



# **Documento di consenso dei patologi dello screening per il tumore del colon retto della Regione Veneto**

**Venezia, 11 aprile 2016**



## INTRODUZIONE

Il contenuto delle informazioni che la diagnosi istologica delle lesioni polipoidi del tratto coloretale fornisce è essenziale nella pianificazione del successivo programma di sorveglianza e nella scelta dell'opzione terapeutica più opportuna.

Nell'ambito delle iniziative tese al miglioramento dei Programmi di Screening oncologici che l'assessorato regionale della sanità ha promosso, al fine di favorire il processo di standardizzazione e riproducibilità diagnostica delle lesioni colo-rettali il Gruppo dei Patologi dello Screening Coloretale della Regione Veneto propone un Documento di Consenso elaborato sulla scorta delle linee guida nazionali e internazionali.

Il lavoro compiuto con umiltà ma con la consapevolezza della sua importanza è stato quello di concordare tra le varie proposte esistenti in letteratura (non sempre coincidenti e soprattutto in continua evoluzione) quelle che a nostro giudizio possano fungere da riferimento attuale per i patologi della Regione Veneto.

Accanto a questo obiettivo ci si è proposti di elaborare un documento che dia alcune informazioni di carattere più generale e che possa essere utile durante il lavoro diagnostico quotidiano.

Il documento prende in esame le principali aree della diagnostica delle lesioni polipoidi del coloretto ed è stato suddiviso nelle seguenti parti:

- 1) Trattamento macroscopico delle lesioni polipoidi asportate endoscopicamente. (referenti Cristina Antonini e Roberta Boschetto)
- 2) Le lesioni adenomatose convenzionali (referente Marcello Lomele)
- 3) Le lesioni serrate (referente Antonio Scapinello)
- 4) L'adenoma cancerizzato (referente Sara Pecori)
- 5) Il campione operatorio (referenti Romano Colombari e Maria Lunardi)
- 6) Le indagini immunoistochimiche e molecolari finalizzate sia alla caratterizzazione prognostica e predittiva che alla ricerca delle forme ereditarie (referente Duilio Della Libera)

Per quanto attiene ai criteri di qualità più generali che dovrebbero essere soddisfatti si fa riferimento a quelli proposti nelle linee guida europee (Quality assurance in pathology in colorectal cancer screening and diagnosis - European recommendations. Virchows arch 2010 DOI 10.1007/s00428-010-0977-6). Le modalità per la loro applicazione e verifica dovranno essere affrontate in ambito tecnico-politico.

Il Gruppo dei Patologi dello Screening Coloretale  
Cristina Antonini, Laura Borghi, Roberta Boschetto, Romano Colombari, Paola Cusatelli, Emanuele D'amore, Duilio Della Libera, Marcello Lo Mele, Maria Lunardi, Sara Pecori, Claudia Roldo, Anna Tomezzoli.

Il Coordinatore del Gruppo Regionale  
dei Patologi dello Screening colo-rettale

Antonio Scapinello

**PARTE PRIMA**

(Referenti: Cristina Antonini e Roberta Boschetto)

**MODALITA' DI INVIO E TRATTAMENTO MACROSCOPICO DELLE LESIONI POLIPOIDI ASPORTATE ENDOSCOPICAMENTE.****a. RICHIESTA ISTOPATOLOGICA**

La richiesta di esame istopatologico inviata dal servizio di endoscopia deve contenere le seguenti informazioni.

- **Dati clinico-anamnestici paziente** nome, cognome, sesso, data di nascita, CF;
- **Sede della lesione** distanza dalla linea muco cutanea.
- **Dimensione valutata in corso di endoscopia.**  
E' opportuno che l'endoscopista selezioni le lesioni polipoidi >0,5 cm e ne identifichi la base d'impianto con eventuale marcatura della stessa con inchiostro di china o con reperi idoneo.
- **Modalita' di asportazione.**  
Qualora l'asportazione sia avvenuta in frammenti, l'endoscopista deve specificare se tutti i frammenti siano stati recuperati per l'esame istologico.
- **Morfologia** sessile/polipoide/piatta.
- **Patologie associate** (es. IBD).

**b. INVIO DEI CAMPIONI**

- Il materiale deve essere inviato in liquido fissativo rappresentato da Formalina tamponata al 10%. (sono sconsigliati altri tipi di fissativo).
- E' necessario che venga inviato 1 contenitore per ogni campione di polipectomia con misura endoscopica > di mm 5 ed è inderogabile comunque l'invio in contenitori separati in caso di sedi multiple anche per dimensioni < a mm 5.
- Può essere accettato che lesioni polipoidi diminutive (< di mm 5) molto ravvicinate (comprese in un tratto di grosso intestino non superiore a 1-2 cm) possano essere poste in un unico contenitore.
- E' raccomandato che l'endoscopista apponga le lesioni polipoidi diminutive su carta bibula e per le lesioni polipoidi sessili di diametro superiore a 10 millimetri provveda a fissarle su supporto rigido in modo da favorire il riconoscimento della base d'impianto.

**c. RIFERIMENTI NECESSARI NEL REPORT ISTOPATOLOGICO:**

E' fortemente raccomandato che dall'endoscopia giunga il report dell'esame endoscopico e che questo sia visionato dal medico sia in fase di riduzione macroscopica che di refertazione.

Per il corretto abbinamento del referto istopatologico con i campioni inviati, in caso di lesioni multiple, si raccomanda di mantenere la distinzione fra queste, identificandole con lettere o numeri progressivi, mantenendo la sequenza indicata dall'endoscopista individualmente sia in fase di descrizione del materiale inviato sia in fase di descrizione macroscopica che della diagnosi istologica.

- **Descrizione del tipo di prelievo (materiale inviato):** biopsia/polipectomia/mucosectomia.
- **Sede del prelievo,** come da specifiche del referto endoscopico riportando (opzionale) le dimensioni della lesione indicata dall'endoscopista. La dimensione indicata dall'endoscopista va riportata in caso di lesione polipoide asportata in più frammenti.



#### d. DESCRIZIONE MACROSCOPICA

Vanno riferiti la conformazione della/e lesioni polipoidi, le modalità di invio del campione, le dimensioni.

- **conformazione** (sessile/peduncolato)
- **descrizione del materiale** se pervenuto orientato su supporto c/o con margine di resezione marcato dall'endoscopista; se giunto in frammenti, riportare il numero dei frammenti. Nel caso di biopsie descrivere il numero dei frammenti.
- **dimensioni** espresse in millimetri o centimetri. **La dimensione dei polipi adenomatosi è fattore critico nel definire il timing della sorveglianza endoscopica.**
  - Nei polipi peduncolati giunti integri di almeno 5 mm deve essere misurata separatamente la testa (almeno il diametro maggiore) dal peduncolo (lunghezza).
  - Nei polipi sessili giunti integri > 5 mm va riferito almeno l'asse maggiore.
  - Nei polipi di diametro inferiore ai 5 mm va riportata solo la dimensione.
  - Nel caso di lesione giunta frammentata viene descritto il numero complessivo dei frammenti e viene misurato il diametro del frammento maggiore. In questi casi, come dimensione per le strategie di sorveglianza endoscopica fa riferimento quella endoscopica anche se ritenuta meno accurata.

NB: Secondo le linee guida europee è la dimensione istologica misurata su vetrino quella da utilizzare per le strategie di sorveglianza endoscopica perché consente di valutare precisamente solo la parte neoplastica della lesione.

In considerazione del fatto che appare ancora poco praticabile in modo sistematico questo tipo di misurazione si consiglia di eseguire la valutazione istologica della dimensione quando il patologo osservi una sostanziale discrepanza tra tessuto adenomatoso e tessuto non adenomatoso.

E' evidente che se nel campionamento sono state eseguite sezioni trasversali all'asse maggiore della testa, deve fare riferimento la misura eseguita in fase macroscopica dopo fissazione.

- **Identificazione del margine di resezione endoscopica**  
Agevole nelle lesioni peduncolate appena resecate, può diventare problematica dopo fissazione in formalina. E' auspicabile che la marcatura (con colorante vitale o idoneo repere) venga effettuata dall'endoscopista prima della fissazione.  
Nel caso ciò non sia avvenuto, se il patologo individua chiaramente il margine, lo marca con inchiostro di china e lo annota nella descrizione macroscopica.

#### e. CAMPIONAMENTO

- Va effettuato preferibilmente su lesione fissata, con lama nuova di taglio e senza esercitare eccessiva pressione, per preservare al massimo il tessuto ed evitare artefatti da stiramento.
- È molto utile la marcatura con china della base di impianto.
- Lesioni sessili >1cm: devono essere tagliate con sezioni seriate perpendicolarmente all'asse maggiore della base, dopo marcatura con china.
- Lesioni sessili tra 0,6 e 1 cm: vengono incluse, se orientabili, con sezioni seriate perpendicolari alla base, dopo marcatura con china.
- Per le lesioni peduncolate si consiglia di separare, con tagli perpendicolari alla base, le due calotte laterali dall'asse stromale centrale, comprendente il peduncolo. Se di dimensioni particolarmente rilevanti, l'asse stromale può essere ulteriormente sezionato con tagli paralleli al primo.

Suddetti prelievi devono garantire la valutazione del margine di resezione e rapporti tra epitelio e asse stromale. I prelievi delle calotte e dell'asse stromale vanno inclusi in biocassette separate. **In ogni caso il materiale pervenuto va incluso in toto.**

#### f. SEZIONI E LIVELLI

E' consigliabile eseguire più livelli di sezione nelle lesioni polipoidi superiori a cm. 1 per ogni blocchetto da colorare con E&E. Appare più diffuso il metodo di eseguire 3 livelli, ma non è codificato l'intervallo tra i livelli.



