



Aktuelni problemi i novi trendovi u gastrointestinalnoj patologiji

Marjan Micev

Služba patologije, Klinički centar Srbije, Beograd

Patologija gastrointestinalnog trakta (GIT) se kontinuirano razvija, u pojedinim segmentima više od drugih grana patologije. To je posledica najviše usled promene epidemiologije nekih oboljenja, posebno porasta neoplastičnih i inflamatornih bolesti gastroezofagealnog prelaznog regiona i jednjaka, promene u pojavi i tipu patologije proksimalnog i distalnog dela želuca, porasta broja adultnih malapsorpcija, u prvom redu gluten senzitivne enteropatije, hroničnih gastritisa i hroničnih idiopatskih inflamatornih crevnih bolesti, ali u prvom redu enormnim povećanjem incidencije kolorektalnog karcinoma, kao i drugih tumora i proliferativnih lezija u GIT. Istovremeno, postoji potreba za smanjenjem subjektivnosti u dijagnostici, pa se razvijaju sve precizniji kriterijumi sa što većom objektivizacijom histomorfoloških i drugih pomoćnih parametara dijagnostike u vidu novih vodiča, protokola i preporuka. Takođe se sve više stimuliše timski i konsultativni rad posebno u problematičnim ili klinički senzitivnim slučajevima (revizija s obaveznim "drugim mišljenjem"). U istom smislu se uvodi princip kriterijuma sa brojnim sistemima bodovanja ("score systems"), brojanja i merenja ćelijskih ili drugih morfoloških detalja i distanci ("counting and measuring" pristup), preciznijim određivanjem novih graničnih vrednosti ("cut off" vrednosti) i novih zahteva u dijagnostici. Patohistologija GIT u tom smislu preuzima standarde iz medicine zasnovane na dokazima ("evidence based medicine"), posebno kod određivanja klinički značajnih faktora rizika, prognoze oboljenja ili terapijskih prediktora uz gotovo obaveznu implementaciju imunohistohemijskih (IHH) i molekularnih ispitivanja.

Novi klinički pregledi zahtevaju i reevaluaciju patohistoloških nalaza, njihovu primenljivost u svakodnevnoj praksi i klinički značaj, kakva je na primer NBI endoskopija visoke definicije ("narrow band imaging") koja se koristi u skriningu displazije kod Barrettove metaplastične promene sluznice jednjaka.¹

Gastroezofagealna patologija

Posebnu pažnju u savremenoj literaturi izazivaju radovi koji se bave preciznijim definisanjem poznatih i novih histopatoloških entiteta, a takođe i boljim poznavanjem patogeneze i boljim mogućnostima dijagnostike i lečenja. Najveću pažnju imaju ispitivanja svakako najmasovnijih bolesti kao što su gastroezofagealna refluksna bolest (engl. GERD), Barrett-ov ezofagus (BE) i karcinom jednjaka i gastroezofagealnog spoja (engl. GEJ). Današnja podela GERD na erozivni (ERD) i neerozivni (NERD) tip je više endoskopska nego patohistološka, a često ostaje samo u okvirima prepoznavanja već poznatih kriterijuma refluksnog ezofagitisa. Usled toga je bilo neophodno izdvajanje tzv. "mikroskopskog ezofagitisa" i njegovo definisanje radi pouzdanijeg histološkog ustanovljavanja ezofagitisa, posebno za distinkciju od funkcionalnih dispepsija. Često je u pitanju set nespecifičnih promena, koje su vezane za promenu više od jednog kriterijuma normalnog nalaza mukoze jednjaka, kao što su: debljina bazalnog sloja (ne veća od 20% u nivou ili iznad Z linije i ne veća od 15% u proksimalnijim delovima jednjaka), dužina papila (ne veća od 66% u nivou ili iznad Z linije i ne veća od 50% u proksimalnijim delovima jednjaka), prisustvo T limfocita ne veće od 10/HPF, odsustvo dilatacije intercelularnih prostora, kao i odsustvo neutrofilne i/ili eozinofilne infiltracije. Takođe, prisustvo erozije ili zalečenog erozivnog ili ulceroznog defekta (fibroza, regeneratorni epitel) mogu predstavljati alterativni nezavisni dijagnostički kriterijum. Totalna epitelna debljina (TET) je takođe parametar koji se koristi kao kriterijum za GERD kada su vrednosti $TET \geq 430 \mu m$ za delove mukoze na 2cm iznad Z linije. Međutim, ranije često navođeni parametri kao što su kapilarna kongestija, balonizacija ćelija i fokalno povećanje denziteta eozinofila koji se standardno opisuju kod refluksnog ezofagitisa ne učestvuju u dijagnostičkim kriterijumima mikroskopskog ezofagitisa.²

