

Carcinogenesi: la sequenza adenoma-carcinoma e i pathway alternativi

Mauro Risio

Le fasi premorfologiche della carcinogenesi

La carcinogenesi è un processo multifasico e multifattoriale che si sviluppa attraverso una sequenza di eventi biologici intermedi tra l'esposizione ad uno o più carcinogeni e l'insorgenza di una neoplasia invasiva. Nei primissimi stadi, l'innescò della carcinogenesi intestinale può essere evidente nella mucosa priva di alterazioni istologiche anche in completa assenza di lesioni neoplastiche endoscopicamente rilevabili. Si tratta di alterazioni cellulari o moleco-

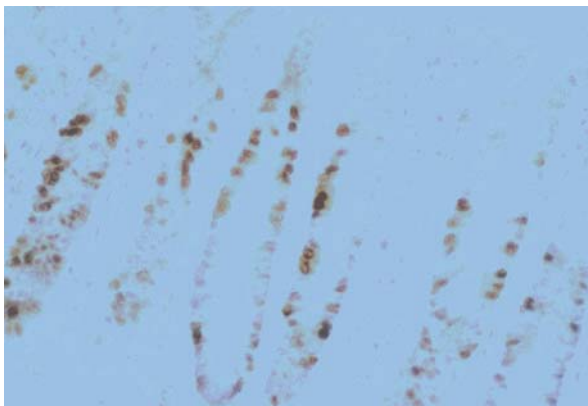


Fig. 2.1. L'attività proliferativa è significativamente alterata nella mucosa intestinale dei pazienti con neoplasia colorettaie. Rispetto alla popolazione controllo, il compartimento proliferativo (nuclei marcati in marrone) è espanso e prevalentemente delocalizzato nelle porzioni superficiali della mucosa

lari associate alla iniziazione/promozione neoplastica, conseguenti all'interazione tra fattori ambientali o microambientali ed epitelio intestinale, che possono essere evidenziate e, in alcuni casi, anche misurate in aree molto estese della mucosa [1].

Sia la proliferazione cellulare che l'apoptosi, dal cui bilancio omeostatico dipende fortemente il trofismo della mucosa [2], sono precocemente alterate nella carcinogenesi. In particolare, il significativo incremento e l'anomala dislocazione dell'attività proliferativa nella mucosa sono presenti nei pazienti portatori di neoplasia colica (Fig. 2.1) e in quelli che la svilupperanno entro pochi anni [3, 4]. Analogamente, anomalie della differenziazione cellulare e, soprattutto, espressione differenziale di numerosi geni notoriamente coinvolti nella carcinogenesi [5] possono essere rilevate nella mucosa normale anche a notevole distanza dal tumore (Fig. 2.2). Nell'insieme questi risultati avvalorano l'ipotesi che, inizialmente, i processi tumorigeneticì sono mediati da un *field defect* esteso a tutta o, perlomeno, a gran parte della superficie mucosa dell'intestino. Ne deriva che, anche se si manifesta in forma di lesioni focali di varia tipologia e dimensioni, la neoplasia intestinale è essenzialmente una malattia poli-crono-topica, che origina e progredisce, cioè, nel contesto di una mucosa diffusamente pre-neoplastica, orientata e predisposta a sviluppare, nel tempo o simultaneamente, nello stesso o in differenti segmenti anatomici, multiple neoplasie: da qui il razionale per pianificare le strategie di prevenzione ed i programmi di screening del carcinoma colorettaie (CCR).

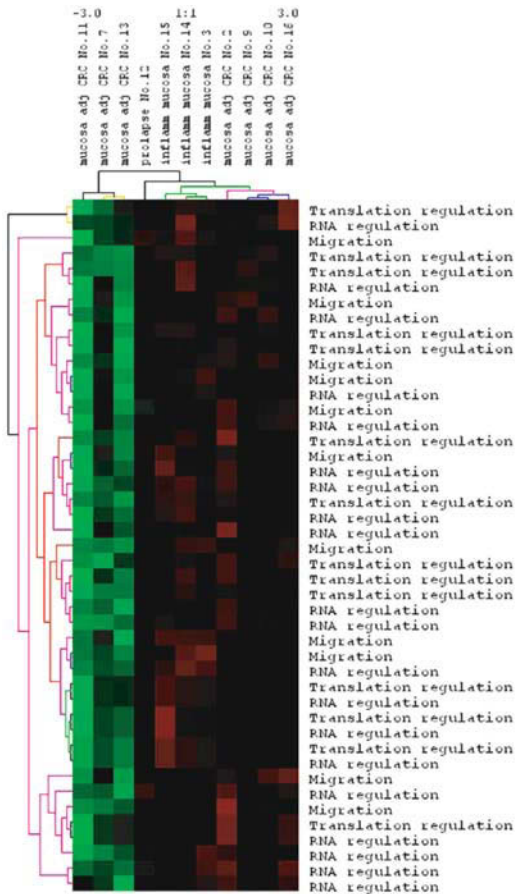


Fig. 2.2. Esempio d'analisi di espressione genica effettuata su campioni di mucosa normale adiacente a tumori colorettali. I tessuti sono stati analizzati per il profilo d'espressione dell'intero genoma, utilizzando microarrays a oligonucleotidi con doppia fluorescenza (Agilent Whole Genome oligoarrays). Prendendo in considerazione alcuni geni che regolano la trascrizione, è possibile osservare come l'espressione sia opposta (incremento/decremento) in alcuni campioni (segnale verde/decremento) rispetto agli altri (segnale rosso/incremento) (Cortesia della prof.ssa M.F. Di Renzo, IRCC Candiolo-Torino)

Dalla cripta aberrante all'adenoma

La maggior parte degli adenocarcinomi del grosso intestino è preceduta da una fase preinvasiva di neoplasia intraepiteliale di varia durata [6]; dal punto di vista morfologico il termine "displasia" viene convenzionalmente applicato all'insieme di alterazioni citologiche e architetturali che definiscono la neoplasia intraepiteliale. Il processo neoplastico è pertanto un continuum singolo ed indivisibile che inizia nel contesto dell'epitelio colico e progredisce attraverso la progressiva ingravescenza della displasia sino a quando si verifica l'invasione della sottomucosa attraverso la *muscularis mucosae* e la definizione di adenocarcinoma può essere correttamente attribuita.

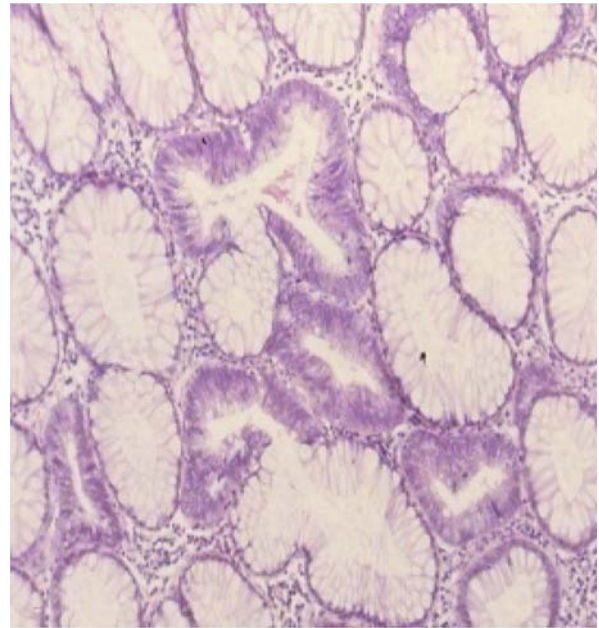


Fig. 2.3. Microadenoma (Aberrant Crypt Foci, ACF): quattro cripte delimitate da epitelio displastico, facilmente distinguibile da quello, normale, che tappezza le cripte circostanti