## BIBLIOGRAFIA

1. Quality assurance in pathology in colorectal cancer screening and diagnosis-European recommendations. *Virchows Arch* 2011; 458: 1-19.
2. Programma di screening regionale per la diagnosi precoce e la prevenzione dei tumori del colon-retto. Documento di consenso per la diagnosi istopatologia delle lesioni tumorali e pre-tumorali del colon-retto. Gruppo di lavoro 2012
3. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis, 2010
4. Diagnosi anatomico-patologica negli screening del carcinoma colo-rettale: indicazioni. Gruppo Italiano Tumori ColoRettili (GISCoR). *Pathologica* 2006; 98:171-174
5. Linee guida e criteri diagnostici minimi. *G.I.P.A.D. Pathologica* 1999; 91: 286-294
6. Polyp Guideline: Diagnosis, Treatment, and Surveillance for Patients With Colorectal Polyps. *Am Jour Gastroenterol* 2000; 95,11:3054-3063
7. Colorectal Tumors: the histology report. *Digestive and Liver Disease* 2011;43S S344-S355
8. Regione Emilia-Romagna: Il protocollo diagnostico-terapeutico dello screening per la diagnosi precoce del tumore del colon retto. II edizione 2012



**PARTE SECONDA**  
(referente dott. Marcello Lo Mele)

**ADENOMI CONVENZIONALI**

**DEFINIZIONE**

Gli adenomi convenzionali sono lesioni (neoformazioni) polipoidi della mucosa del grosso intestino rilevate (peduncolate/sessili), piane ("flat"), a morfologia tubulare, tubulovillosa o villosa, con displasia epiteliale di basso/di alto grado delle ghiandole.

**DIAGNOSI**

Le lesioni campionate vanno valutate su vetrino allestito con colorazione Ematossilina-Eosina. L'interpretazione diagnostica si fonda sul riconoscimento dei seguenti parametri:

**architettura, grado di displasia, dimensioni**, tutti parametri condizionanti il successivo follow-up del paziente, e **stato del margine** (quando valutabile) in particolare per le lesioni con displasia di alto grado.

**a. I pattern architetturali definiti sono i seguenti:**

- **tubulare** (AT) (tubuli superiori al 75%),
- **villosa** (AV) (villi superiori al 75%),
- **tubulovillosa** (ATV) (entrambe le componenti inferiori al 75% ovvero almeno il 20-25% di componente villosa).

Architettura villosa: è particolarmente importante il suo riconoscimento in quanto nelle lesioni inferiori ad 1 cm condiziona il passaggio al rischio intermedio per il follow-up endoscopico (vedi oltre). I villi possono essere:

- classici (lunghi sottili, con scarso stroma e scarse ramificazioni; disposti parallelamente tra loro con base che giunge fino alla *muscularis mucosae*);
- palmati (più ampi, ramificati, fogliacei, spesso con strutture tubulari alla base o anche nello stroma);
- "foreshortened" (non ramificati, sottili, che protrudono nettamente dal contorno della lesione tubulare).

**b. Displasia**

Valutata la morfologia si deve valutare il grado di displasia, di basso o alto grado, degli epitelii ghiandolari.

- **Displasia di basso grado**: architettura generale relativamente conservata, tubuli ghiandolari lievemente allungati o tortuosi; displasia estesa sino all'epitelio di superficie; nuclei sigariformi, allungati, ingranditi (fino ai 2/3 dello spessore dell'epitelio), assenza di evidenti nucleoli.
- **Displasia di alto grado**: caratterizzata da alterazioni architetturali - architettura delle ghiandole ramificata, cribriforme, irregolare, solida, ghiandole disposte *back-to-back*, crescita intraghiandolare dell'epitelio (*papillary tufting*) - e citologiche - la displasia è estesa sino all'epitelio di superficie; perdita di polarità cellulare; riduzione sino alla assenza delle *goblet cells* e della muciparità (atipica, retronucleare); stratificazione nucleare; nuclei di dimensioni notevolmente aumentati, con evidenti nucleoli; cromatina notevolmente dispersa; mitosi talora atipiche; prominente apoptosi.

*Sono sufficienti 1-2 ghiandole (WHO) con le caratteristiche sopra riportate per classificare la lesione come displastica di alto grado o eventualmente, in relazione alle alterazioni architetturali,*

un numero di ghiandole sufficiente da essere identificato a basso ingrandimento.

Alcune delle caratteristiche precedentemente descritte come alterazioni citologiche compatibili con displasia di alto grado possono essere presenti singolarmente anche in lesioni con displasia di basso grado. E non devono essere interpretate come alto grado.

La presenza di atipie citologiche associate ad aspetti morfologici suggestivi di trauma, prolasso, erosione, spesso con evidenza morfologica di sanguinamento deve essere valutata con attenzione per non sopravvalutare il grado di displasia.

E' necessario quindi che la determinazione della displasia di alto grado sia basata sulla presenza del maggior numero se non di tutti gli aspetti sopra citati.

#### Grading della displasia

	Normale	Displasia di basso grado	Displasia di alto grado
Architettura generale	Ghiandole ramificate non	Relativamente conservata con tubuli ghiandolari lievemente allungati o tortuosi (profilo villosi)	Architettura delle ghiandole ramificata, cribriforme, irregolare, solida, con ghiandole disposte <i>back-to-back</i> , con crescita intraghiandolare dell'epitelio ( <i>papillary tufting</i> )
Estensione della displasia		Sino all'epitelio di superficie	Sino all'epitelio di superficie
Polarità cellulare	Conservata	Parzialmente conservata	Assente
Goblet cells	++	+	-/+ retronucleari, atipiche
Filiere nucleari	1	2-3	2-5
Nuclei e dimensioni Nucleoli	Piccoli, basali Nessun nucleolo o non evidenti nucleoli	Sigariformi, allungati, ingranditi (fino ai 2/3 dello spessore dell'epitelio), a palizzata Nessun nucleolo o non evidenti nucleoli	Dimensioni notevolmente aumentate, allargati, con evidenti nucleoli, anche se pochi
Cromatina	Scarsa	+	++, notevolmente dispersa; mitosi talora atipiche; prominente apoptosi

#### c. Dimensioni

Secondo le linee guida europee è la dimensione istologica misurata su vetrino quella da utilizzare per le strategie di sorveglianza endoscopica perché consente di valutare precisamente solo la parte neoplastica della lesione. Si consiglia comunque di verificare la dimensione istologica quando sia discordante significativamente da quella macroscopica.

E' evidente che se nel campionamento sono state eseguite sezioni trasversali all'asse maggiore della testa del polipo, deve fare riferimento la misura eseguita in fase macroscopica dopo fissazione.

Nel caso di lesioni frammentate va misurato il frammento maggiore, ma per le strategie di sorveglianza endoscopica la dimensione riferimento è quella endoscopica anche se ritenuta meno accurata.



#### d. Margine

Valutare sempre il margine se indenne o meno, e se la retrazione della base d'impianto, o le caratteristiche del materiale in esame non consentono adeguate precisazioni in merito alla radicalità della exeresi.

Lo stato del margine va riferito in particolar modo per le lesioni adenomatose di alto grado, specificando, se il tessuto adenomatoso presente in corrispondenza del margine presenti displasia di basso o alto grado.

Nel caso in cui la lesione sia frammentata non è possibile pronunciarsi correttamente circa i margini e le dimensioni, se non riportando il frammento con diametro maggiore.

#### e. Terminologia consigliata in fase di refertazione

Adenoma Tubulare/Villoso/Tubulovilloso con displasia epiteliale di basso/alto grado (con asse maggiore dell'area adenomatosa misurato su vetrino di mm/cm solo se vi è significativa disparità di dimensioni rispetto a quanto rilevato in macro).

La lesione adenomatosa è risultata istologicamente compresa nei margini della escissione.

La retrazione della base d'impianto/Le caratteristiche del materiale in esame non consentono adeguate precisazioni in merito alla radicalità della exeresi.

Displasia di...grado è stata istologicamente documentata in corrispondenza del margine della escissione.

Sono state proposte altre terminologie classificative delle lesioni adenomatose.

La lesione adenomatosa (in particolar modo la lesione piana "flat") può anche essere refertata utilizzando la classificazione WHO 2010:

- a. neoplasia intraepiteliale di basso grado (adenoma con displasia di basso grado);
  - neoplasia intraepiteliale di alto grado (adenoma con displasia di alto grado); carcinoma intramucoso (limitato alla lamina propria);
- oppure la classificazione di Vienna modificata adattata per lo screening del carcinoma CR
- a. neoplasia mucosa di basso grado (categoria 3) (adenoma con displasia di basso grado);
  - neoplasia mucosa di alto grado (categoria 4) (cat. 4.1: adenoma con displasia di alto grado; 4.2: carcinoma non-invasivo, *in situ*; 4.3: sospetto per carcinoma invasivo; 4.4: carcinoma intramucoso).

Tali modalità sono sconsigliate dalle linee guida europee. Dal punto di vista istologico le definizioni sono corrette ma poichè il carcinoma *in situ* e il carcinoma intramucoso del grosso intestino sono privi di potenzialità metastatica se ne sconsiglia l'uso nel referto finale, comprendendo entrambe le lesioni nella dizione di displasia grave. Qualora utilizzate devono essere aggiunte tra parentesi dopo diagnosi convenzionale e concordate con i propri endoscopisti.

#### Grading della neoplasia coloretale superficiale

European Guidelines 2010	WHO 2010	Revised Vienna Classification
		Category 1: negativo per neoplasia
		Category 2: indefinito per neoplasia
Adenoma tubulare/tubulovilloso/villoso con displasia di basso grado	Neoplasia intraepiteliale di basso grado	Categoria 3: neoplasia mucosa di basso grado
Adenoma tubulare/tubulovilloso/villoso con displasia di alto grado	Neoplasia intraepiteliale di alto grado	Categoria 4: neoplasia mucosa di alto grado -4.1: displasia di alto grado -4.2: carcinoma non-invasivo



		(in situ) -4.3: sospetto per carcinoma invasivo -4.4: carcinoma intramucoso
	Carcinoma intramucoso	
	Carcinoma infiltrante (la sottomucosa)	Categoria 5: Carcinoma infiltrante la sottomucosa

Per il TNM l'adenoma con displasia di alto grado equivale ad un carcinoma *in situ* e quindi è classificato come **pTis**.