Limfocitni ezofagitis je opisan 2006. godine i predstavlja poseban kliničko-patološki entitet pretežno mladih osoba, koji zahteva povećanje broja T limfocita u peripapilarnom skvamocelularnom epitelu, bez prisustva neutrofilne i/ili eozinofilne infiltracije (više od 30/HPF CD3+ limfocita) uz mogućnost pojave proširenih intercelularnih prostora. Slične promene se vide i kod Crohn-ove bolesti (oko 8% dijagnostikovanih

limfocitnih ezofagitisa, posebno kod mladih), pa je neophodno dijagnozu pažljivo postaviti u klinički prepoznatljivim uslovima koji između ostalog sugerišu mogućnost autoimunog poremećaja ili samo specifičnu tkivnu reakciju na različite agense.³

Na ovom mestu treba napraviti paralelu sa ranije opisanim (primarnim) eozinofilnim ezofagitisom koji se takođe više javlja kod mladih osoba i koji se endoskopski odlikuje koncentričnim mukozalnim prstenovima ("traheizacija") i eksudativnim naslagama. U histološkom smislu predstavlja sličnu denzifikaciju eozinofila u epitelu (više od 15/HPF) posebno u superficijalnim nivoima i/ili stvaranje eozinofilnih mikroapscesa.

Barrett-ova metaplastična promena (BE) na nivou endoskopske Z linije tj. histološke prepoznatljive skvamocelularne junkcije (SCJ) je i dalje slabo definisana, tj. nije jasno da li se radi samo o cilindričnoj metaplaziji (britanski standard) ili je neophodno prisustvo peharastih ćelija, tj. elemenata intestinalne metaplazije (američki standard). Naime, u prilog postojanja dileme je i više u poslednjoj deceniji koji ukazuju da prisustvo peharastih ćelija i intestinalne displazije nisu obavezni prekursori pojave karcinoma. Pri tom, za razliku od dugog i kratkog BE koji se nalazi na 2-3 cm iznad SCJ spoja, potrebno je razlikovati i tzv. "ultrakratki" BE (oko 1 cm od SCJ spoja) koji se odlikuje specijalizovanom intestinalnom metaplazijom (SIM), različitom od kardijalne intestinalne metaplazije (CIM) sa kojom se može zameniti. Veliki klinički značaj je u činjenici postojanja daleko većeg neoplastičnog potencijala SIM u odnosu na CIM. Jedan od istaknutijih parametara u razlikovanju SIM od CIM je i pojava tzv. multislojnog epitela ("multilayered epithelium") koji se može smatrati markerom BE, a koji takođe pokazuje jak proliferativni i maligni potencijal. S obzirom da je displazija i dalje najvažniji marker neoplastične i maligne progresije epitelnih promena, to je neophodna bila daleko bolja definicija ovih promena i smanjenje subjektivnosti njihovog određivanja, kao i prepoznavanje drugih atipičnih histopatoloških promena epitela.⁴ Primeri za to su novi tipovi displazije kod Barrett-ove metaplastične promene mukoze jednjaka i gastroezofagealnog prelaza i njihova IHH i molekularna karakterizacija, a posebno tzv. "foveolarne displazije" i "kriptalne displazije".⁵ Već ranije je u gastričnoj patologiji bila opisana foveolarna displazija (tip II displazije) koja se naziva još i "gastrična" displazija da bi se razlikovala od klasične adenomatozne ili "intestinalne" displazije (tip I displazije).⁶ Međutim, primećeno je da se ovaj tip displazije može javiti i kod BE posebno u regionu SCJ mukozalnog prelaza i na kardiji, pa je kod pojave epitelnog atipizma potrebno i njeno razmatranje, kao i razmatranje retkog mukocelularnog tipa displazije ("tubule neck dysplasia", tip III displazije). Takođe postoji i seratna displazija, kao i druge nekategorizovane "neintestinalne" displazije. Za razliku od ovih, kriptalna displazija je relativno novi histološki entitet koji se vidi isključivo kod BE. Poznata je i pod nazivom atipija slična displaziji ("dysplasia-like atypia") koja je ograničena na bazalni deo kripti, ne pokazuje sazrevanje prema površini ali je relativno naglašenija od normalnih i regeneratorskih promena u bazalnom nivou. Međutim, dokaz neoplastične prirode i malignog potencijala je izveden iz molekularnih istraživanja uzoraka dobijenih mikrodisekcijom, kao što su: mutacija CDKN2A i to kako u bazalnim atipičnim ćelijama tako i u površinskom nivou iznad ovih fokusa, postojanje aneuploidije i IHH/FISH detektovana p16 ekspresija, što se može koristiti i u dijagnostici.⁷ Kao pomoćni marker u dijagnostici displazije kod BE danas se rutinski koristi povećanje p53 imunoekspresije koja prema Lorinc i sar. za nisko stepenu displaziju zahteva imunoekspresiju 1-5 jedara, a za visoko stepenu displaziju preko 5 jedara u kripti.⁸ Ona se uz aneuploidiju i p16 imunoekspresiju FISH metodom smatra validnim i pomoćnim markerom za displaziju (takođe i uz imunoekspresiju AMACR i određivanje distribucije i indeksa Ki-67 proteina), ali uz obavezno drugo mišljenje eksperata iz ove oblasti patologije. S druge strane, potpuni gubitak aberantne p53 imunoekspresije ("the absent pattern") kod ovakvih slučajeva je još značajnije povezan s neoplastičnom progresijom na terenu BE, pa takođe mora biti razmatran kao jak prognostički faktor.⁹