L'adenoma unicriptico o limitato a poche cripte di Lieberkhu della mucosa intestinale (< 5, microadenoma, Aberrant Crypt Foci, ACF) [7] è la lesione minima precoce della neoplasia intraepiteliale morfologicamente identificabile nell'uomo: la cripta aberrante, al contrario della normale, è rivestita da epitelio displastico ipercellulare, con nuclei ipercromici e stratificati (Fig. 2.3). Esiste evidenza che, tra gli eventi biomolecolari associati alle fasi iniziali della tumorigenesi, le alterazioni nella distribuzione topografica della proliferazione cellulare nella mucosa precedono strettamente la comparsa dell'adenoma unicriptico: dal compartimento proliferativo abnormemente dislocato alla superficie della mucosa origina l'abbozzo della cripta adenomatosa che, in tempi successivi, ripopola progressivamente la mucosa dall'alto in basso, da cui il termine di Top-Down Morphogenesis assegnato all'intero processo [8]. La cripta aberrante rappresenta il precursore d'innescio della sequenza displasia-carcinoma e vi sono indicazioni a favore dell'utilità clinica dell'identificazione endoscopica di ACF *in vivo* (con magnificazione cromoendoscopica) per la sorveglianza dei gruppi a rischio e per la validazione degli interventi di chemioprevenzione [9]. La crescita dimensionale del microadenoma ad adenoma macroscopicamente evidente è scandita dalla fissione longitudinale delle singole cripte adenoma-

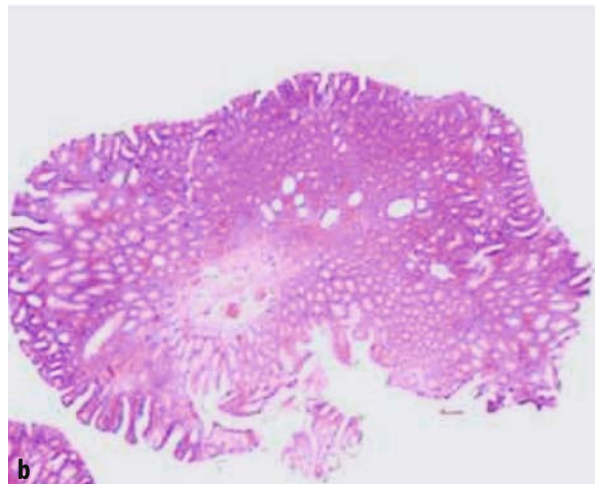
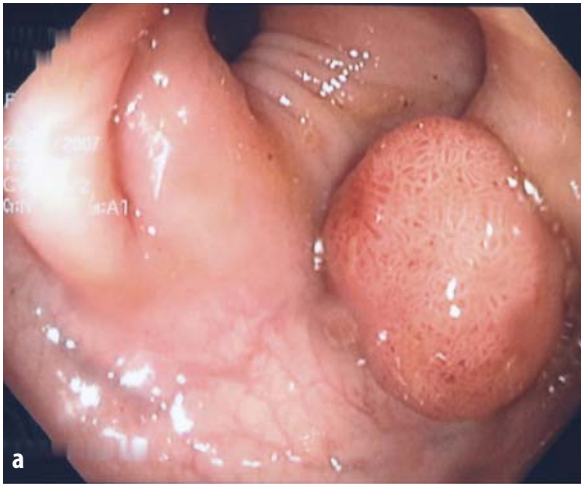


Fig. 2.4. Aspetto endoscopico (a) ed istologico (b) del polipo adenomatoso

tose a ritmi più alti della mucosa normale, tali da consentire al tessuto neoplastico un significativo vantaggio di crescita.

La neoplasia intraepiteliale colica assume differenti forme di organizzazione macroscopica e/o architetturale: adenoma polipoido (polipo adenomatoso) (Fig. 2.4), adenomi non polipoidi (adenoma piatto, adenoma depresso), displasia nelle malattie intestinali infiammatorie e nelle lesioni intestinali post-attiniche. Ognuna di queste forme ha, in accordo con un modello stocastico di carcinogenesi, differenti potenziali di stabilizzazione, regressione, evoluzione verso il carcinoma invasivo.

Il potenziale di trasformazione maligna della lesione più frequente, il polipo adenomatoso, è definito da tre parametri. Il parametro dimensionale è rilevante, se si considera che la prevalenza di carcinoma è dell'1% in adenomi inferiori a 1 cm, del 10% in quelli di dimensione compresa tra 1 e 2 cm e del 50% negli adenomi maggiori di 2 cm [10]. Siccome le tre classi dimensionali di adenoma incidono rispettivamente per il 60%, il 23% e il 17% nella popolazione generale, la percentuale di CCR originatesi in adenomi minori di 1 cm dovrebbe essere molto bassa (circa 5%) [11]. Due parametri istologici, l'architettura villosa ed il grado di displasia, sono altamente predittivi del potenziale evolutivo. Se solo lo 0,25% per anno dei polipi adenomatosi effettivamente cancerizza [12], in quelli costituiti, in parte o *in toto*, da strutture microscopiche di foggia digitiforme o foliacea (cosiddetti "adenomi tubulo-villosi" o "adenomi villosi") (Fig. 2.5), la percentuale di cancerizzazione potenziale sale al 17%. Il grado di displasia degli adenomi misura, morfologicamente, il grado di scostamento del tessuto neoplastico dalla mucosa intestinale normale e rappresenta un potente indicatore

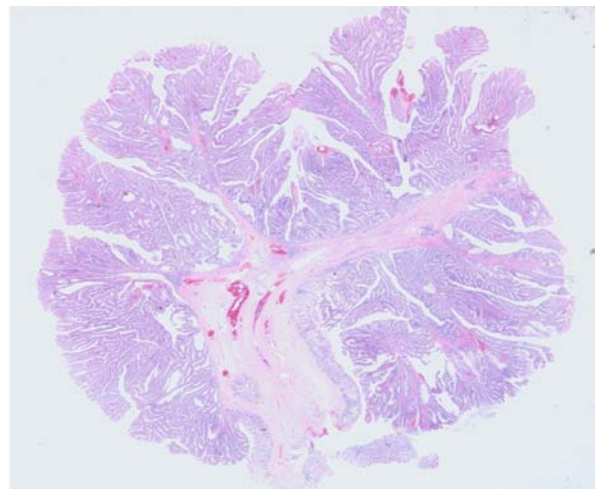


Fig. 2.5. Adenoma villosso, con tipico profilo sfrangiato determinato dalle espansioni digitiformi (villi), in cui si organizza il tessuto neoplastico

della loro propensione alla malignità. Nella displasia lieve o moderata (o di basso grado) il tessuto del polipo adenomatoso conserva discrete rassomiglianze con la controparte normale, mentre nella displasia severa (o grave, o di alto grado) la divergenza dalla normalità è molto accentuata (Fig. 2.6): in quest'ultima condizione la percentuale annua di cancerizzazione potenziale del polipo sale al 37% [12]. È ora accertato che il grado di displasia degli adenomi rappresenta il parametro a più alto valore predittivo per la trasformazione maligna: le dimensioni e l'estensione della componente villosa, a loro volta, costituiscono fattori di rischio indipendente per lo sviluppo di displasia di alto grado [13]. La presenza di almeno uno dei fattori di rischio di progressione maligna