### **Esempi di refertazione:**

- 1) Adenoma Tubulare/Villoso/Tubulovilloso con displasia epiteliale di basso/alto grado - con asse maggiore dell'area adenomatosa misurato su vetrino di mm o cm solo se vi è significativa disparità di dimensioni rispetto a quanto rilevato in macro - (neoplasia intraepiteliale di .... grado secondo WHO 2010 o eventualmente carcinoma intramucoso secondo WHO 2010 o neoplasia mucosa di .... grado categoria .. secondo la classificazione di Vienna riadattata dalle linee guida europee).

La lesione adenomatosa è risultata istologicamente compresa nei margini della escissione.

La retrazione della base d'impianto/Le caratteristiche del materiale in esame non consentono adeguate precisazioni in merito alla radicalità della exeresi.

Displasia di...grado è stata istologicamente documentata in corrispondenza del margine della escissione.

*pTis (per la displasia di alto grado e il carcinoma intramucoso)*

In caso di lesioni frammentate:

- 2) Frammenti di Adenoma Tubulare/Villoso/Tubulovilloso con displasia epiteliale di basso/alto grado (opzionale la dizione: margine di escissione non valutabile).

In caso di lesioni adenomatose frammentate in cui sia sospettata, ma non inequivocabilmente documentata, l'invasione della sottomucosa è consigliabile rimettere alla discussione multidisciplinare le decisioni riguardo al successivo trattamento.

### **FOLLOW-UP**

Le dimensioni, la morfologia ed il grado di displasia della lesione sono di fondamentale importanza per il follow-up del paziente.

Nei programmi di *screening* è utilizzato il termine **adenoma avanzato** quando è presente **almeno uno** dei seguenti aspetti: dimensioni uguali o superiori a 1 cm; componente villosa (uguale o maggiore del 20%-25%) (adenoma tubulovilloso/villoso); displasia di alto grado.

L'altro parametro condizionante il follow-up e, quindi, la definizione di adenoma avanzato è il numero di lesioni adenomatose identificate in corso di endoscopia.

Considerando la soggettività operatore-dipendente circa la morfologia ed il grado di displasia, le dimensioni della lesione diventano ancora più importanti, in quanto queste sono oggettive e non operatore-dipendente.

Secondo le linee guida europee circa la sorveglianza in colonscopia a seguito di rimozione di adenoma/i, il paziente è:

- a) a basso rischio: se sono stati rimossi 1 o 2 adenomi di dimensioni inferiori a 1 cm, tubulari, con displasia di basso grado;
- b) a rischio intermedio: se sono stati rimossi 3 o 4 adenomi con le stesse caratteristiche già descritte



- in a), oppure almeno 1 di dimensioni uguali o superiori al cm (comunque inferiori a 2 cm)  
oppure almeno 1 adenoma con componente villosa o con displasia di alto grado;  
c) ad alto rischio: se sono stati rimossi 5 o più adenomi (con le stesse caratteristiche descritte in a)  
oppure almeno 1 di dimensioni uguali o superiori a 2 cm.

**CODICI SNOMED USATI**

da applicare per ogni adenoma refertato:

M-82110: Adenoma Tubulare

M-82630: Adenoma Tubulo-Villoso

M-82611: Adenoma Villoso

M-74000: Displasia

M-74006: Displasia di basso grado o, in alternativa GA001: basso grado

M-74008: Displasia di alto grado o, in alternativa GA003: alto grado

Per l'inserimento delle codifiche SNOMED si rimanda al NAP



## BIBLIOGRAFIA

1. Quirke P, Risio M, Lambert R, von Karsa L, Vieth M. (2011). Quality assurance in pathology in colorectal cancer screening and diagnosis-European recommendations. *Virchows Arch* 458(1): 1-19
2. Vieth M, Quirke P, Lambert R, von Karsa L, Risio M (2011). Annex to Quirke et al. Quality assurance in pathology in colorectal cancer screening and diagnosis : annotations of colorectal lesions. *Virchows Arch* 458(1):21-30
3. Lanza G, Messerini L, Gadà R, Risio M. (2011). Colorectal tumors: the histology report. *Digestive and Liver Disease* 43S: S344-S355
4. Cooper H. S. (2007). Pathology of the endoscopically removed colorectal polyp. *Current diagnostic pathology* 13:423-437
5. Dixon MF (2002). Gastrointestinal epithelial neoplasia: Vienna revisited. *Gut* 51:130-131
6. Fenger C, Bak M, Kronborg O, Svanholm H. (1990). Observer reproducibility in grading dysplasia in colorectal adenomas: comparisons between two different grading systems. *J Clin Pathol* 43:320-324
7. Kudo S *et al.* (2008). Nonpolypoid neoplastic lesions of the colorectal mucosa. *Gastrointestinal endoscopy* 68, n. 4 S3-S47
8. Suzuki N, Price AB, Talbot IC, Wakasa K, Arakawa T, Ishiguro S, Fraser C, Saunders BP. (2006). Flat colorectal neoplasia and the impact of the revised Vienna classification on their reporting: a case control study in UK and Japanese patients. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 41:812-819
9. Schoen RE, Gerber LD, Margulies C. (1997). The pathologic measurement of polyp size is preferable to the endoscopic estimate. *Gastrointest Endosc* 46:492-496
10. The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: esophagus, stomach and colon (2002). *Gastrointest Endosc* S6: S3-S43
11. Soetikno *et al* (2008). Prevalence of nonpolypoid (flat and depressed) colorectal neoplasms in asymptomatic and symptomatic adults. *JAMA* 299 (9): 1027-1035
12. Risio M. (2010). The natural history of adenomas. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology* 24: 397-406
13. Protocollo diagnostico terapeutico dello screening per la diagnosi precoce del tumore del colon-retto. Emilia Romagna. II edizione – Anno 2012
14. Mahajan D, Goldblum JR *et al* (2013). *Am J Surg Pathol* 37:427-433
15. Lieberman D, Moravec M, Holub J, Michaels L, Eisen G (2008). Polyp size and advanced histology in patients undergoing colonoscopy screening: implications for CT colonography. *Gastroenterology* 135:1100-1105
16. Shapiro R, Ben-Horin S, Bar-Meir S, Avidan B. (2012) The risk of advanced histology in small-sized colonic polyps: are non-invasive colonic imaging modalities good enough? *Int J Colorectal Dis* 27: 1071-1075
17. Hassan C, Gimeno-García A, Kalager M, Spada C, Zullo A, Costamagna G, Senore C, Rex DK, Quintero E. Systematic review with meta-analysis: the incidence of advanced neoplasia after polypectomy in patients with and without low-risk adenomas. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014 May;39(9):905-12
18. Mahajan D, Downs-Kelly E, Liu X, Pai RK, Patil DT, Rybicki L, Bennett AE, Plesec T, Cummings O, Rex D, Goldblum JR. Reproducibility of the villous component and high-grade dysplasia in colorectal adenomas <1 cm: implications for endoscopic surveillance. *Am J Surg Pathol.* 2013 Mar;37(3):427-33
19. Mahajan D, Downs-Kelly E, Liu X, Pai RK, Patil DT, Rybicki L, Bennett AE, Plesec T, Cummings O, Rex D, Goldblum JR. Reproducibility of the villous component and high-grade dysplasia in colorectal adenomas <1 cm: implications for endoscopic surveillance. *Am J Surg Pathol.* 2013 Mar;37(3):427-33.



**PARTE TERZA**  
(referente dott. Antonio Scapinello)

## LESIONI SERRATE

Le lesioni serrate comprendono uno spettro di lesioni polipoidi perlopiù sessili, caratterizzate dall'accumulo delle cellule epiteliali che rivestono le cripte le quali tendono a crescere all'interno del lume determinano da un lato la configurazione serrata e dall'altro la dilatazione delle cripte stesse. Se il compartimento proliferativo rimane come di norma confinato all'1/3 inferiore delle cripte prende origine il polipo iperplastico. Se si determinano delle alterazioni nella dislocazione del compartimento proliferativo si producono alterazioni architetturali e citologiche via via più complesse che daranno origine all'adenoma/polipo serrato sessile senza o con displasia citologica e all'adenoma serrato tradizionale.

Questa è l'attuale classificazione WHO delle lesioni serrate:

**Table 1. Pathological classification of serrated colorectal lesions recommended by the World Health Organization**

Hyperplastic polyp

Sessile serrated adenoma/polyp<sup>a</sup>

With or without cytological dysplasia

Traditional serrated adenoma

<sup>a</sup> The terms "sessile serrated adenoma" and "sessile serrated polyp" are considered synonymous.

Snover D, Ahnen DJ, Burt RW *et al.* Serrated polyps of the colon and rectum and serrated polyposis. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (eds) WHO Classification of Tumours of the Digestive System.

LYON: IARC, 2010, 160-5.

Queste le principali caratteristiche cliniche:

**Table 2. Clinical features of serrated lesions**

	Shape	Mean Size	Prevalence	Location	Pre-cancerous
HP	Flat, sessile	Small, often ≤ 5mm	Very common	Left colon	No
SSA/P	Flat, sessile	Larger than HP <sup>a</sup>	Common <sup>b</sup>	Right colon	Yes
TSA	Sessile, pedunculated	Larger than HP	Rare	Left colon	Yes

HP, hyperplastic polyp; SSA/P, sessile serrated adenoma/polyp; TSA, traditional serrated adenoma.

<sup>a</sup> SSA/P may be < 1 cm in size, but the mean size of SSA/P is larger than the mean



size of HP. Most serrated lesions  $\geq 1$  cm in size are SSA/P.