U netumorskoj gastričnoj patologiji je u poslednjoj deceniji dominirala implementacija poznatih parametara Sydney/Houston klasifikacije hroničnih gastritisa s objektivizacijom i stepenovanjem faktora rizika. Massimo Rugge je sa saradnicima razvio "grading & staging" sistem hroničnih gastritisa praćenjem nivoa celularnosti i raširenosti inflamacije gastritisa i stepena atrofije (OLGA sistem, 2005) i kasnije dodao i praćenje ekstenzije intestinalne metaplazije (OLGIM sistem, 2008). Takođe je skrenuta pažnja i na poseban kliničko-patološki tip reaktivne/refluksne gastropatije koja se javlja nakon izlečenja *Helicobacter pylori* infekcije ("post-Hp gastritis") i koja je prisutna u oko 17% prethodno lečenih pacijenata. Ranije poznati

fokalno naglašeni gastritis (“focally enhanced gastritis”) je u poslednje vreme pokazao izuzetno dobru korelaciju s inflamatornom crevnom bolešću kod pedijatrijskih pacijenata za razliku od ranije ispitivane adultne populacije.¹⁰

Već pomenuti novi tipovi displastične promene su prošireni i drugim epitelnim atipijama sa neoplastičnim potencijalom. Nedavno je opisani novi podtip displazije, tačnije “displaziji nalik- atipija” u želucu koji se naziva “displazija gastrične foveole” (“gastric pit dysplasia-like atypia”). Gastrična “kriptalna displazija” je (slično kriptalnoj displaziji kod BE) ancilarnim tehnikama ispitivanja takođe pokazala neoplastični potencijal, pa zaslužuje prepoznavanje kao novi neoplastični prekursor.¹¹

Intestinalna patologija

Celijačna bolest je sve češća u svakodnevnoj praksi i njena incidencija je jako porasla i u adultnoj populaciji i to u svim dobnim grupama. S obzirom da se radi o autoimunom poremećaju mukoze tankog creva koji je izazvan ingestijom glutena kod genetski podložnih ljudi, često se naziva i gluten senzitivna enteropatija (GSE). Nakon stare Rubinove klasifikacije mukozalnih promena kod GSE iz 1954. godine i kasnijeg uvođenja kriterijuma povećanog broja intraepitelnih limfocita (IEL) u novoj Marshovoj klasifikaciji iz 1992. godine sa 4 tipa promena, danas se najviše koristi Marsh-Oberhuberova modifikacija ove klasifikacije iz 1998. godine koja je odredila graničnu vrednost od preko 40 IEL/100 E (enterocita), a uvela je i stepenovanje tipa 3 mukozalnih promena. Ensari je 2010. godine predložila novu i prostiju modifikaciju ove klasifikacije koja prepoznaje samo 3 tipa promena i obaveznu graničnu vrednost od preko 20 IEL/100 E i to: tip 1 (normalne viluse sa ili bez kriptalne hiperplazije), tip 2 (skraćene viluse sa kriptalnom hiperplazijom) i tip 3 (bez vilusa sa kriptalnom hiperplazijom - “ravna mukoza”), ignorišući tip 4 (potpunu atrofiju mukoze) kao neznajni ireverzibilni krajnji ishod bolesti.¹²

Izdvajanje tipova kolitisa je teško i zahteva podjednako poznavanje histomorfoloških detalja, kao i iskustvo. Ali za neke tipove kolitisa uspostavljeni su i validni kriterijumi za patohistološku dijagnostiku kao što su primeri mikroskopskog kolitisa. Prototip mikroskopskog kolitisa je limfocitni kolitis, kod koga je osim jasnog uočavanja zapaljenjskog infiltrata, posebno superficijalnog infiltrata sa pojačanom plazmacitozom i limfocitnim krititisom, neophodno je uočiti i povećanje broja intraepitelnih limfocita (IEL) u površinskim epitelnim ćelijama (EC), a smatra se dijagnostičkim sa preko 10IEL/100EC (po nekim autorima preko 15IEL/100EC) dok se normalno vidi u manje od 5IEL/100 EC. Slično, za kolageni kolitis neophodno je detektovati subepitelnu kolagenizaciju sa preko 7 mikrona debljine na perpendikularno orijentisanom preseku, ali se smatra dijagnostičkom tek sa najmanje 10 mikrona, a može biti izražena i do 80 mikrona debljine. Često je praćena limfoplazmocitnom infiltracijom i destrukcijom i/ili deskvamacijom površinskog epitela. Postoje i atipične forme mikroskopskog kolitisa, kao što su: granulomatozni mikroskopski kolitis, pseudomembranozni kolageni kolitis i “IBD-nalik” limfocitni ili kolageni kolitis. Međutim, daleko je teže i subjektivnije izvršiti distinkciju akutnog samolimitirajućeg kolitisa (ASLC), idiopatske inflamatorne bolesti creva (IBD) ili nekih od skoro izdvojenih tipova kao što je primer “fokalno aktivnog kolitisa” iz velike grupe nekatogizovanih kolitisa.¹³ Kod kolitisa koji pokazuju nepotpuno razvijene odlike hroničnih kolitisa daleko je važnije isključiti distinktivne forme kolitisa i odrediti stepen histološke aktivnosti i utvrditi eventualne komplikacije ili rizike, uključujući i prisustvo atipije ili displazije, ali to pre svega zahteva adekvatno endoskopsko uzorkovanje.¹⁴ Dobar primer vodiča za objektivnije stepenovanje aktivnosti IBD je petostepeni sistem aktivnosti za ulcerozni kolitis Geboes-a i saradnika iz 2000. godine, ali koji se može koristiti i za druge hronične kolitise, uz obaveznu napomenu o dijagnostičkoj kategorizaciji kolitisa.¹⁵