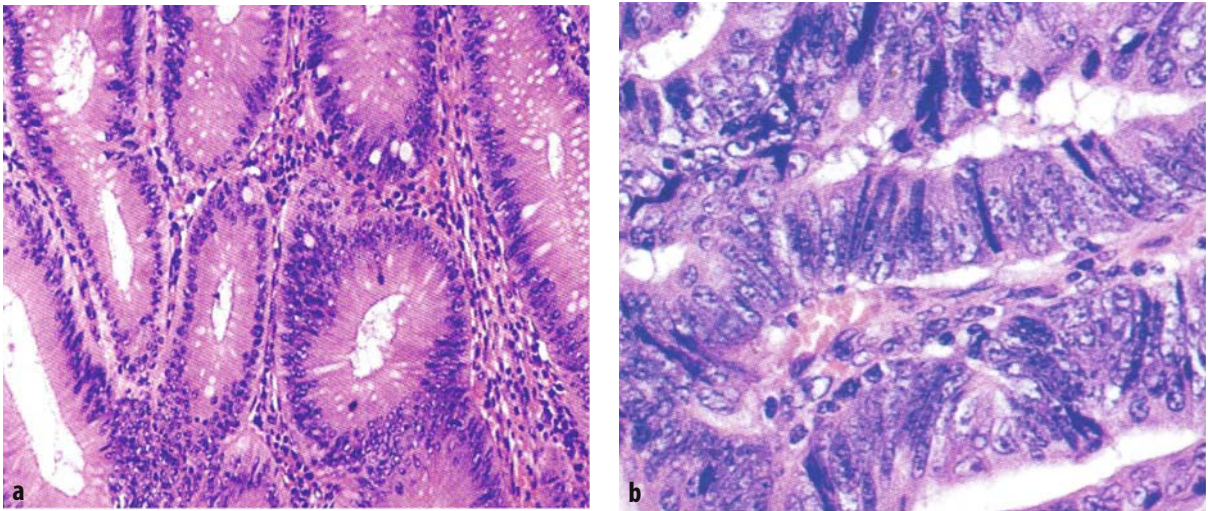


Fig. 2.6. Displasia di basso (a) ed alto grado (b) del tessuto adenomatoso

(dimensioni > 1 cm, architettura villosa, displasia di alto grado) definisce l'“adenoma avanzato”, il polipo, cioè, che in un intervallo di 4-11 anni ha una concreta possibilità di condurre al CCR avanzato.

Non solo gli adenomi avanzati rappresentano l'effettivo precursore del cancro del colon, ma anche l'affidabile indicatore della cancerizzazione di campo e, conseguentemente, del rischio di sviluppo di lesioni neoplastiche sincrone e/o metacrone nei vari settori anatomici del grosso intestino. A riprova, il rischio relativo di neoplasia sincrona del colon destro in pazienti portatori di neoplasia del colon sinistro è rispettivamente di 2,6 - 4 - 6,7 a seconda che il reperto distale sia un polipo iperplastico, un adenoma tubulare di piccole dimensioni o, appunto, un adenoma avanzato [14].

I precursori non polipoidi: adenoma piatto e adenoma serrato

Sebbene la maggioranza di CCR derivi dalla trasformazione maligna di un precursore polipoidi, vi sono evidenze per il coinvolgimento nel processo tumorigenico anche di precursori non polipoidi. Si tratta di lesioni minimamente o per nulla rilevate rispetto alla mucosa circostante: l'adenoma piatto (Fig. 2.7) ha uno spessore che, istologicamente, non è maggiore di due volte la mucosa circostante [15, 16] o, nel caso dell'adenoma depresso, addirittura inferiore allo spessore minimo della mucosa [17]. La classificazione endoscopica delle neoplasie non polipoidi [18] utilizza, secondo un approccio molto pragmatico, l'altezza delle valve chiuse della pinza biottica standard (2,5 mm) per differenziare gli ade-

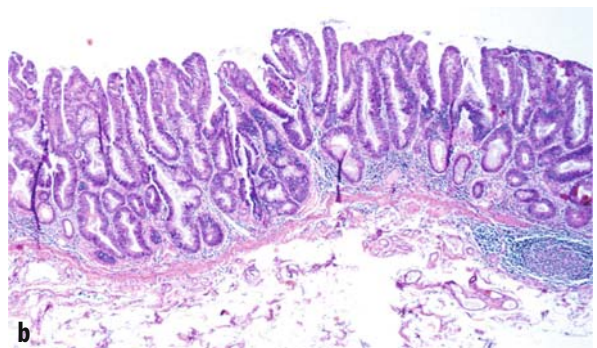
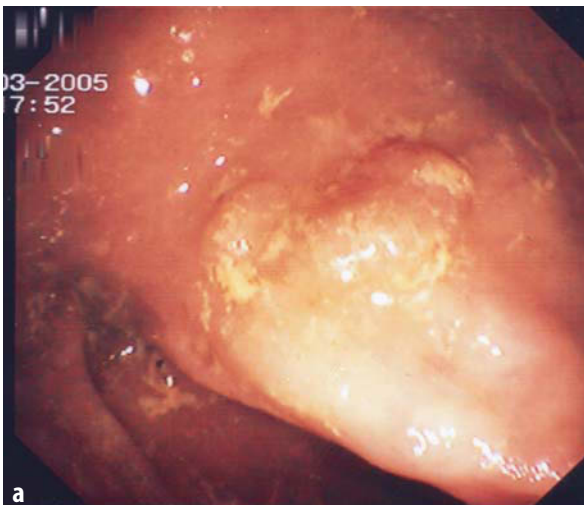


Fig. 2.7. Adenomi non polipoidi: aspetto endoscopico (a) ed istologico (b) dell'adenoma piatto

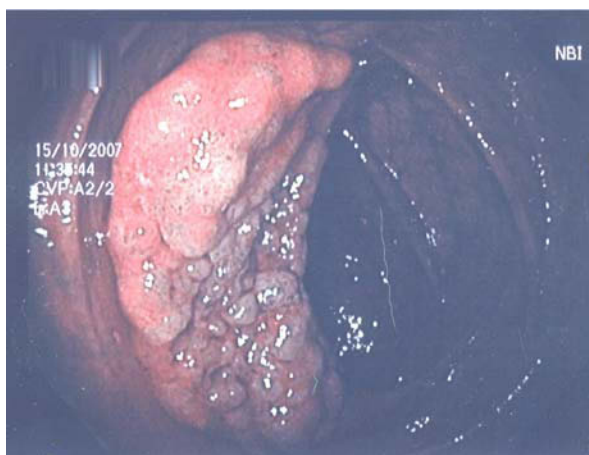


Fig. 2.8. Adenoma piatto con estesa espansione dimensionale (2,7 cm) (*carpet lesion*)

nomi polipoidi sessili (0-Is, con protrusione sulla superficie mucosa > 2,5 mm) dagli adenomi non polipoidi piatti (0-IIa, protrusione < 2,5 mm). L'estensione delle neoplasie non polipoidi sulla superficie mucosa cade nell'intervallo 0,5-1 cm [15], anche se nel 15% dei casi si osservano lesioni con valori dimensionali superiori al centimetro (*carpet lesions, laterally spreading tumors*) (Fig. 2.8) [19]. Il diametro radiale degli adenomi depressi è tendenzialmente maggiore (0,8-4 cm) [20], anche perché tali lesioni sono caratterizzate da una classica depressione centrale della superficie assai netta, tondeggiate o stellariforme, ma da margini periferici assai irregolari e sfumati [21].