<sup>b</sup> Mean detected prevalence rates  $\leq 2\%$

Pertanto le entità nosograficamente distinte sono le seguenti:

- b. Polipo iperplastico (HP)
- c. Adenoma/polipo serrato sessile (SSA/P)
- d. SSA con displasia citologica (SSAD)
- e. Adenoma serrato tradizionale (TSA)

#### a. POLIPI IPERPLASTICI

*Caratteri generali:* sono sicuramente la lesione serrata più frequente (75%) caratterizzata da dimensioni piccole (< a 5 mm), prevalenti nel sigma distale e nel retto dove spesso sono multipli. *Istologicamente* sono caratterizzati da cripte allungate, rettilinee, che si assottigliano alla base. Mostrano iperdifferenziazione/iper maturazione citoplasmatica, nuclei monostratificati ovali, senza evidente displasia cariologica. Il compartimento proliferativo è limitato alla base (1/3 inferiore) delle cripte. La presenza di atipia citologica basale senza significative modificazioni architetturali può essere dovuta a modificazioni rigenerative in un HP infiammato.

Si distinguono i seguenti 3 citotipi di polipo iperplastico la cui specifica non è raccomandata in fase di refertazione

1. *micro vacuolare:* dimensioni inferiori a 5 mm, sede sigma distale-retto (74%) e colon trasverso/destro (15%), piatti, bruno chiaro; mutazione prevalente BRAF V600E.
2. *a cellule mucipare:* dimensioni inferiori a 5 mm, di solito non più di 2 o 3 mm; nel 90 % in sede sigma distale/retto, sessili, pallidi; mutazione prevalente KRAS
3. *a deplezione mucipara:* forma rara, può presentare atipia dei nuclei che appaiono talora grandi, rotondi, ipercromici, ma senza pseudo stratificazione. La teoria prevalente è che rappresenti un HP micro vescicolare sottoposto a stress infiammatorio con modificazioni epiteliali reattive.

*Significato clinico:* 17 volte più frequenti nei segmenti colici con cancro, spesso multicentrici specialmente nei tratti distali, aumentano progressivamente con l'età. Possono essere numerosi e associarsi ad altre lesioni polipoidi serrate e/o adenomatose nel configurare la cosiddetta poliposi serrata.

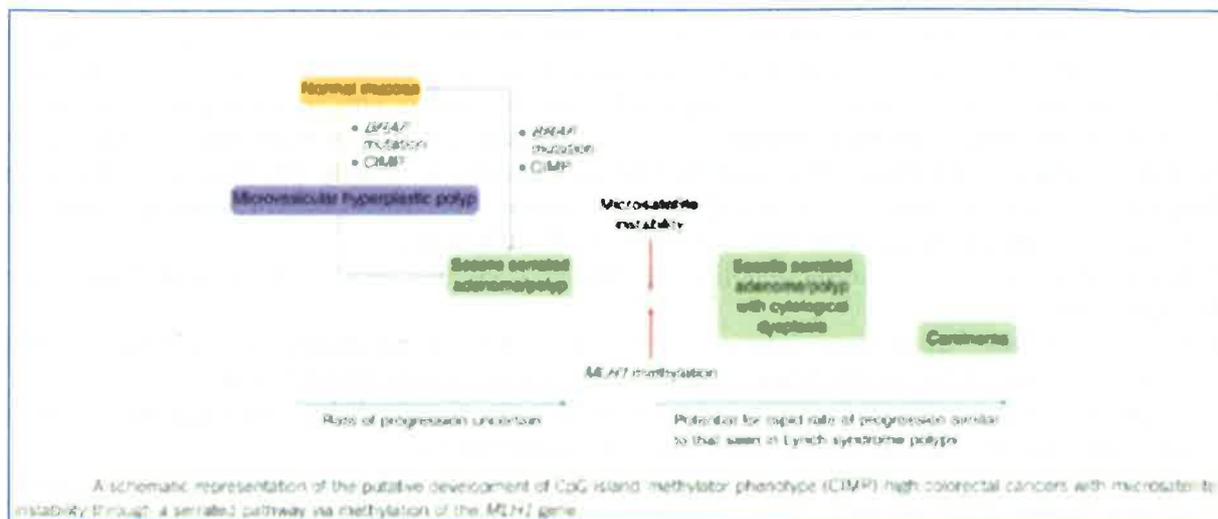
***Dal polipo iperplastico al polipo/adenoma serrato sessile:*** nel polipo iperplastico il comparto proliferativo rimane limitato alla base. Quando si determinano alterazioni della proliferazione con spostamento del comparto proliferativo verso la porzione superiore delle cripte, si creano alterazioni architetturali e citologiche che segnano il passaggio alle lesioni che vengono definite come adenomi/polipi serrati sessili (SSA/P).

#### Modificazione citoarchitetturali indotte dall'alterazione del comparto proliferativo

	Proliferazione normale	Proliferazione anomala
Serrazione	lieve	marcata
Cripte orizzontali (a L, a T, a Scarpa)	assente	presente
Dilatazione delle cripte basali	assente	presente
Mucina luminale	Normale	Spesso aumentata
Asimmetria della zona proliferativa	Assente	Presente
Cellule globet distrofiche	Assenti o rare	Spesso prominenti
Atipia citologica	Assente	Da lieve a moderata
Mitosi nella parte superficiale delle cripte	Assenti	Possono essere presenti

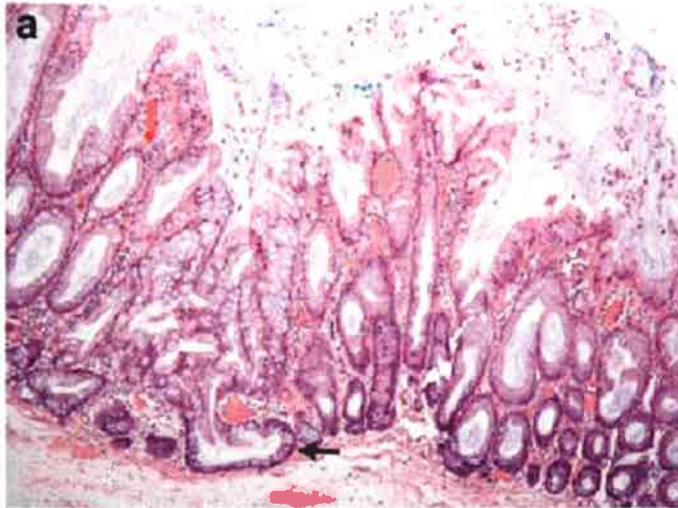
### b. ADENOMA/POLIPO SERRATO SESSILE (SSA/P):

*Caratteri generali:* rappresenta il 9% dei polipi rimossi endoscopicamente, il 20% dei polipi serrati, sessili o piatti, prevalentemente localizzati al colon destro (75%), di dimensioni comprese tra 2-5 mm nel 36%, tra 6-10 mm nel 47% e > di 11 mm nel 17%. E' considerato la lesione preneoplastica degli adenocarcinomi che seguono la via epigenetica di silenziamento genico per ipermetilazione, cosiddetto fenotipo "CIMP-high". Infatti la maggior parte dei SSA/P è CIMPhigh, BRAF mutata e negli SSA/P con displasia frequentemente si osserva ipermetilazione di MLH1.



### *Caratteri istologici distintivi:*

- **Displasia architetturale:** presenza di disordine architetturale dovuto a innalzamento della zona proliferativa con maturazione sia in senso luminale che basale (maturazione inversa) che determina la formazione di cripte basali orizzontali con forma a T rovesciata, a L. Tale aspetto è ritenuto diagnostico di adenoma/polipo serrato sessile. A ciò si associa la ramificazione delle cripte, la dilatazione delle cripte in sede profonda (con dilatazione più marcata rispetto all'apertura luminale) e la marcata serrazione (maggiore che nel polipo iperplastico). Talora si osserva erniazione delle cripte attraverso la muscularis mucosa dando origine a un pattern di crescita pseudo invasivo o inverso.
- **citologicamente** si possono osservare cellule globet distrofiche (libere nell'epitelio, non comunicanti con il lume, invertite), talora la presenza di mitosi nella parte superficiale delle cripte. I nuclei possono presentare modesta atipia, risultando vescicolari e con nucleolo evidente.



Bettington et al

Am J Surg Pathol • Volume 38, Number 2, February 2014

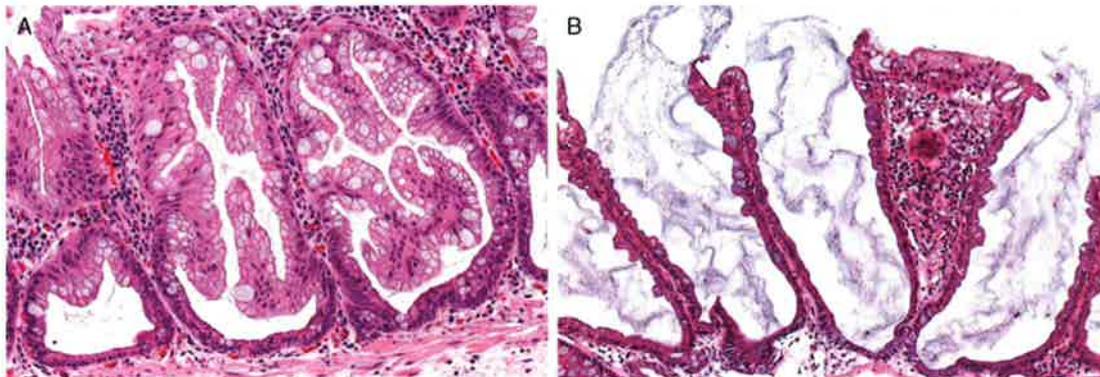


FIGURE 1. Features of an SSA-type crypt. Horizontal growth along the muscularis mucosa, deep serration and asymmetric proliferation (A), dilation of the crypt bases (B) (hematoxylin and eosin stain).