Faktori rizika za pojedinu gastrointestinalnu patologiju se danas obilno proučavaju. Pored klasičnih epidemioloških i genetskih studija, ispitivanja se danas posebno usmeravaju na područja disbioze, gojaznosti i otkrivanje specifičnih molekularnih ili genetskih markera.

Abnormalna crevna mikroflora (“disbioza”) je poseban etiopatogenetski faktor koji se odavno uzima krajnje ozbiljno u istraživanjima oboljenja GIT ali i nekim ekstra-GI i sistemskim oboljenjima.¹⁶ Disbioza se odnosi na bitne kvalitativne i kvantitativne promene crevne mikroflora: u sastavu mikroorganizama (diskompozicija), obilju (deplecija ili prekomerni porast) i promeni normalne lokalizacije (translokacija),

koja za posledice ima abnormalne imunološke reakcije i genetske promene. Naime, ukupna masa živih mikroorganizama u crevima ("mikrobiota") pokazuje izuzetno važne fiziološke ili patogenetske uloge u odgovarajućim uslovima. S obzirom da u crevima živi oko 500 vrsta bakterija (od kojih oko 30-40 vrsta čini 99% bakterijske populacije) i da se njihova ukupna gustina i masa povećavaju od 10⁴ u jejunumu prema 10⁷ CFU (od "colony-forming units") u rektumu, one se mogu grupisati prema lokalizaciji, obimu i sastavu. Pri tom, crevne bakterije se razlikuju kao stalne i varijabilne članice u luminalnoj (fekalnoj) mikrobioti, od onih u mukozalnoj mikrobioti gde čine poseban spoj mikroflore i mukusnog sloja iznad površinskih crevnih epitelnih ćelija ("biofilm"). Nove tehnike molekularne biologije koje ispituju varijabilnost između 16S rRNA genskih sekvenci dve bakterijske vrste koriste se kao mera njihove filogenetske distance i na taj način se utvrđuje sastav i udeo pojedinih bakterijskih vrsta u mikrobioti. Danas se prave i mape zajedničkog genskog profila mikrobiota ("mikrobiom") koje čine specifične geneske ekspresije pojedinačnih vrsta ("fingerprints") i koje su konstitucionalno različite za svaku individuu, bilo da su "normalne" (kod zdravih osoba) i "abnormalne" (učestvuju u patogenezi bolesti). Patogenetska uloga disbioze je delimično upoznata i odnosi se na intestinalne, ekstraintestinalne i sistemske poremećaje koje se ostvaruju preko složenih imunoinflamatornih, metaboličnih (domaćinsko-mikrobiotiski kometabolizam), molekularnih i genetskih mehanizama u tzv. "mozak-crevo-mikrobiota osovini".¹⁷ Najznačajnije ispitivane patogenetske veze disbioze s intestinalnim bolestima su kod idiopatske inflamatorne crevne bolesti (IBD), sindroma iritabilnog creva (IBS) i (post)infektivnih kolitisa. Translokacija bakterija može uzrokovati razne ekstraintestinalne manifestacije u kojoj učestvuje disbioza (holecistitis, pankreatitis, minimalna hepatička encefalopatija, fibromialgija i dr.) ili sistemske poremećaje posebno metaboličke (metabolički sindrom, gojaznost, ateroskleroza, diabetes), alergijske i sistemske reakcije (kod opekotina i mediteranske groznice), poremećaje ponašanja i kognicije (posebno autizam, anksioznost, visceralna bol, opšta nelagodnost) i dr. Dobar primer moderne etiopatogeneze u kojoj verovatno učestvuje mikrobiota je Crohn-ova bolest. Epidemiološki, kliničkopatološki, genetski i eksperimentalni dokazi primarne infektivne etiopatogeneze Crohn-ove bolesti postoje, ali evidentni tačni patogenetski mehanizam nije razjašnjen. Razvijene su tri teorije patogeneze koje se međusobno ne isključuju, a ukazuju na disbiozu: neidentifikovani perzistentni patogen mikrobiote (jedan od često navodenih kandidata je *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*), abnormalnu permeabilnost mukozalne barijere koja vodi u bakterijsku translokaciju kroz crevni zid prema mezenterijalnim limfnim nodusima i drugim internim organima, i/ili disbalans između protektivnih i patogenih crevnih bakterija.¹⁸