Contrariamente all'evidente protrusione endoluminale dei polipi adenomatosi, l'identificazione endoscopica degli adenomi non polipoidi si basa sulla discriminazione visuale di fini variazioni cromatiche e architetturali delle aree sospette, legate a minime alterazioni microvascolari delle lesioni, ed è pertanto fortemente dipendente dall'esperienza dell'endoscopista nella fase di localizzazione preliminare dell'area e dall'impiego della cromoscopia per la successiva, dettagliata definizione della lesione [21].

In dipendenza dalle difficoltà d'identificazione, i dati epidemiologici delle neoplasie coloretali non polipoidi sono ampiamente variabili e, spesso, contraddittori. L'esperienza e la conoscenza acquisite in Giappone delle neoplasie piatte e depresse dello stomaco ha consentito agli autori giapponesi di raccogliere informazioni seminali sulle analoghe lesioni coloretali che, nelle loro casistiche, rappresentano mediamente il 44,5% delle neoplasie superficiali del grosso intestino [22]. Analoghe percentuali (40-42%) sono state successivamente riscontrate sia in Europa

[23] che negli Stati Uniti [24]. Gli adenomi depressi, pur rappresentando non più del 2% delle neoplasie non polipoidi [22], sono associati a displasia di alto grado o cancerizzazione nel 75% dei casi: per contro, la stessa associazione si riscontra nel 14,3% e nell'8,3% degli adenomi rispettivamente piatti e polipoidi [25]. Ancora, la dimensione media degli adenomi non polipoidi con iniziale trasformazione carcinomatosa (1,4 cm) risulta significativamente minore di quella delle equivalenti neoplasie polipoidi (2,3 cm) ed i primi rappresentano i precursori di una rilevante frazione (20% almeno) di carcinomi coloretali iniziali [26].

Nell'insieme, può essere ipotizzato che gli adenomi non polipoidi (in particolar modo quelli depressi) rappresentino lesioni premaligne a più alto potenziale evolutivo dei polipi adenomatosi [27]. La trasformazione maligna, peraltro, non comprenderebbe la necessità del passaggio, anche accelerato, in una fase di crescita poliposa, realizzandosi direttamente la transizione adenoma non polipoide-adenocarcinoma, secondo il percorso tumorigenetico impropriamente denominato negli anni Ottanta adenocarcinoma *de novo* del grosso intestino [28]. A tale sequenza sono associati profili genetico-molecolari differenti da quelli della più nota sequenza polipo-carcinoma [29] e peculiari differenze ultrastrutturali diversificherebbero la guaina pericriptica dei tubuli adenomatosi nelle neoplasie depresse rispetto a quelle polipose [17].

I percorsi alternativi: la tumorigenesi serrata

La neoplasia serrata è stata recentemente postulata come precancerosi intestinale disgiunta dalla displasia o in cui la displasia non è univocamente rappresentata [30]. Esistono, cioè, evidenze per un percorso morfogenetico peculiare, almeno per alcuni tratti distinto dalla tradizionale sequenza adenoma-carcinoma, che, partendo dalla configurazione serrata dell'epitelio colico, conduce alla neoplasia intraepiteliale di alto grado attraverso fasi intermedie, costituite da polipi in cui la displasia si manifesta in maniera subdolamente progressiva, prima focale, poi settoriale e diffusa, e le modificazioni displastiche a carico dei nuclei sono successive a quelle dell'architettura tissutale.

Il termine "configurazione serrata" [31] indica, seppure con impropria traslazione linguistica, il profilo dentellato, seghettato, affastellato della cripta di Lieberkahun della mucosa colica quando l'improprio accumulo di cellule epiteliali, conseguente alla per-

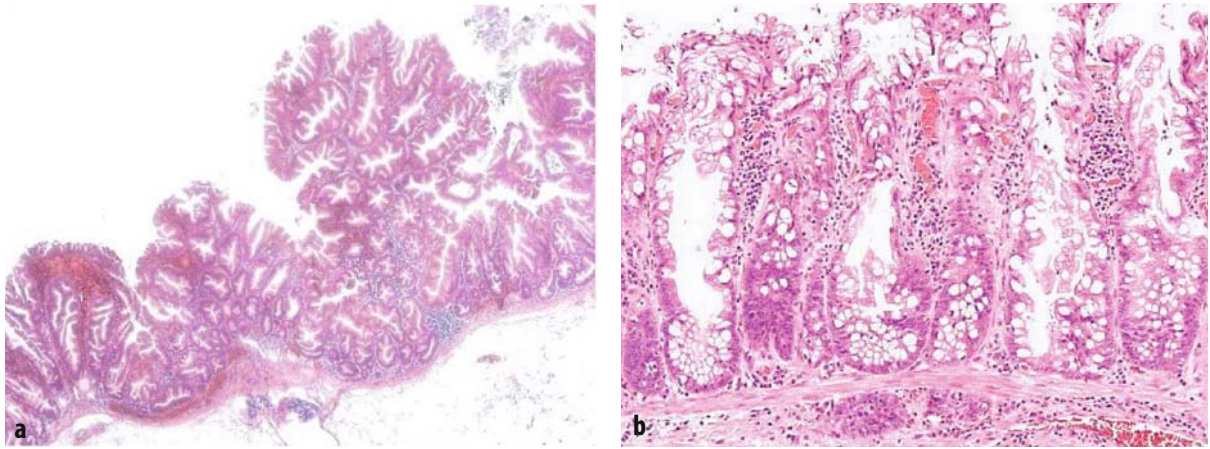


Fig. 2.9. Adenoma serrato sessile. Minime alterazioni architetturali: le cripte del polipo conservano il profilo serrato (a), “a denti di sega” (b) ma sono dismetriche, dilatate, arborizzate

dita del trofismo omeostatico, si organizza in forma di salienze endoluminali discrete. L'evento morfogenetico basilare è una alterazione del flusso di scorrimento delle cellule epiteliali dalla base della cripta alla superficie mucosa, che fisiologicamente garantisce il trofismo e il rinnovamento della mucosa intestinale. Un profilo serrato stabile trae origine dal rallentamento del flusso [32] successivo allo spegnimento di alcuni di quei segnali cellula-matrice che consuetamente attivano l'apoptosi nel settore medio-inferiore e allo sbocco della cripta [33]. Il fenomeno si verifica tipicamente nei polipi iperplastici ed è disgiunto da significative modificazioni della proliferazione cellulare [34, 35]. I polipi iperplastici sono escrescenze mucose di piccole dimensioni (0,2-0,5 cm), localizzate con assoluta prevalenza nel sigma-retto, costituite da cripte rettilinee, parallele, modicamente allungate, con profilo “a denti di sega” conferito loro dall'architettura serrata nel terzo intermedio e superficiale, e tappezzate ovunque da epitelio privo di alterazioni displastiche. Sono tradizionalmente ritenuti lesioni non neoplastiche e non evolutive, anche se la progressione maligna è stata riportata in via aneddotica. Sono tuttavia molto più frequenti nei segmenti intestinali con carcinoma avanzato, condividono alcune caratteristiche fenotipiche con i polipi adenomatosi e sono in relazione con gli stili di vita associati ai polipi neoplastici [36]: è lecito pertanto ipotizzare che essi rappresentino lesioni paraneoplastiche, espressione dell'interazione della mucosa coloretale con un fattore ambientale, induttore dell'iniziazione, ma non della promozione tumorale [37].