Nelle lesioni serrate sessili con caratteristiche dell'adenoma serrato sessile si possono osservare aree indistinguibili dal polipo iperplastico micro vescicolare che talora costituisce la maggior parte della lesione. Secondo WHO sono sufficienti due o tre cripte contigue con le caratteristiche tipiche per classificare la lesione come SSA/P. Secondo le raccomandazioni di Rex et al (Am J Gastroenterol 2012; 107:1315-29) per la diagnosi di SSA/P è sufficiente una singola cripta con distorsione architetturale inequivocabile, dilatata e/o orizzontalmente ramificata in particolare se associata a maturazione inversa in una lesione del colon prossimale.

**Il gruppo ritiene preferibile adottare i criteri di Rex.**

#### Criteri per la diagnosi differenziale tra polipo iperplastico e SSA/P

	Polipo iperplastico	Adenoma/Polipo serrato sessile
sede	Colon distale - retto	Colon prossimale
dimensione	< 5 mm	>5 mm
Displasia architetturale e/o citologica	no	si
differenziazione	Iperdifferenziazione, ipermaturazione superficiale	Alterazione della differenziazione. Maturazione inversa.



nuclei	Monostratificati ovali	Vescicolosi, nucleo lati pluristratificati
Compartimento proliferativo	Alla base	Tende a dislocarsi più in alto e in punti diversi. Anomalie apoptosi e proliferazione

### Diagnosi differenziale con le lesioni da prolasso

Poiché le lesioni da prolasso possono produrre alterazioni delle cripte molto simili a quelle dell'SSA, l'evidenza di significativo effetto da prolasso - proliferazione miocellulare nella lamina propria, cripte a forma di diamante (Huang) - preclude la diagnosi di SSA.

#### ▪ SSA borderline (BSSA)

Esistono comunque polipi serrati con caratteristiche intermedie tra HP e SSA/P ovvero nei quali sono presenti alcune ma non tutte le caratteristiche richieste per la diagnosi di SSA.

Recentemente per queste lesioni è stata proposta la denominazione di polipi serrati sessili borderline (BSSA). Mohammadi (2011) ha stabilito i seguenti criteri:

SSA: presenza di almeno due inequivocabili caratteristiche tra dilatazione delle cripte basali, serrazione delle cripte basali, ramificazione e crescita orizzontale (lateralizzata) delle cripte.

BSSA: presenza di uno solo di questi criteri o aspetti equivoci per due di essi

MVHP: nessuno dei su citati criteri o aspetti equivoci per solo uno di essi

*Significato clinico:* Apparentemente simile a quello del SSA/P con rischio di CRC sincro e leggermente inferiore e distribuzione prevalente a sinistra.

La diagnosi di BSSA non è raccomandata dal gruppo Americano (Rex 2012) che però sembra ampliare i criteri diagnostici rispetto al WHO (2-3 cripte contigue con le alterazioni tipiche) raccomandando che ne basta una. Il gruppo australiano (Bettington, 2014) in sostanza pur distinguendo i SSA in tipici (WHO criteria, Snover) e probabili (con caratteristiche diminutive per numero di cripte tipiche) tende alla luce dei dati di distribuzione e follow-up a inquadrarli nei SSA.

**Si propone che sia preferibile diagnosticare come SSA lesioni sessili a destra, soprattutto se maggiori di 5 mm, che mostrano parziali alterazioni architetturali.**

### c. POLIPO ADENOMA SERRATO SESSILE CON DISPLASIA

*Caratteristiche generali:* sovrapponibili al SSA senza displasia, dimensioni medie comprese tra 8,5 e 11,3 mm (leggermente maggiori rispetto al SSA senza displasia);

*Caratteri istologici distintivi:* presenza di displasia citologica di cui sono descritti due tipi:

a) *displasia serrata:* cellule cubiche con citoplasma eosinofilo e nuclei ampi, vescicolosi con nucleolo evidente. I nuclei appaiono oligostratificati o monostratificati alla base. Sebbene il pattern architetturale di crescita non sia particolarmente serrato, l'emergenza della prominente eosinofilia citoplasmatica fa ritenere ad alcuni esperti che la displasia serrata sia un biomarker istologico di progressione neoplastica. (Snover, WHO, 2010). Tale tipo di displasia non viene contemplato nella definizione di SSAD nel più recente lavoro del gruppo Australiano (Bettington 2014)

b) *displasia convenzionale:* mitosi talora atipiche, ipercromia nucleare, pseudo stratificazione citoplasma anfofilo/basofilo (vedi definizione nella sezione degli adenomi convenzionali).

La comparsa di displasia citologica si associa spesso a metilazione e conseguente perdita di espressione del gene MLH1 e comparsa di instabilità dei microsattelliti.

NB: La presenza di displasia va sempre riportata specificandone il grado. Non sono stati fatti studi di riproducibilità sulla displasia serrata.

*Significato clinico:* E' una lesione più avanzata nella progressione verso il carcinoma rispetto al SSA/P senza displasia citologica. (Rex et al. Am J Gastroenterol 2012; 107:1315-29).



Sebbene le aree di displasia adenomatosa possano essere di basso o alto grado, il significato del grado di displasia non è stato valutato negli SSA/P. Viene raccomandato che tutti i SSA/P con qualsiasi tipo di displasia citologica convenzionale debbano essere considerati come polipi "avanzati" con il significato clinico analogo alla displasia di alto grado degli adenomi convenzionali.

#### d. ADENOMA SERRATO TRADIZIONALE (TSA)

*Caratteristiche generali:* rappresenta l'1% dei polipi colo-rettali, più frequente nel colon distale, dimensioni generalmente > 5mm, nei tratti distali (67%) aspetto endoscopico polipoido, peduncolato, spesso con aspetto a pigna, oppure sessile (33%) nei tratti prossimali.

Gli adenomi serrati tradizionali non sembrano essere correlati allo sviluppo dei carcinomi con instabilità dei microsatelliti.

*Caratteri istologici distintivi:* struttura complessa, spesso villosa con villi bulbosi e/o interconnessi. Gli adenomi serrati tradizionali mostrano una configurazione serrata diffusa e sono costituiti da epitelio colonnare alto con citoplasma eosinofilo con, spesso, aree di differenziazione a cellule caliciformi. I nuclei sono allungati, penicillati, posti centralmente e pseudo stratificati. Spesso si associa displasia citologica di tipo convenzionale o serrata. Aspetto distintivo dei TSA è la formazione di cripte ectopiche (ECF) che appaiono come protrusioni, tasche laterali, dovute allo sbilanciamento proliferativo della cripta.

Talora (4% dei TSA) si osservano villi molto lunghi (filiformi) cui spesso si associa edema della lamina propria ed erosione dell'epitelio superficiale, displasia di alto grado (22%) e talora adenocarcinoma (6%). Tale lesione è stata etichettata come Adenoma Serrato Filiforme (Yantiss et al. AJSP 2007).

*Significato clinico:* E' una lesione più avanzata nella progressione verso il carcinoma rispetto al SSA/P senza displasia citologica. (Rex et al. Am J Gastroenterol 2012; 107:1315-29). Il TSA appare più eterogeneo come profilo molecolare potendo essere sia KRAS che BRAF mutato ed avere bassi o alti livelli di CIMP. Di solito non mostra ipermetilazione di MLH1 né sviluppa MSI, ma presenta comunemente ipermetilazione del gene MGMT.

#### Diagnosi differenziale tra adenoma serrato sessile e adenoma serrato tradizionale

Aspetti morfologici	Adenoma serrato sessile	Adenoma serrato tradizionale
Serrazione esagerata	Spesso presente	Spesso presente
Cripte orizzontali	Spesso presenti	Usualmente assenti
Dilatazione delle cripte basali	Spesso presente	Usualmente assenti
Architettura villosa	Assente	Spesso presente
Eosinofilia citoplasmatica	Focale o assente	Prominente
Cripte ectopiche	Assenti	Spesso presenti

#### e. POLIPI SERRATI INCLASSIFICABILI E VARIANTI PARTICOLARI

Alcune lesioni serrate possono risultare di difficile inquadramento classificativo a causa della mancata orientazione, scarsa qualità della colorazione e/o processazione, marcati artefatti da cauterio o scarsa quantità di tessuto. In questi casi appare accettabile rendere una diagnosi di "polipo serrato inclassificabile". Comunque il patologo deve mettere la massima attenzione nel determinare la presenza di displasia anche se la diagnosi è difficile.

Adenomi convenzionali possono mostrare occasionalmente aree con pattern di crescita serrato. Essi vengono generalmente distinti da altri tipi di polipi serrati per l'assenza di aree con la morfologia del SSA/P o TSA. In alcuni casi il termine "adenoma convenzionale con pattern di crescita serrato" o "adenoma tubulo villosa serrato" di Bettington (Histopathology 2015 DOI: 10.1111/his12788) è accettabile per queste lesioni che sembrano rappresentare uno dei precursori del carcinoma coloretale KRAS mutato, microsatellite stabile. Un altro studio ha identificato un gruppo di adenomi convenzionali che mostrano i criteri sopra descritti e in più presentano dilatazione cistica



delle ghiandole e brillante eosinofilia citoplasmatica (Pai et al. Am J Surg Pathol 2010; 34:355-63). Gli autori riportano che queste lesioni sono KRAS e BRAF wild e CIMP-low. In questo studio i polipi provenivano da pazienti con almeno un polipo sincrono SSA/P.

