10 cases and review of the literature. *Ann Diagn Pathol.* 2016 Aug;23:51-7. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2016.04.008. Epub 2016 Apr 27. **IF 2015 = 1.022**

## PŘEDNÁŠKY

Večer Šiklova ústavu patologie LF UK v Plzni, 2013. Hodnocení lymfatických uzlin v resekátech tlustého střeva s kolorektálním karcinomem)

XIX.Symposium o morfologii a funkci střeva, 2013, Staré Splavy. Hodnocení lymfatických uzlin v resekátech tlustého střeva s kolorektálním karcinomem)

55. Studentská vědecká konference Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Plzeň, 2015. Retrospektivní imunohistochemická analýza exprese mismatch repair genů (MMR) u karcinomů pankreatu.

56. Studentská vědecká konference Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Plzeň, 2016. Screening Lynchova syndromu v roce 2013.

57. Studentská vědecká konference Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Plzeň, 2017. Morfologická depistáž lynchova syndromu v letech 2013-2016.