Gli adenomi serrati sessili (adenoma serrato tipo superficiale, adenoma serrato tipo 2; polipo serrato

con anomalie proliferative) [38-40], prevalenti in sede prossimale al sigma-retto, per lo più di dimensioni maggiori di 1 cm, sono caratterizzati da cripte che, focalmente o in distretti più o meno estesi del polipo, mostrano minime distorsioni dell'organizzazione (perdita del parallelismo) ed alterazioni displastiche esclusivamente architetturali (microgammazioni, ramificazioni e dismetrie del diametro; arborizzazione e coalescenza delle salienze epiteliali endoluminali; estensione del profilo serrato alla base della cripta; crescita orizzontale a ridosso della *muscularis mucosae*) (Fig. 2.9). Le modificazioni displastiche a carico dei nuclei sono raramente presenti, minimali e comunque limitate a tratti assai brevi dell'epitelio serrato. Per contro, negli adenomi serrati tradizionali (adenoma serrato polipoido, adenoma serrato tipo 1) [38-40] alla displasia architetturale si sommano, diffusamente, le alterazioni displastiche a carico dei nuclei e delle singole cellule (ipercromasia e stratificazione nucleare, perdita di polarità, anisocariosi, deplezione endocrina). L'adenoma serrato acquisisce, contestualmente, una spiccata velocità di crescita ed assume, macroscopicamente, dimensioni e profili polipoidi del tutto sovrapponibili a quelli dei tradizionali polipi adenomatosi (Fig. 2.10).

Parrebbe di conseguenza naturale ipotizzare la progressione dalla displasia serrata architetturale, spesso minima e focale, a quella diffusa e complessa, architetturale e cariologica e, parallelamente, l'evoluzione dalla crescita sessile a quella polipoido: risulta però di più comune osservazione la coesistenza, in singoli polipi, di displasia serrata e di displasia adenomatosa tradizionale, tubulare e tubulo-villosa (c.d. “polipi serrati misti”) [41]. È anche frequente l'osser-

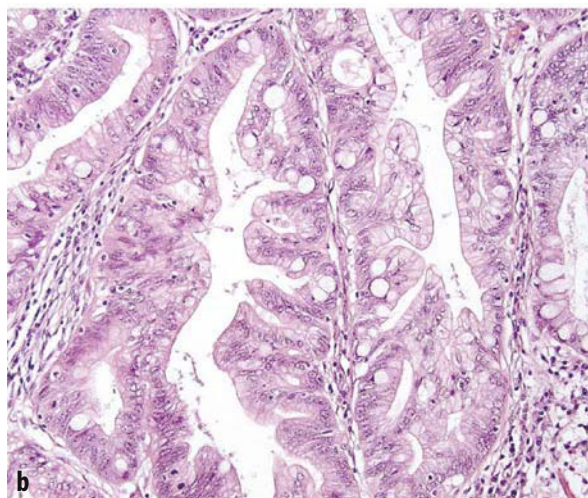


Fig. 2.10. Adenoma serrato polipoido. La lesione, a tipico profilo polipoido, è costituita da tessuto displastico che mantiene l'architettura serrata (a) e mostra significative alterazioni nucleari (b)

vazione di tessuto tipicamente tubulare interposto tra aree serrate e carcinoma negli adenomi serrati cancerizzati [38] a supportare la propensione degli adenomi serrati alla riconversione in displasia adenomatosa “tradizionale”: pare pertanto ipotizzabile un modello unificante di carcinogenesi intestinale, che presuppone la fusione delle due principali vie morfogenetiche (adenomi tubulari vs adenomi serrati) della carcinogenesi intestinale, anche se gli eventi genetici di collegamento non sono ancora ben definiti [42]. Aspetti francamente serrati e caratteri morfologici intermedi tra la displasia serrata e quella tubulare sono anche altamente incidenti nei polipi delle poliposi familiari adenomatose attenuate, sia in famiglie giapponesi con mutazione germinale del gene APC [43] sia in famiglie italiane con mutazione germinale del gene MYH [44], a riprova di fusioni morfogenetiche anche nell'ambito delle poliposi familiari.

In sintesi, le evidenze attualmente disponibili indicano che esiste una progressione multifasica che conduce dagli adenomi serrati all'adenocarcinoma coloretale attraverso la conversione della displasia architetturale a quella citocariologica e/o alla transizione alla displasia adenomatosa tradizionale, secondo una sequenza morfogenetica che potrebbe, almeno ipoteticamente, essere scandita dalle tappe: 1) adenoma serrato sessile; 2) adenoma serrato tradizionale/polipo serrato misto; 3) adenocarcinoma invasivo. La rapidità della progressione non è

compiutamente definita: indicativamente, comunque, l'intervallo intercorrente tra il riscontro di adenoma serrato sessile e adenocarcinoma è maggiore di 3 e di 5 anni rispettivamente nel 90% e nel 55% dei casi [45]. L'associazione tra displasia serrata e adenocarcinoma (5,8% nella totalità) [46] si verifica in circa il 55% dei carcinomi con profilo genetico molecolare d'instabilità satellitare (MIN+) [47] e nel 70% [48] delle poliposi iperplastiche/serrate.

La tumorigenesi serrata si sviluppa secondo percorsi multipli, complessi, variamente correlati ed intersecati. La plasticità dei percorsi è governata da fattori epigenetici, polimorfismi intragenici germinali e interazioni ambientali [49]: la corretta identificazione della displasia serrata nella mucosa colica è indispensabile per la gestione dei programmi di screening, dei gruppi a rischio, di nuove e solo parzialmente conosciute sindromi neoplastiche intestinali ereditarie.

Le fasi iniziali della malignità: l'adenoma cancerizzato

L'adenoma contenente un carcinoma che invade la sottomucosa ma non la muscolare propria (stadio pT1) rappresenta la forma più precoce di carcinoma coloretale clinicamente rilevante nella maggior parte dei pazienti. L'invasione della sottomucosa, in-