Altre varianti recentemente identificate che possono presentare un pattern serrato:

**polipo fibroblastico** del colon (Groisman et al Histopathology 48, 431-437)

**polipo fibroblastico benigno del colon** (Huber et al, Arch Pathol Lab Med. 2009;133:1872-1876).

**adenoma serrato sessile con proliferazione simil perineuriale** (Pai et al Am J Surg. Pathol 2011)

Per quanto riguarda il gruppo dei cosiddetti **polipi misti (da collisione)** - polipo iperplastico e adenoma convenzionale (TA, TVA, VA); adenoma /polipo serrato sessile (SSA/SSP) e adenoma convenzionale (TA, TVA, VA); adenoma serrato tradizionale (TSA) e adenoma convenzionale (TA, TVA, VA) - secondo WHO questa è una categoria **preferibilmente da non utilizzare** in quanto questi polipi rientrerebbero prevalentemente nella categoria delle lesioni serrate con displasia.

Talora alcune lesioni serrate, soprattutto a destra, possono presentare accanto ad aspetti tipo SSA/D aspetti tipo TSA. In questi casi appare ragionevole refertare come lesione serrata con aspetti tipo SSA/D e associata componente (%) di TSA.

#### **f. LA SINDROME DELLA POLIPOSIS SERRATA**

E' una condizione, i cui criteri di riconoscimento sono qui sotto riportati, che si associa ad un aumento significativo di prevalenza di CRC (30%), è localizzata prevalentemente nel colon prossimale (>50%) e colpisce soggetti in età inferiore rispetto al CRC sporadico (età media 48 anni).

Criteri per la diagnosi di poliposi serrata secondo WHO 2010:

- più di 5 polipi serrati prossimali al colon sigmoideo almeno due dei quali di dimensioni superiori a 10 mm
- qualsiasi numero di lesioni polipoidi serrate prossimali al sigma in soggetto con familiarità di primo grado per poliposi serrata
- più di 20 polipi serrati di qualsiasi dimensione distribuiti su tutto il tratto colico

Il suo riconoscimento è pertanto importante e il patologo deve, qualora si trovi nelle condizioni di poterlo fare, suggerirne l'ipotesi nel referto.

#### **RACCOMANDAZIONI PER I PATOLOGI PER LA DIAGNOSI DI SSA**

- Valutare molto bene prima di fare una diagnosi di HP nel colon destro specialmente se di dimensioni maggiori di 5 mm.
- Devono essere presenti modificazioni dalle cripte basali con dilatazione, serrazione, ramificazione e/o cripte orizzontali (L, T rovesciata)
- Polipi del colon sinistro con dilatazione basilare ma senza chiara distorsione delle cripte è poco probabile siano dei SSA/P
- Le lesioni serrate del colon retto devono essere classificate istologicamente come HP, SSA/P con o senza displasia o come TSA. Clinici e patologi devono collaborare per ottenere un comune uso e comprensione della terminologia delle lesioni serrate.
- SSA/P e TSA sono lesioni precancerose. SSA/P è il principale precursore del carcinoma coloretale ipermetilato. Questo pathway occorre primariamente nel colon prossimale.
- Il SSA/P si distingue dall'HP per la presenza di distorsione delle cripte, particolarmente alla base. - **Si raccomanda che una singola cripta con inequivocabile architetturalmente distorta, dilatata e/o orizzontalmente ramificata, particolarmente se associata a maturazione inversa sia sufficiente per la diagnosi di SSA/P. La maggior parte delle lesioni serrate di dimensioni superiori a 5 mm nel colon prossimale sono SSA/P.**
- SSA/P con displasia citologica (SSAD) è una lesione più avanzata nella progressione verso



il carcinoma rispetto al SSA/P senza displasia citologica.

## TERMINOLOGIA PROPOSTA IN FASE DI REFERTAZIONE E VALUTAZIONE DEI MARGINI

**Polipo iperplastico** (opzionale la sua subcategorizzazione).

Non necessaria la valutazione del margine.

**Polipo/adenoma serrato sessile** (opzionale la dizione "senza evidente displasia citologica")

Specificare se il margine mucoso di exeresi sia sede di lesione serrata.

**Adenoma serrato sessile con displasia.**

Opzionale se specificare il tipo di displasia (serrata o convenzionale).

In caso di displasia convenzionale è raccomandata la gradazione.

Specificare se il margine mucoso di exeresi sia sede di lesione adenomatosa e l'eventuale grado di displasia sul margine.

**Adenoma serrato tradizionale.**

Valutare il grado di displasia convenzionale eventualmente presente.

Valutare lo stato del margine di exeresi mucoso.

### IMMUNOISTOCHEMICA:

Colorazioni immunoistochimiche possono essere utili in casi selezionati nella diagnosi differenziale tra polipo iperplastico e SSA/P ma non sono ritenute raccomandabili.

Tra queste segnaliamo **Ki67** e **MUC5**.

### CODICI SNOMED SEDI TOPOGRAFICHE USATE

cieco T-59200 T-67100 C18.0

appendice T-59200 T-66000 C18.1

colon ascendente T-59420 T-67200 C18.2

flessura epatica T-59400 T-67300 C18.3

colon trasverso T-59440 T-67400 C18.4

flessura splenica T-59450 T-67500 C18.5

colon discendente T-59450 T-67600 C18.6

colon sigmoideo T-59470 T-67700 C18.7

giunzione sigma-retto T-59670 T-68200 C19.9

retto T-59600 T-68000 C20.9

canale anale T-59900 T-69010 C21.1

### CODICE SNOMED II EDIZIONE CODICE ICD-O USATE

Adenoma serrato tradizionale M-82130 8213/0

Adenoma serrato sessile M-82140 8213/0

Polipo giovanile M-75640

Polipo infiammatorio M-76820

Displasia di basso grado M-74006

Displasia di alto grado M-74008

Per l'inserimento delle codifiche SNOMED si rimanda al NAP



## BIBLIOGRAFIA

1. Bettington M. et al: Critical appraisal of the diagnosis of the sessile serrated adenoma. *Am J Surg Pathol* 2014;38:158-166
2. Snover DC. Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma. *Hum Pathol.* 2011; 42:1-10.
3. Rosty C. et al. Serrated polyps of the large intestine: current understanding of diagnosis, pathogenesis, and clinical management. *J Gastroenterol.* 2013; 48:287-302.
4. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology.* 2013; 50:113-130.
5. Bettington M. et al. The serrated pathway to colorectal carcinoma; current concepts and challenges. *Histopathology.* 2013; 62:367-386.
6. Leggett B., Whitehall V. Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology.* 2010; 138:2088-2100.
7. Spring KJ. et al. High prevalence of sessile serrated adenomas with BRAF mutations: a prospective study of patients undergoing colonoscopy. *Gastroenterology.* 2006; 131:1400-1407.
8. Lash RH. et al. Sessile serrated adenomas: prevalence of dysplasia and carcinoma in 2139 patients. *J Clin Pathol.* 2010; 63:681-686.
9. Carr NJ. et al. Serrated and non-serrated polyps of the colorectum: their prevalence in an unselected case series and correlation of BRAF mutation analysis with the diagnosis of sessile serrated adenoma. *J Clin Pathol.* 2009; 62:516-518.
10. Gurudu SR. et al. Sessile serrated adenomas: demographic, endoscopic and pathological characteristics. *World J Gastroenterol.* 2010; 16:3402-3405.
11. Hetzel JT. et al. Variation in the detection of serrated polyps in an average risk colorectal cancer screening cohort. *Am J Gastroenterol* 2010; 105:2656-2664.
12. Higuchi T. et al. Demographic and pathological characteristics of serrated polyps of colorectum. *Histopathology.* 2005; 47:32-40.
13. Lu FI. et al. Longitudinal outcome study of sessile serrated adenomas of the colorectum: an increased risk for subsequent right-sided colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2010; 34:927-934.
14. Mohammadi M. et al. Sessile serrated lesion and its borderline variant-variables with impact on recorded data. *Pathol Res Pract.* 2011; 207:410-416.
15. Pai RK. et al. Sessile serrated adenomas strongly predispose to synchronous serrated polyps in non-syndromic patients. *Histopathology.* 2010; 56:581-588.
16. Bosman FT, World Health Organization. *International Agency for Research on Cancer. WHO Classification of Tumors of the Digestive System.* 4<sup>th</sup> ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2010.
17. Rex DK et al. Serrated lesions of the colorectum: review and recommendations from an expert panel. *Am J Gastroenterol.* 2012; 107:1315-1329.
18. Huang CC. et al. Prolapse-related changes are a confounding factor in misdiagnosis of sessile serrated adenomas in the rectum. *Hum Pathol.* 2013; 44:480-486.
19. Torlakovic E. et al. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol.* 2003; 27:65-81.
20. Snover DC. et al. Serrated polyps of the large intestine: a morphologic and molecular review of an evolving concept. *Am J Clin Pathol.* 2005; 124:380-391.
21. Chung SM et al. Serrated polyps with "intermediate features" of sessile serrated polyp and microvesicular hyperplastic polyp: a practical approach to the classification of nondysplastic serrated polyps. *Am J Surg Pathol.* 2008; 32:407-412.
22. Aust DE, Baretton GB. Serrated polyps of the colon and rectum (hyperplastic polyps, sessile serrated adenomas, traditional serrated adenomas and mixed polyps)-proposal for diagnostic criteria. *Virchows Arch.* 2010; 457:291-297.
23. Glatz K et al. A multinational, internet-based assessment of observer variability in the diagnosis of serrated colorectal polyps. *Am J Clin Pathol.* 2007; 127:938-945.



24. Farris AB et al. Sessile serrated adenoma: challenging discrimination from other serrated colonic polyps. *Am J Surg Pathol.* 2008; 32:30-35.
25. Lieberman DA et al. Guidelines for colonoscopy surveillance after screening and polypectomy: a consensus update by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Gastroenterology.* 201; 43:844-857.
26. Arain MA et al. CIMP status of interval colon cancers: another piece to the puzzle. *Am J Gastroenterol.* 2010;105:1189-1195.
27. Bettington et al. Histopathology 2015 DOI: 10.1111/his12788.