Intestinalna kancerogeneza može biti rezultat disbioze kolonične mikrobiote, odnosno preovladanje bakterija sa citotoksičnim metaboličkim produktima (sulfat-reduktivne bakterije) ili sa produkcijom slododnih radikala koje oštećuju DNK ili koje izazivaju abnormalnu aktivaciju rezidentnih imunih ćelija (npr. makrofaga). Metabolički faktori takođe su značajni, bilo da je u pitanju kometabolizam mikrobiote i domaćina (uzrok povećanja ili promene sekundarnih crevnih žučnih kiselina), metabolizam lekova (i drugih egzogenih hemijskih sredstava) ili metabolički efekti nekih sastojaka hrane (zasićene masti, crvena mesa i prerađevine i dr.).¹⁹ Međutim, moguće su i terapijske korekcije disbioze (probiotici, prebiotici, protektivna uloga polifenola i drugih nutritienasa), a posebno se posvećuje pažnja i selektivnom zasejavanju bakterijskih populacija čiji metabolizam nije štetan (metanogene bakterije). Fekalna transplantacija se danas jako razvija kao metoda lečenja disbioze, što se posebno pokazalo efikasnim u lečenju postantibiotskog pseudomembranoznog kolitisa izazvanog bakterijom *Clostridium difficile*. Transplantacija fekalne mikrobiote sa zdravog donora danas se sve više primenjuje i u lečenju drugih bolesti, posebno IBD, IBS, autoimunih i alergijskih poremećaja, metaboličkog sindroma i nekih formi gojaznosti.²⁰ Uloga patologa u poremećajima u kojima (potencijalno) učestvuje disbioza je određivanje promena na crevnoj mukozi, eventualno i drugim slojevima zida creva ili okolnih i drugih organa (kod bakterijske translokacije). Promene su najčešće diskretne i superficijalne ("minimal change" kolitis), podsećaju na akutni samolimitirajući kolitis "infektivnog tipa" (ASLC), fokalno aktivni kolitis (FAC) ili apoptotsku kolopatiju, ali se rede mogu videti i elementi drugih tipova (ne)kategorizovanih kolitisnih promena: difuzni aktivni kolitis, akutni ishemijski, traumatski, limfocitni. Svakako se moraju isključiti elementi hroniciteta (IBD) i odrediti stepen aktivnosti kolitisa i prisustvo drugih promena.

Gojaznost je veliki faktor rizika za mnoga oboljenja u GIT. Postoji bliska veza između gojaznosti (metaboličkog sindroma), fibroze i inflamacije visceralnog masnog tkiva i fibroze u organima GIT, posebno u proksimalnim delovima, gde dovodi do fibroinflamatornih i degenerativno-atrofičnih posledica i smatra se stanjem hronične sistemske inflamacije.²¹ Međutim, gojaznost etiopatogenetski utiče i u nizu drugih poremećaja kao što su gastroezofagealni refluks (GERD), hiatusna hernija, Barrett-ov jednjak, variksi i portalna regiona (RR 1.80-2.80), koji bar delimično reflektuje asocijaciju sa GERD i Barrett-ovom metaplastičnom promenom jednjaka, dok je incidencija ezofagealnog skvamocelularnog karcinoma niža nego u ostaloj populaciji. Karcinom žučne kese i distalnih ekstrahepatičnih puteva je asociiran s gojaznošću, verovatno reflektujući vezu sa holeritijazom koja je takođe znatno češća kod gojaznih, a karcinom pankreasa samo kod osoba čiji je BMI ("body mass index") veći od 35 (RR 1.07-1.19).²² Kolorektalni karcinom je visoko asociiran s gojaznošću i visokomasnom dijetom, kao što pokazuju i epidemiološke studije i eksperimentalni podaci o stvaranju prekursora karcinoma na raznim životinjskim modelima. Relativni rizik (RR) se nalazi u opsegu 1.09-1.59 i generalno je viši kod muškaraca nego kod žena i viši za karcinom kolona nego rektuma. Metaboličko-hemijska etiopatogeneza u kojoj učestvuje i mikrobiota, potpomognuta je i sekrecijom potencijalnih karcinogena samih adipocita, uključujući adipokine (adiponektin i leptin), IGF ("insulin-like growth factor") i VEGF ("vascular endothelial growth factor"). Leptin stimuliše ćelijsku proliferaciju kolorektalnog karcinoma *in vitro* i pomaže aktivaciju beta-katenin signalnog puta, a nivoi VEGF su različiti u subkutanom i visceralnom masnom tkivu.²³