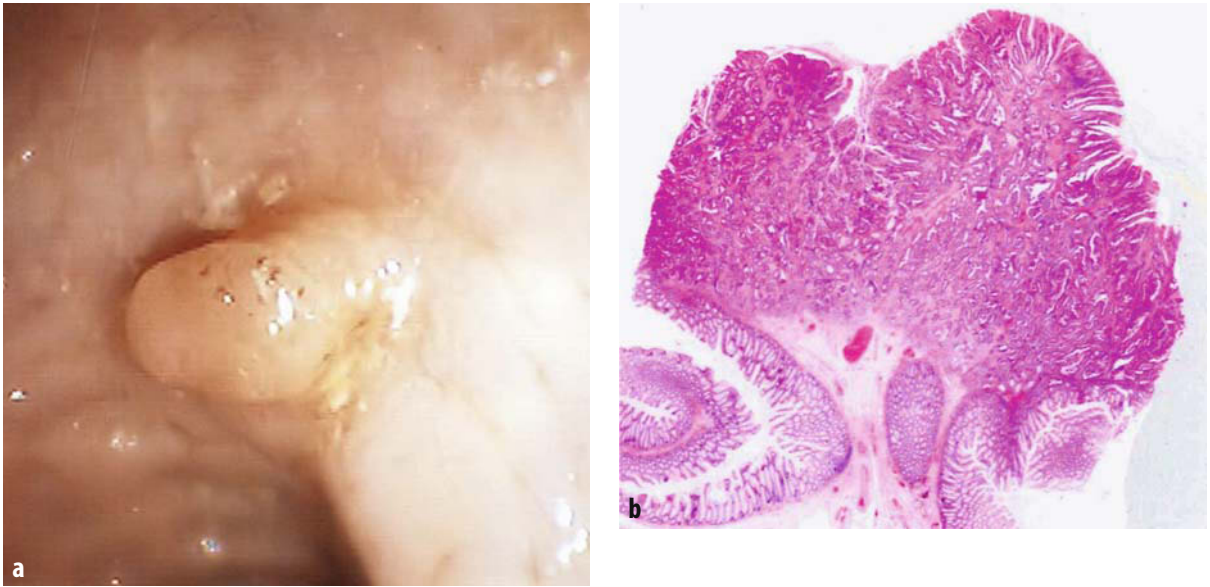


Fig. 2.11. Aspetto endoscopico (a) ed istologico (b) di un polipo adenomatoso cancerizzato. Il tessuto neoplastico, superata la *muscularis mucosae*, invade la tonaca sottomucosa ed acquisisce potenziale metastatico

fatti, apre la via alla diffusione metastatica della malattia mediante l'accesso alla rete linfatica da parte della neoplasia e la scelta tra la sorveglianza endoscopica e il trattamento chirurgico, quando un polipo rimosso per via endoscopica risulta essere un adenoma cancerizzato (Fig. 2.11), è basata pressoché esclusivamente sul suo potenziale metastatico [50, 51]. L'osservazione microanatomica della paucità o della completa assenza della rete linfatica intramucosa nel colon [52] è coerente con tale modello di carcinogenesi, anche se recenti evidenze genetico-molecolari appaiono più profondamente esplicative: un diverso coinvolgimento del sistema delle caderine nei segnali di contatto ed adesione intercellulari rende ragione dell'assenza di potenziale metastatico delle neoplasie coliche a esclusiva infiltrazione mucosa, contrariamente all'effettiva, seppure percentualmente minima, diffusione metastatica dei carcinomi gastrici intramucosi, frequentemente associati a mutazione del gene E-caderina [53].

La prevalenza degli adenomi cancerizzati è andata progressivamente a crescere durante gli ultimi due decenni, a seguito dell'ampia diffusione della colonscopia e delle tecniche di polipectomia endoscopica, sino a stabilizzarsi all'11% dei polipi rimossi per via endoscopica con massima incidenza (42/100.000) nel sesto decennio [54]. Gli adenomi cancerizzati sono più frequenti al colon sinistro, ove presentano una dimensione media di 2 cm: il legame esponenziale tra volume dell'adenoma e rischio di trasformazione maligna è comunque netto,

ove si consideri che meno del 5% dei polipi adenomatosi nell'intervallo dimensionale 6-10 mm risulta cancerizzato contro l'80% di quelli di diametro pari o superiore a 35 mm [54].

Il potenziale metastatico di un adenoma cancerizzato è relativamente alto, 8-16%, e grossolanamente equivalente a quello, 10-17%, descritto nel CCR in stadio pT1 [50]. Allo stato attuale delle conoscenze, solo alcuni parametri istopatologici (grado di differenziazione del carcinoma invasivo, livello d'invasione, invasione vascolare neoplastica) sono discriminanti tra un "basso rischio" (7%) ed un "alto rischio" (35%) di metastasi linfonodali [50]. In particolare, mentre l'interessamento del margine di exeresi del polipo è altamente predittivo della ripresa locale di malattia neoplastica (in forma di recidiva o di ricorrenza), l'invasione linfatica è fortemente associata alle localizzazioni linfonodali secondarie e la scarsa differenziazione del carcinoma alla mortalità complessiva dell'adenoma cancerizzato [55]. Il *budding* tumorale, la presenza cioè di nidi o singole cellule tumorali anaplastiche al margine di avanzamento carcinomatoso nella sottomucosa, è risultato essere altamente predittivo del potenziale metastatico linfonodale, pressoché nullo se a un basso grado di *budding* si associa una profondità d'infiltrazione della sottomucosa non superiore ai 2.000 μ [56]. Gli eventi molecolari che sottostanno alla morfogenesi del *budding* sono riconducibili ad alterazioni delle interazioni cellula-matrice, in particolar modo al

ruolo esplicito da TIMP-7 e laminina 5 [57, 58]: qui dovranno verosimilmente essere ricercati nuovi biomarcatori molecolari predittivi della storia naturale dell'adenoma cancerizzato.

Si ritiene comunemente che quando si verifica la trasformazione maligna di un adenoma, la crescita del carcinoma nel contesto della parete intestinale (transizione pT1-pT4) sia un processo continuo, progressivo e irreversibile che va di pari passo con il potenziale metastatico e la mortalità della malattia neoplastica. Recenti acquisizioni, invece, orientano verso un modello stocastico della carcinogenesi coloretale, secondo il quale il carcinoma iniziale, pT1, associato a delezione 17p13.3 rappresenta una fase di rapida transizione verso stadi di progressiva invasione della parete intestinale, laddove i carcinomi pT1 associati a monosomia del cromosoma 17, seppure morfologicamente indistinguibili dai primi, siano neoplasie biologicamente distinte, probabilisticamente orientate alla stabilizzazione e, forse, alla regressione [59].

Genetica molecolare della progressione neoplastica

Il modello biologico che descrive esaurientemente la storia naturale della tumorigenesi del colon è l'evoluzione clonale. Secondo questo modello l'instabilità genetica, così come evidenziato da mutazioni e/o amplificazioni di singoli geni, difetti numerici e riarrangiamenti cromosomici, è la base per la continua produzione di varianti genetiche di cellule neoplastiche, con selezione ed espansione clonale delle varianti con vantaggi di crescita o fenotipici [60]. L'instabilità genetica implica la perdita o l'inattivazione funzionale di meccanismi critici per il mantenimento della fedeltà genetica durante la replicazione cellulare e può operare a due livelli strutturali:

- 1) coinvolgere interi cromosomi o parti significative di essi (c.d. instabilità cromosomica, Chromosomal Instability, CIN), determinando divisioni cellulari, con spiccate asimmetrie nella distribuzione del materiale genetico, tra le cellule figlie e grossolane ineguaglianze del contenuto di DNA nelle cellule della popolazione tumorale;
- 2) coinvolgere selettivamente geni cruciali per il mantenimento e/o il controllo della stabilità del DNA, destabilizzando sequenze bersaglio codificanti (IGF2R, BAX ecc.) e brevi sequenze bi-, tri-, tetranucleotidiche irregolarmente distribuite in tutto il genoma (c.d. microsatelliti, da cui la denominazione di "instabilità microsatellitare", Microsatellite Instability, MIN) [61].