**PARTE QUARTA**  
(referente dott.ssa Sara Pecori)

## ADENOMA CANCERIZZATO

Il termine di adenoma cancerizzato è riservato a quelle lesioni adenomatose in cui può essere inequivocabilmente accertata l'infiltrazione della sottomucosa attraverso il superamento completo della muscolaris mucosae da parte di tessuto neoplastico.

Quando non sia possibile dimostrare il completo superamento della muscolaris mucosae la lesione deve essere diagnosticata come adenoma.

E' la forma più precoce di carcinoma coloretale (pT1 sec. TNM), dotata di potenziale metastatico linfonodale, potenziale metastatico ematogeno, ricorrenza loco-regionale e mortalità. Questi sono variamente associati in letteratura a 5 parametri istologici classicamente riconosciuti la cui valutazione è determinante nella definizione del rischio di progressione:

- a. Grado di differenziazione
- b. Invasione linfo-vascolare
- c. Budding tumorale
- d. Infiltrazione del margine di resezione
- e. Microstadiazione

L'evidenza di una lesione con grado di differenziazione scarso e/o con invasione linfovaskolare e/o con budding tumorale di alto grado e/o con infiltrazione del margine di resezione e/o con parametri svavorevoli di microstadiazione (spessore di infiltrazione maggiore di 2 mm, livello IV di infiltrazione del peduncolo secondo Haggitt e livello II e III di infiltrazione della sottomucosa secondo Kikuchi) identificano una neoplasia con maggior rischio di metastasi linfonodale e/o ricorrenza locale.

Il peso relativo di ciascuno di questi parametri nella definizione del rischio varia a seconda degli studi. Proponiamo una breve disamina per la loro definizione

### **a. Grado istologico di differenziazione del carcinoma (G1 e G2 –basso grado vs G3 e G4 - alto grado).**

Il grado istologico deve essere valutato in accordo con il sistema utilizzato nel carcinoma avanzato (WHO 2010) del colon-retto che distingue due gruppi: Basso Grado (bene-moderatamente differenziato) e Alto Grado (scarsamente differenziato, anaplastico)

Il *carcinoma scarsamente differenziato* viene definito dalla presenza di tubuli affollati distorti e spesso piccoli, fino dall'assenza di formazione di ghiandole, che mostrano marcato pleomorfismo citologico. Il pattern cribriforme viene in genere associato alle forme di alto grado.

L'attuale classificazione WHO (2010) stratifica solo in base alla percentuale di differenziazione ghiandolare (componente ghiandolare > 50% basso grado, < 50% o meno alto grado) oppure in G1, G2, G3 e G4 che mostrano strutture ghiandolari in più del >95% (G1), comprese tra 50% a 95% (G2), comprese tra 5% a 50% (G3), in meno del <5% (G4) del tumore, rispettivamente dove G1/G2 equivalgono a basso grado e G3/G4 ad alto grado.

### **➤ Indicazioni utili nella valutazione del grading**

- La valutazione del grado si basa sul corretto riconoscimento della zona peggiore, indipendentemente dalla sua estensione.
- La presenza di componente anaplastica, anche minima, deve essere identificata in quanto la sua presenza è strettamente correlata con il rischio di metastasi linfonodali.
- Il carcinoma con cellule ad anello con castone deve essere classificato come scarsamente differenziato.



- Il budding tumorale al fronte di invasione non deve influenzare il grading e deve essere valutato separatamente.

#### **b. Embolizzazione neoplastica (linfatica o venosa)**

**Presente**

**Non evidente** (quando non identificabile con ragionevole sicurezza).

Può essere utile ricorrere all'utilizzo di metodiche immunoistochimiche (CD31, CD34, D2-40) per discriminare taluni aspetti artefattuali che talora simulano l'invasione vascolare vera. Ciò appare particolarmente indicato nei casi in cui questo parametro rappresenti l'unico criterio negativo nella determinazione del rischio.

#### **c. Stato del margine di resezione**

**Infiltrato** (positivo) quando si identifichino cellule di carcinoma a 1 mm o meno dal margine, o entro la banda di diatermocoagulazione (anche nel caso che il suo spessore sia superiore ad 1 mm).

**Indenne** (negativo) quando la distanza dal margine sia superiore a 1 mm.

E' preferibile indicare la distanza precisa misurata su sezione istologica della distanza della neoplasia dal margine.

In caso di mucosectomia o TEM deve essere riportato anche lo stato del margine di resezione laterale indicando se libero o interessato da infiltrazione adenocarcinomatosa o tessuto adenomatoso

#### **d. Budding tumorale**

Descrive la presenza di cellule di carcinoma isolate o disposte in gruppi di meno di 5 elementi nello stroma del margine di avanzamento tumorale:

Dopo aver selezionato il campo dove il budding è maggiore va eseguita una conta in un campo che misuri 0,785 mm<sup>2</sup> a 20X. In base al numero di focolai il budding viene definito:

- Budding peritumorale assente (< 5 focolai) \*
- Budding peritumorale presente di basso grado (< 9 focolai)
- Budding tumorale presente di alto grado (≥10 focolai) \*\*

\* Score di riferimento: < 5 foci = negativo ≥5 foci = positivo (Ueno, 2004)

\*\* Score di riferimento: 0-9 foci = basso grado; ≥10 foci = alto grado (Ueno, 2002)

Altra modalità contemplata per la gradazione del Budding secondo "Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) 2015" è la seguente:

- Grado 1: da 0 a 4 focolai
- Grado 2: da 5 a 9 focolai
- Grado 3: 10 o più focolai

Il significato è analogo a quello precedente ritenendosi positivo ai fini della determinazione del rischio solo il grado 2 e 3 (5 o più focolai).

Nella determinazione del Budding può essere di ausilio una colorazione immunoistochimica per citocheratine ad ampio spettro, ma non è raccomandata.

Si ritiene che debba essere valutato solo il budding cosiddetto desmoplastico e non quello cosiddetto infiammatorio.

**La presenza di almeno uno dei parametri istologici 1-4 caratterizza l'adenoma cancerizzato ad ALTO RISCHIO di progressione neoplastica.**

Questa affermazione è ripresa anche nel documento delle linee guida AIOM 2015 che recita: La presenza di anche uno solo dei parametri di rischio indica un alto potenziale metastatico della lesione e costituisce indicazione al trattamento chirurgico." (AIOM 2015)

### e. Microstadiazione

La microstadiazione rappresenta la valutazione dell'estensione dell'infiltrazione della componente neoplastica nella sottomucosa. E' importante perché consente di evidenziare, nell'ambito delle lesioni a basso rischio (assenza di tutti i parametri istologici 1-4), un sottogruppo di adenomi cancerizzati (profondità inferiore ai 500  $\mu\text{m}$ , ampiezza inferiore ai 4000  $\mu\text{m}$ ) in cui il potenziale metastatico linfonodale è prossimo allo zero (rischio bassissimo) e a stratificare per livelli successivi (fino a 1000  $\mu\text{m}$ , tra 1000 e 2000  $\mu\text{m}$ , oltre 2000  $\mu\text{m}$ ) gradi di rischio di metastasi linfonodale progressivamente maggiori. L'integrazione del dato della Microstadiazione (profondità di infiltrazione o livelli di infiltrazione secondo Haggitt e Kikuchi) con i parametri di rischio precedentemente elencati determina una stratificazione del rischio in più gradi (da 4 a 5) come riportato negli schemi successivi.

#### I. Livello di infiltrazione della sottomucosa

- per le **lesioni peduncolate**, quando possibile - cioè in presenza di peduncolo completo -, vanno utilizzati i **livelli di Haggitt** (il livello IV di infiltrazione secondo Haggitt si associa ad alto rischio)
- per le **lesioni sessili**, quando possibile, cioè in presenza dei fasci superficiali della muscolare propria (evento raro in corso di polipectomia endoscopica) vanno utilizzati i **livelli di Kikuchi** (i livelli II e III si associano ad alto rischio).

#### II. Misura della profondità e dell'ampiezza di infiltrazione

In aggiunta o in alternativa, quando questi due metodi non possono realisticamente essere applicati, la lesione deve essere misurata secondo l'asse verticale (profondità) e quello orizzontale (ampiezza).

##### ➤ Metodo di misura

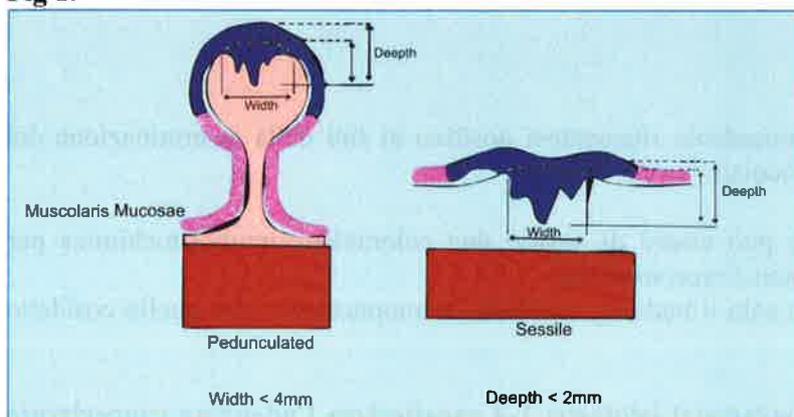
- l'ampiezza massima va misurata nella componente infiltrante;
- la profondità di invasione va misurata a partire dalla muscolaris mucosae.

Quando è possibile identificare la localizzazione della muscolaris mucosae la profondità di invasione va misurata dal bordo inferiore della stessa.

Quando la muscolaris mucosae non è completamente visibile, può essere effettuata la sua stima tracciando una linea virtuale da dove si interrompe a dove diventa nuovamente identificabile.

Nel caso la lesione sia centralmente depressa ed ulcerata, la misura va effettuata a partire dalla superficie.

Fig 1.



#### III. Rapporto percentuale tessuto adenomatoso/adenocarcinoma:

Valutazione quantitativa del rapporto percentuale tra tessuto adenomatoso e carcinomatoso.