Onkološka gastrointestinalna patologija

Proširena su znanja o prekursorima neoplazija u GIT, ali i o odnosu displazije i nedisplastične atipije epitela mukoze. Takav je primer nejasne uloge obavezne intestinalne metaplastične promene za razvoj Barrett-adenokarcinoma jednjaka. Istovremeno se vrše brojna ispitivanja potencijalnih molekularnih targetiranih lekova za ezofagealni adenokarcinom, kao što bi to mogao biti slučaj sa prekomerno eksprimiranim p-mTOR ("phosphorylated m-TOR") i koji je nađen u oko 19,7% slučajeva ovih pacijenata.²⁴

Prognostički i prediktivni faktori se neprekidno ispituju, ali se po kliničkom značaju svega nekoliko novih izdvojilo u poslednje vreme. Tako se za skvamocelularni karcinom jednjaka pokazalo da imunoekspresija KIT receptora (CD117 antigena) koja se viđa u oko trećine ovih pacijenata pokazuje čvrstu korelaciju sa znatno slabijom prognozom kliničkog ishoda.²⁵ Dobro je poznata prediktorna uloga HER-2 receptora u lečenju metastatskog gastrinog i GEJ/kardijalnog adenokarcinoma, ali se već pojavljuju novi potencijalni targetirani lekovi gastrinog karcinoma, kakav je krizotinib (inhibitor MET tirozin kinaze) i inhibitor receptora ROS1 (c-ros onkogen) koji će po svoj prilici zahtevati nove prediktore, tj. odgovarajuću imunohistohemijsku procenu receptorskog statusa.^{26,27} Slični pokušaji se izvode i za gastrointestinalni tumor (GIST) gde se vide perspektive pojave terapijske inhibicije signalnog receptora IGF1R ("Insulin-like Growth Factor Receptor Type 1"), pa bi skrining IGF1R ekspresije ovog receptora mogao postati vrlo važan zadatak patologa.²⁸ Kada je GIST u pitanju, postignuti su i znatni uspesi u dokazivanju genetske pozadine KIT-negativnih GIST (wt-KIT), gde su nađene aktivirajuće mutacije BRAF, gubici u funkciji NF-1 gena, aktivacione mutacije IGF1R, a kod dece i adolescenata i posebno značajne germinativne i somatske mutacije SDH ("succinate dehydrogenase"), što će zahtevati dalji genetski skrining njenih subjedinica SDHA, SDHB, SDHC i SDHD, a shodno tome nove prognostičke i terapijske sheme.²⁹

Patologija kolorektalnog karcinoma (CRC) je prirodno najzastupljenija u onkopatologiji GIT. Nova saznanja ispitivanja etiopatogeneze i prekursora CRC, kao i prediktivnih faktora za moderno lečenje ovih pacijenata dovela su do donošenja nove klasifikacije tumora digestivnog sistema 2010. godine. Aktualna klasifikacija polipa debelog creva donela je promenu u shvatanju lezija koje se mogu smatrati prekursorom CRC, što je dovelo i do boljeg poznavanja molekularne patogeneze CRC, uključujući i tzv. "alternativni seradni put" maligne alteracije kod nekih prekursornih lezija.³⁰

Brojni radovi u vezi primene i prakse "zlatnih" histomorfoloških standarda iznetih u 7. verziji TNM klasifikacije iz 2010. godine, doveli su do potrebe boljeg definisanja novih klinički značajnih histomorfoloških, imunohistohemijskih i molekularnih prediktora dijagnostike i lečenja pacijenata sa CRC. Najznačajniji dodatni prognostički faktori, prema obnovljenim pouzdanim i visoko kotiranim REMARK vodičima iz 2012. godine,

mogu se podeliti u tri grupe: morfološki markeri, imuni markeri i biomarkeri. Od morfoloških markera, značajno mesto nezavisnog prognostičkog faktora, posebno značajnog za stratifikaciju TNM stadijuma II CRC, zauzelo je tzv. “tumorsko pupljenje” (“tumour budding”), koje se definiše prisustvom pojedinačnih infiltrativnih kancerskih ćelija (ili ćelijskih grupa do 5 ćelija) na invazivnom frontu širenja tumora, koji se označavaju kao peritumorski pupoljci (PTB).³¹ Danas se razlikuju i intratumorski pupoljci (ITB) ali njihova uloga i prediktivni značaj nisu posebno okarakterisani.³² Tumorsko pupljenje je povezano s agresivnijim rastom tumora i lošijom prognozom, a biološki moguće predstavlja podrupu ćelija koja doživljava proces sličan epitelno-mezenhimalnoj tranziciji. Imuni markeri predstavljaju nezavisne prognostičke faktore koji se odnose na T ćelijske markere (CD3, citotoksične CD8 i memorijske CD45RO ćelije) i ukazuju na genetski uslovljen limfoidni odgovor domaćina, koji zavisi od tipa, gustine i lokalizacije imunih ćelija. To se može predstaviti bodovnim sistemom (“immunoscore”), koji može biti digitalno objektiviziran posebnim softverom i time smanjiti interobzerversku varijabilnost.³³ Imunoskor ima svoj uticaj na razlikovanje prognoze kod mikrosatelitski (“mismatch-repair”) nestabilnih (MSI) i stabilnih (MSS) tumora. Lugli i saradnici su dali i “CD8+/PTB” indeks kao meru interakcije tumora i domaćinske stromalne reakcije i utvrdili njegovu nezavisnu prognostičku vrednost.³⁴