L'instabilità cromosomica è riconosciuta essere il meccanismo genetico più frequente, anche in fasi premaligne precoci [62]. Multiple anomalie cromosomiche, numeriche e strutturali, in cui sono coinvolti i geni KRAS, APC e TP53 ne caratterizzano il fenotipo. Esistono sicuramente legami tra specifiche mutazioni di KRAS, ploidia e morfogenesi [63, 64]. Le mutazioni somatiche del gene APC conferiscono un vantaggio di crescita ai piccoli adenomi attraverso l'espansione della componente villosa. Le mutazioni germinali nel dominio di β -catena dello stesso gene nella poliposi adenomatosa familiare, invece, conferiscono un vantaggio selettivo ai cloni neoplastici alterando la sorveglianza apoptotica, che a sua volta incrementa il potenziale di trasformazione maligna [65]. TP53 è associato alla conversione maligna dei polipi adenomatosi avanzati, ma se coinvolto più precocemente, in assenza di KRAS, orienta la crescita del tessuto adenomatoso verso l'organizzazione architetturale non poliposa, piatta o depressa [29].

L'instabilità genetica di tipo microsatellitare innesca e sostiene la carcinogenesi di una frazione di CCR sporadici e di quelli ereditari non poliposici (sindrome di Lynch, HNPCC) orientandone la morfogenesi. In effetti, mentre non sono disponibili evidenze conclusive sulla patologia dei precursori, gli adenocarcinomi coloretali MIN+ non familiari hanno alta probabilità di mostrare alcune caratteristiche istologiche (differenziazione mucinosa, reazione infiammatoria nello stroma tumorale, assenza di necrosi tumorale) [66] e sono associati a peculiarità cliniche (prevalenza nel colon destro, età precoce d'insorgenza, basso potenziale metastatico) [67].

L'inattivazione di numerosi geni (tra i quali quelli deputati alla riparazione del DNA, hMLH1 e hMSH2) tramite la metilazione del promotore (fenotipo CIMP, CpG Island Methylator Phenotype) è il meccanismo induttore della tumorigenesi intestinale serrata [68].

I vari motori genetico-molecolari possono intersecarsi e sovrapporsi nella loro azione e forse anche susseguirsi nel divenire del processo neoplastico sicché, allo stato attuale delle conoscenze, la carcinogenesi coloretale può essere concepita come malattia neoplastica eterogenea, polimorfa e complessa [69]: vie divergenti orientano la transizione dalla mucosa normale alla displasia e alla sequenza displasia-carcinoma. Ad ognuna di esse si associano profili genetici, morfologici, clinici diversificati ed identificabili, la cui conoscenza consente di adottare strategie efficaci per la diagnosi, la prevenzione e la terapia.

Bibliografia

- Lippman SM, Lee JS, Lotan R et al (1990) Biomarkers as intermediate end points in chemoprevention trials. *J Natl Cancer Inst* 82:555-560
- Risio M, Lipkin M, Candelaresi GL et al (1991) Correlations between rectal mucosa cell proliferation and the clinical and pathological features of non-familial neoplasia of the large intestine. *Cancer Res* 51:1917-1921
- Risio M, Lipkin M, Newmark H et al (1996) Apoptosis, cell replication, and western-style diet-induced tumorigenesis in colon. *Cancer Res* 56:4910-4916
- Akedo I, Ishikawa H, Ioka T et al (2001) Evaluation of epithelial cell proliferation rate in normal-appearing colonic mucosa as a high-risk marker for colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 10:925-930
- Chen LC, Hao C-Y, Chiu YSY, Wong P et al (2004) Alteration of gene expression in normal-appearing colon mucosa of APCmin mice and human cancer. *Cancer Res* 64:3694-3700
- Hamilton SR, Vogelstein B, Kudo S [2000?] Carcinoma of the colon and rectum. In: Hamilton SR, Aaltonen LA (eds) *Pathology and Genetics. Tumours of the digestive system*. IARC Press, Lyon, pp 105-119
- Nucci MR, Robinson CR, Longo P et al (1997) Phenotypic and genotypic characteristics of aberrant crypt foci in human colorectal mucosa. *Hum Pathol* 28: 1396-1407
- Shih I-M, Wang TL, Traverso G et al (2001) Top-down morphogenesis of colorectal tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:2640-2645
- Kukitsu T, Takayama T, Miyanishi K et al (2008) Aberrant crypt foci as precursors of the dysplasia-carcinoma sequence in patients with ulcerative colitis. *Clin Cancer Res* 14:48-54
- Muto T, Bussey HJR, Morson BC (1975) The evolution of cancer of the rectum. *Cancer* 36:2251-2270
- Day DW, Jass JR, Price AB, Shepherd NA, Sloan JM, Talbot IC, Warren BF, Williams GT (eds) (2003) *Morson & Dawson's, Gastrointestinal pathology*. Blackwell Publishing, Malden
- Eide TJ (1986) Risk of colorectal cancer in adenoma-bearing individuals within a defined population. *Int J Cancer* 15:173-176
- Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN et al and The National Polyp Study Workgroup (1993) Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. *N Engl J Med* 329:1977-1981
- Imperiale TF, Wagner DR, Lin CY et al (2000) Prevalence of advanced proximal neoplasms according to the distal findings. *N Engl J Med* 343:169-174
- Wolber RA, Owen DA (1991) Flat adenomas of the colon. *Hum Pathol* 22:70-74
- Tsuda S, Veress B, Toth E, Fork FT (2002) Flat and depressed colorectal tumours in a southern swedish population: a prospective chromoendoscopic and histopathological study. *Gut* 51:550-555
- Yao T, Tada S, Tsuneyoshi M (1994) Colorectal counterpart of gastric depressed adenoma. A comparison with flat and polypoid adenomas with special reference to the development of pericryptal fibroblasts. *Am J Surg Pathol* 18:559-568
- The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: esophagus, stomach, and colon (2003) *Gastrointestinal Endosc* 58 [Suppl 6]:S3-43
- Hurlstone DP, Korulla C, Labo AJ (2002) Colorectal laterally spreading tumors: clinical evaluation and endoscopic strategies updated. *J Gastroenterol Hepatol* 17:1344-1345
- Okuno T, Sano Y, Ohkura Y, Kudo S (2004) Incidence and clinicopathological characteristics of depressed type lesions: baseline findings of multicentric retrospective cohort study. *Early Colorectal Cancer* 8:21-27
- Soetikno R, Friedland S, Kaltenbach T et al (2006) Non-polypoid (flat and depressed) colorectal neoplasms. *Gastroenterology* 130:566-576
- Kudo S, Kashida H, Tamura T et al (2000) Colonoscopic diagnosis and management of nonpolypoid early colorectal cancer. *World J Surg* 24:1061-1090
- Fujii T, Rembacken BJ, Dixon MF et al (1998) Flat adenomas in the United Kingdom: are treatable cancers being missed? *Endoscopy* 30:437-443
- Saitoh Y, Waxman I, West AB et al (2001) Prevalence and distinctive biologic features of flat colorectal adenomas in North America population. *Gastroenterology* 120:1657-1665
- Rembacken BJ, Fujii T, Cairns A et al (2000) Flat and depressed colonic neoplasms: a prospective study of 1.000 colonoscopies in the UK. *Lancet* 355:1211-1214
- Kim KC, Friedland S, Rouse RV, Kosek J et al (2004) Clinical importance of flat and depressed lesions in american veterans with in situ and submucosally invasive colorectal adenocarcinoma. *Gastrointest Endosc* 59:AB110
- Matsui T, Tsuda S, Iwashita A et al (2005) Retrospective endoscopic study of developmental and configurational changes of early colorectal cancer: eight cases and a review of the literature. *Gastroenterol Endosc* 47:227-237
- Crawford BE, Stromeyer FW (1983) Small non-polypoid carcinomas of the large intestine. *Cancer* 51:1760-1763
- Yukawa M, Fujimori T, Maeda S et al (1994) Comparative clinicopathological and immunohistochemical study of ras and p53 in flat and polypoid type colorectal tumors. *Gut* 35:1258-1261
- Higuchi T, Sugihara K, Jass JR (2005) Demographic and pathological characteristics of serrated polyps of colorectum. *Histopathology* 47:32-40
- Jass JR, Sobin LH (eds) (1989) *Histological typing of intestinal tumours. WHO international classification of tumours*. Springer, Berlin
- Hayashi T, Yatani R, Apostol J, Stemmermann GN

- (1974) Pathogenesis of hyperplastic polyps. A hypothesis based on ultrastructural and in vitro kinetics. *Gastroenterology* 66:347-401
33. Jass JR, Whitehall VL, Young J, Leggett BA (2002) Emerging concepts in colorectal neoplasia. *Gastroenterology* 123:862-876
 34. Risio M, Coverlizza S, Ferrari A et al (1988) Immunohistochemical study of epithelial cell proliferation in hyperplastic polyps, adenomas and adenocarcinomas of the large bowel. *Gastroenterology* 94:899-906
 35. Estrada RG, Spjiut HJ (1980) Hyperplastic polyps of the large bowel. *Am J Surg Pathol* 4:127-133
 36. Martinez ME, McPherson LS, Levin B, Globler GA (1997) A case-control study of dietary intake and other lifestyle risk factors for hyperplastic polyps. *Gastroenterology* 113:423-427
 37. Risio M, Arrigoni A, Pennazio M et al (1995) Mucosal cell proliferation in patients with hyperplastic colorectal polyps. *Scand J Gastroenterol* 30:344-348
 38. Snover DC, Jass JR, Fenoglio-Preiser C, Batts KP (2005) Serrated polyps of the large intestine. A morphological and molecular review of an evolving concept. *Am J Clin Pathol* 124:380-391
 39. Oka S, Tanaka S, Hiyama T et al (2004) Clinicopathologic and endoscopic features of colorectal serrated adenoma: differences between polypoid and superficial types. *Gastrointest Endosc* 59:213-219
 40. Torlakovic E, Skovlund E, Snover DC et al (2003) Morphological reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol* 27:65-81
 41. Longacre TA, Fenoglio-Preiser CM (1990) Mixed hyperplastic adenomatous polyps/serrated adenomas. A distinct form of colorectal neoplasia. *Am J Surg Pathol* 14:524-529
 42. Jass JR, Baker K, Zlobec I et al (2006) Advanced colorectal polyps with the molecular and morphological features of serrated polyps and adenomas: concept of a "fusion" pathway to colorectal cancer. *Histopathology* 49:121-131
 43. Matsumoto T, Iida M, Kobori Y et al (2002) Serrated adenomas in familial adenomatous polyposis: relation to germline APC gene mutation. *Gut* 50:402-404
 44. Di Gregorio C, Frattini M, Maffei S et al (2006) Immunohistochemical expression of MYH protein can be used to identify patients with MYH-associated polyposis. *Gastroenterology* 131:439-444
 45. Goldstein NS, Bhanot P, Odish E, Hunter S (2003) Hyperplastic-like colon polyps that preceded microsatellite-unstable adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol* 119:778-796
 46. Makinen MJ (2007) Colorectal serrated adenocarcinoma. *Histopathology* 50:131-150
 47. Hawkins NJ, Ward RL (2001) Sporadic colorectal cancer with microsatellite instability and their possible origin in hyperplastic polyps and serrated adenomas. *J Natl Cancer Inst* 93:1307-1313
 48. Rubio CA, Stemme S, Jaramillo E, Lindblom A (2006) Hyperplastic polyposis coli syndrome and colorectal carcinoma. *Endoscopy* 38:266-270
 49. Young J, Jass JR (2006) The case for a genetic predisposition to serrated neoplasia in the colorectum: hypothesis and review of the literature. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15:1778-1784
 50. Coverlizza S, Risio M, Ferrari A et al (1989) Colorectal adenomas containing invasive carcinoma. Pathologic assessment of lymph node metastatic potential. *Cancer* 64:1937-1947
 51. Kikuchi R, Takano M, Takagi K et al (1995) Management of early invasive colorectal cancer. Risk of recurrence and clinical guidelines. *Dis Colon Rectum* 38:1286-1295
 52. Fenoglio CM, Kaye GI, Lane N (1972) The distribution of colonic lymphatics in normal, hyperplastic and adenomatous tissue. Its probable relationship to metastasis from small carcinomas in pedunculated adenomas with two case reports. *Gastroenterology* 64:51-66
 53. Perry I, Hardy R, Tselepis C, Jankowski J.A. (1999) Cadherin adhesion in the intestinal crypt regulate morphogenesis, mitogenesis, motogenesis, and metaplasia formation. *Mol Pathol* 52:166-168
 54. Nusko G, Mansmann U, Artzsch U et al (1997) Invasive carcinoma in colorectal adenomas: multivariate analysis of patient and adenoma characteristics. *Endoscopy* 29:262-231
 55. Hassan C, Risio M, Rossini FP, Morini S (2005) Histologic risk factors and clinical outcome in colorectal malignant polyp: a pooled-data analysis. *Dis Colon Rectum* 48:1588-1596
 56. Ueno H, Mochizuki H, Shimazaki H et al (2004) Risk factors for an adverse outcome in early invasive colorectal carcinoma. *Gastroenterology* 127:385-394
 57. Holten-Andersen MN, Hansen U, Brunner N et al (2005) Localization of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 (TIMP-1) in human colorectal adenoma and adenocarcinoma. *Int J Cancer* 113:198-206
 58. Sordat I, Rousselle P, Chaubert P et al (2000) Tumor cell budding and laminin-5 expression in colorectal carcinoma can be modulated by microenvironment. *Int J Cancer* 88:708-717
 59. Risio M, Casorzo L, Chiecchio L et al (2003) 17p deletions are associated with the transition from early to advanced colorectal cancer. *Cancer Gen Cytogen* 147:44-49
 60. Nowell PC (1976) The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 194:23-28
 61. Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S et al (1993) Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature* 263:558-561
 62. Shih I-M, Zhou W, Goodman SN et al (2001) Evidence that genetic instability occurs at an early stage of colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 61:818-822
 63. Giaretti W, Rapallo A, Nigro S et al (1995) K-ras2 G-C and G-T transversions correlate with DNA aneuploidy in colorectal adenomas. *Gastroenterology* 108:1040-1047
 64. Risio M, Malacarne D, Giaretti W (2005) KRAS trans-

- itions and villous growth in colorectal adenomas. *Cell Oncol* 27:363-366
65. Venesio T, Balsamo A, Scordamaglia A et al (2003) Germline APC mutation on the beta-catenin binding site is associated with a decreased apoptotic level in colorectal adenomas. *Mod Pathol* 16:57-65
66. Risio M, Reato G, Francia di Celle P et al (1996) Microsatellite instability is associated with the histological features of the tumor in non-familial colorectal cancer. *Cancer Res* 56:5470-5474
67. Ward R, Meagher A, Tomlinson I et al (2001) Microsatellite instability and the clinicopathological features of sporadic colorectal cancer. *Gut* 48:821-829
68. Park SJ, Rashid A, Lee JH et al (2003) Frequent CpG island methylation in serrated adenomas of the colorectum. *Am J Pathol* 162:815-822
69. Jass JR (2007) Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology* 50:113-130