Biomarkeri kod CRC (pored već dobro poznatog KRAS gena) koji pokazuju neke ohrabrujuće rezultate u dijagnostici i predikciji agresivnog ponašanja su (prema REMARK vodičima): BRAF, MACC1, c-MET (tirozin kinazni receptor za HGF), RKIP (“raf-1 kinase inhibitor protein”, regulator nishodnog Ras signalnog puta), DICER (“RNASE III endonuclease”, regulator različitih microRNA) i drugi. Danas se zapravo najviše u praksi govori o RAS genu, jer su pored KRAS gena i NRAS gena, uočeni i drugi značajni srodni geni u kancerској patogenezi i koji svojim mutacijama oslabljuju mogućnosti lečenja metastatskog CRC cetuksimabom, inhibitorom EGFR (“epidermal growth factor receptor”). To isto važi i za mutacije BRAF gena u lečenju metastatskog CRC, ali takođe on pruža mogućnost razlikovanja sporadičnih (mutirani BRAF) od hereditarnih CRC (“mismatch-repair deficient, BRAF wild-type”), pa je zato u patologiji CRC i njegovih prekursora njegovo imunohistohemijsko dokazivanje izuzetno značajno.³⁵ Od posebnog značaja su i drugi radovi u vezi novih genetskih markera kao što je MACC1 (“metastasis-associated in colon cancer-1”), koji kao ključni regulator HGF-MET signalnog puta, može predstavljati prediktor formiranja metastaze CRC, ali i novu metu za molekularnu terapiju. Prekomerno dejstvo mutiranog MACC1 dovodi do transkripcije i prekomerne ekspresije MET koja je povezana sa metastatskom progresijom i slabijim preživljavanjem pacijenata sa CRC.³⁶

Danas se može govoriti o novim molekularnim, celularnim i imunohistohemijskim klasifikacijama CRC koje u sebe inglobiraju nagomilane prognostičke podatke i stoga utiču i na stepenovanje agresivnosti tumora (“molecular grading”) što je posebno u zavisnosti od MSI statusa, ali i modifikuju morfološki utvrđen stadijum tumorske bolesti (“molecular up-staging and down-staging”), što je u zavisnosti od utvrđenih tipova genetskih mutacija. Međutim, važan je i broj mutacija koje se mogu utvrditi kod CRC (prosečan broj 728 mutacija), na osnovu čega je izdvojena i posebna grupa brzo-progresivnih i agresivnih “hipermutiranih CRC” koji pokazuju vrlo visok broj mutacija.

Genetika danas poznaje: skoro 30 polimorfizama CRC asociranih sa različitim kancerskim rizikom; sposobnost različitih gena (kao APC i MUTYH) da proizvedu identične fenotipove polipoza; prepoznaje centralnu ulogu aberantnog popravka DNK (“aberrant DNA repair”) na nivou parova baza za stvaranje CRC; kao i paradoksalne asocijacije i neočekivane procese i puteve u intestinalnoj kancerogenezi. U novine svakako spadaju: otkrića remodelatora hromatina (kao što je ARID1A), istovremena pojava funkcionalno-suprotnih mutacija sličnih gena (npr. APC-SOX9, FBXW7-TGIF1), kao i otkriće tzv. “ultramutator phenotype” CRC sa preko 1.000.000 mutacija, ali koji ne nose obavezno lošu prognozu.³⁷

Literatura

1. Sharma P, Hawes RH, Bansal A, et al. Standard endoscopy with random biopsies versus narrow band imaging targeted biopsies in Barrett's oesophagus: a prospective, international, randomised controlled trial. *Gut* 2013;62:15-21.
2. Fiocca R, Mastracci L, Milione M et al. Microscopic esophagitis and Barretts esophagus: The histologic report. *Dig Liver Dis* 43S, 2011:S319-S330.
3. Rubio CA, Sjö Dahl K, Lagergren J. Lymphocytic esophagitis: a histologic subset of chronic esophagitis. *Am J Clin Pathol*. 2006;125(3):432-7.
4. Odze RD, Maley CC. Neoplasia Without Dysplasia. Lessons From Barrett Esophagus and Other Tubal Gut Neoplasms. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134:896-906.
5. Odze RD. Diagnosis and grading of dysplasia in Barrett's oesophagus. *J Clin Pathol* 2006;59:1029-1038.
6. Brown IS, Whiteman DC, Lauwers GY. Foveolar type dysplasia in Barrett esophagus. *Modern Pathology* 2010; 23:834-843.
7. Lomo L, Blount PL, Sanchez CA. et al. Crypt dysplasia with surface maturation: a clinical, pathologic and molecular study of a Barrett's esophagus cohort. *Am J Surg Pathol* 2006;30:423-435.
8. Lörinc E, Jakobsson B, Landberg G, Veress B. Ki67 and p53 immunohistochemistry reduces interobserver variation in assessment of Barrett's oesophagus. *Histopathol*. 2005 Jun;46(6):642-8.
9. Kastelein F, Biermann K, Steyerberg EW, et al. on behalf of the ProBar-study group. Aberrant p53 protein expression is associated with an increased risk of neoplastic progression in patients with Barrett's oesophagus. *Gut* 2013;62:1676-1683.
10. McHugh JB, Gopal P, Greenson JK. The clinical significance of focally enhanced gastritis in children. *Am J Surg Pathol* 2013;37:295-9.
11. Agoston A, Odze R. Evidence that gastric pit dysplasia-like atypia is a neoplastic precursor lesion. *Human Pathol* 2014; 45:446-455.
12. Ensari A. Gluten-sensitive enteropathy (celiac disease): controversies in diagnosis and classification. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:826-36.
13. Greenson JK, Stern RA, Carpenter SL, Barnett JL. *Hum Pathol*. The clinical significance of focal active colitis. 1997;28(6):729-33.
14. Yantiss RK, Odze RD: Optimal approach to obtaining mucosal biopsies for assessment of inflammatory disorders of the gastrointestinal tract. *Am J Gastroenterol* 2009;104(3):774-83.
15. Geboes K, Riddell R, Öst A, Jensfelt B, Persson T, Löfberg R. A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis. *Gut* 2000;47:404-409.
16. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Brett Finlay B. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol Rev* 2010; 90: 859-904.
17. Maynard CL, Elson CO, Hatton RD, Weaver CT. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature* 2012; 489:231-241.
18. De Hertogh G, Aerssens J, Geboes KP, Geboes K. Evidence for the involvement of infectious agents in the pathogenesis of Crohn's disease. *World J Gastroenterol*. 2008; 14(6): 845-852.
19. Sears CL, Garrett WS. Microbes, Microbiota, and Colon Cancer. *Cell Host Microbe* 2014; 15:317-328.
20. Borody TJ, Khoruts A. Fecal microbiota transplantation and emerging applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;9(2):88-96.
21. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006;444:860-7.
22. Berger NA. Obesity-associated gastrointestinal tract cancer: from beginning to end. *Cancer* 2014;120:935-9.
23. Bardou M, Barkun AN, Martel M. Obesity and colorectal cancer. *Gut* 2013;62:933-47
24. Prins MJ, Verhage RJ, Ruurda JP, et al. Over-expression of phosphorylated mammalian target of rapamycin is associated with poor survival in oesophageal adenocarcinoma: a tissue microarray study. *J Clin Pathol* 2013;66:224-228.
25. Fan H, Yuan Y, Wang J, et al. CD117 expression in operable oesophageal squamous cell carcinomas predicts worse clinical outcome. *Histopathology* 2013;62:1028-37.
26. Lee J, Lee SE, Kang SY, et al. Identification of ROS1 rearrangement in gastric adenocarcinoma. *Cancer* 2013;119:1627-35.
27. Okamoto W, Okamoto I, Arao T, et al. Antitumor action of the MET tyrosine kinase inhibitor crizotinib (PF-02341066) in gastric cancer positive for MET amplification. *Mol Cancer Ther*. 2012;11:1557-64.

28. Lasota J, Wang Z, Kim SY, Helman L, Miettinen M. Expression of the receptor for type i insulin-like growth factor (IGF1R) in gastrointestinal stromal tumors: an immunohistochemical study of 1078 cases with diagnostic and therapeutic implications. *Am J Surg Pathol* 2013;37:114-9.
29. Miettinen M, Killian JK, Wang ZF, et al. Immunohistochemical loss of succinate dehydrogenase subunit A (SDHA) in gastrointestinal stromal tumors (GISTs) signals SDHA germline mutation. *Am J Surg Pathol* 2013;37:234-40.
30. Snover DC. Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma. *Hum Pathol*. 2011;42:1–10.
31. Mitrovic B et al. Tumor budding in colorectal carcinoma: time to take notice. *Mod Pathol*. 2012
32. Lugli A et al. Intratumoral budding as a potential parameter of tumor progression in mismatch repair-proficient and mismatch repair-deficient colorectal cancer patients. *Hum Pathol*. 2011
33. Galon J et al. Cancer classification using the Immunoscore: a worldwide task force. *Transl Med*. 2012
34. Lugli A et al. CD8+ lymphocytes/ tumour-budding index: an independent prognostic factor representing a ‘pro-/anti-tumour’ approach to tumour host interaction in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2009
35. Capper D et al. BRAF V600E-specific immunohistochemistry for the exclusion of Lynch syndrome in MSI-H colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2013
36. Stein U et al. MACC1, a newly identified key regulator of HGF-MET signaling, predicts colon cancer metastasis. *Nat Med*. 2009; 15:59-67
37. Tomlinson I. The genetics of colorectal cancer (Pathological Society Goudie lecture). 26th European Congress of Pathology, Update in Pathology Proceedings, ExCel, London, UK, 2014