Si ritiene che le lesioni in cui la componente adenocarcinomatosa rappresenti più dell'80% del

volume del polipo abbiano un potenziale di rischio maggiore, ma tale dato non ha valore indipendente in analisi multivariata.

Nel caso in cui la lesione sia pressoché completamente costituita da tessuto adenocarcinoso si può usare la dizione di "adenocarcinoma polipoide".

**Per la valutazione dei vari parametri si raccomanda l'esecuzione di sezioni istologiche a differenti livelli.**

## IL REPORT DIAGNOSTICO

La finalità del report istologico nell'adenoma cancerizzato è pertanto quella di fornire gli elementi che ne possano consentire la determinazione del rischio di progressione locale e metastatica, dato fondamentale nella programmazione delle successive scelte terapeutiche (resezione chirurgica versus follow-up clinico-endoscopico). Pur consapevoli dell'oggettiva difficoltà della loro precisa identificazione e del fatto che il peso relativo di ciascuno di essi e gli intervalli di significatività variano a seconda degli studi, gli autori del presente documento hanno convenuto che **sia fortemente raccomandata l'esplicitazione dei seguenti dati:**

- grado di differenziazione del carcinoma (G1-G2 vs G3-G4)
- presenza o assenza di invasione linfovaskolare
- valutazione del "budding" tumorale (assente o presente; basso vs alto grado)
- livelli di Haggitt o Kikuchi (quando possibile)
- spessore massimo di infiltrazione
- ampiezza del fronte invasivo
- rapporto tra componente adenomatosa e adenocarcinoso
- stato del margine di resezione endoscopica (cellule carcinomatose a meno di 1 mm e/o comprese nella banda di diatermocoagulazione)

Non è stato ritenuto di raccomandare l'esplicitazione diretta della valutazione del rischio di progressione locale e/o metastatica, essendo questa ricavabile dai dati forniti nel report.

In accordo con le linee guida europee, inoltre, **il gruppo di lavoro ritiene che:**

- per la valutazione dei vari parametri è raccomandata l'esecuzione di sezioni istologiche a differenti livelli.
- la diagnosi di adenoma cancerizzato deve essere condivisa con un secondo patologo, preferibilmente di altra sede, con esperienza in patologia gastrointestinale
- è fortemente raccomandato che i casi di adenoma cancerizzato vengano discussi in gruppi multidisciplinari.
- è appropriato predisporre audit periodici all'interno dei gruppi multidisciplinari



## TABELLE PER LA DEFINIZIONE DEL RISCHIO TRATTE DALLA LETTERATURA

### Percentuale (valutazione) di rischio di diffusione metastatica linfonodale:

**Minimo rischio:** assenza di parametri istologici qualitativi di alto rischio e la minima (< 500 µm Ueno 2004; < 1000 µm Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum -JSCCR- 2015) profondità di infiltrazione neoplastica della sottomucosa definiscono la lesione come adenoma cancerizzato a minimo rischio (0,7-5%).

**Rischio basso** di diffusione metastatica: >500 µm ma < 2000 µm di profondità di infiltrazione in assenza parametri qualitativi (8-10%)

**Rischio intermedio:** >500 µm ma < 2000 µm di profondità di infiltrazione con uno o più parametri qualitativi (10%-20%)

**Alto rischio** > 2000 µm di profondità di infiltrazione con uno o più parametri qualitativi (20-40%)

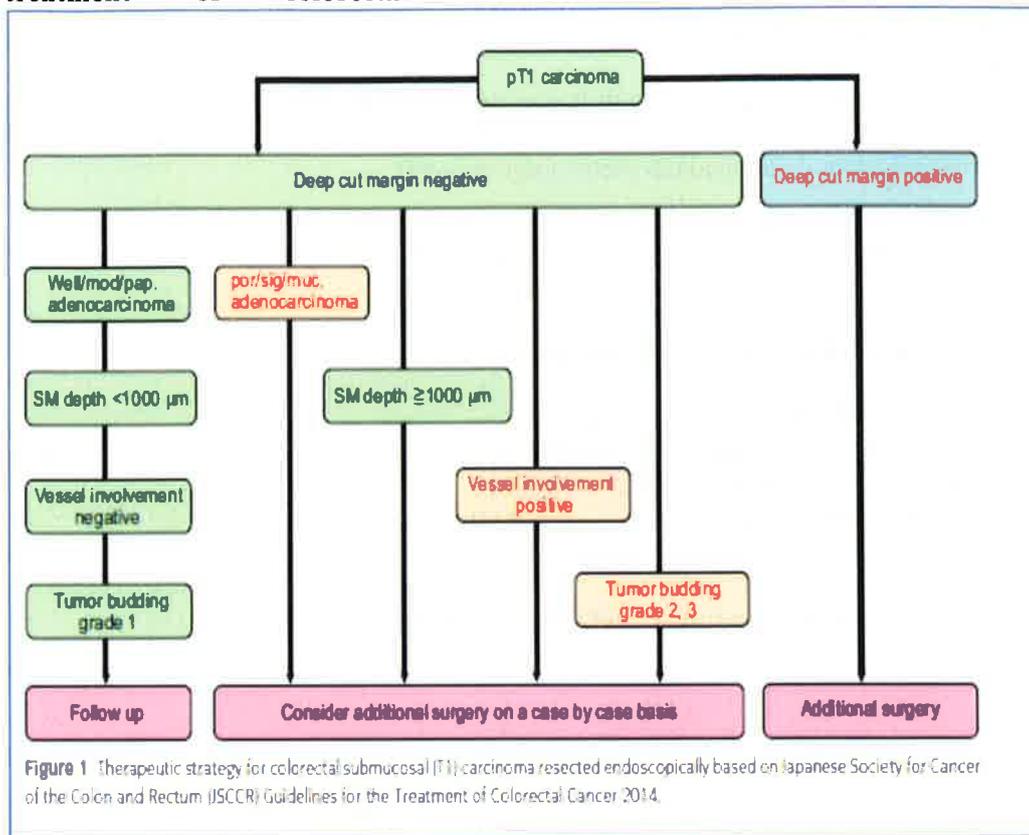
Le linee guida giapponesi 2015 (JSCCR) indicano come parametro per la sola resezione endoscopica 1000 µm ma non tutti sono concordi.

La consensus conference della Società Europea di Colo Proctologia indica che al momento attuale un range di infiltrazione della sottomucosa confinato tra 500 e 1000 µm sia legato ad un minimo o nullo rischio di metastasi linfonodali.

Va ribadito, peraltro, che il livello di infiltrazione preciso corrispondente alla “soglia N0” per “Early Rectal Cancer” non è ancora stato stabilito.

### 2013 The Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland. 15 (Suppl. 2), 1–38

ACPGBI Position Statement		J. G. Williams et al.	
<b>Table 17</b> (a) Scoring the risk of residual disease following resection of a malignant polyp. (b) Risk stratification based on sum of risk factors.			
<b>(a)</b>			
Criteria	Degree of Risk		
Resection Margin < 1 mm	++++		
Resection Margin 1–2 mm	+		
Pedunculated Haggitt level 4	++++		
Sessile: Kukuchi 2	++		
Sessile: Kukuchi 3	++++		
Poor differentiation	+++		
Mucinous tumour	+		
Tumour budding	+		
Lympho-vascular invasion	++		
<b>(b)</b>			
Total score	Grade of Risk	Current estimate of potential % risk of residual cancer	Recommended course of action to be discussed with patient
0	Very Low	< 3%	Routine Follow up
+	Low	< 5%	Assess other factors Careful follow up
++	Medium	5–10%	Discussion of risks/benefit of surgery or follow up with patient
+++	High	8–15%	Discuss risks with patient – err towards surgery
++++ (or more)	Very high	> 20%	Recommend surgery unless patient unfit
Criteria are based on histological description of endoscopically resected malignant polyp weighted for prognostic significance of each risk factor. Where more than one risk factor is present, the degree of risk is added together to give a total risk score.			

**Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) Guidelines 2014 for treatment of colorectal cancer. Int J Clin Oncol 2015**

**ADENOMA CANCERIZZATO: SCHEMA DI REFERTAZIONE**

- Adenocarcinoma in adenoma (adenoma cancerizzato) (pT1)
- Componente adenomatosa tubulare /tubulo-villosa/villosa con displasia di alto grado dell'epitelio
  - Componente adenocarcinomatosa:
    - Grado di differenziazione bene/moderatamente (basso grado) / scarsamente (alto grado) differenziata (sec. WHO 2010)
    - Embolizzazione neoplastica (linfatica/venosa) presente/assente
    - Budding peritumorale assente (< 5 focolai a 20x) \*/ presente, basso grado (<9 focolai a 20x)/alto grado(≥10 focolai a 20x) \*\*
- Microstadiazione (rapporto quantitativo tessuto adenomatoso/adenocarcinoma):
  - Livello di infiltrazione del peduncolo sec. **Haggitt** (peduncolati):
    - non valutabile
    - infiltrazione limitata alla testa del polipo (livello 1)
    - infiltrazione al passaggio testa-peduncolo (livello 2)
    - infiltrazione del peduncolo (livello 3)
    - infiltrazione della sottomucosa sotto il peduncolo (livello 4)
  - Livello di infiltrazione della sottomucosa sec. **Kikuchi** (sessili):
    - non valutabile
    - lieve infiltrazione della sottomucosa (200-300 μm) sm1
    - infiltrazione della sottomucosa intermedio sm2
    - infiltrazione della sottomucosa sino in prossimità della tonaca muscolare propria



(sm3)

- Misurazione micrometrica
  - diametro massimo trasversale (ampiezza) della componente adenocarcinomatosa: mm o  $\mu$ m
  - diametro massimo verticale (profondità) della componente adenocarcinomatosa: mm o  $\mu$ m
- Stato del margine di resezione:
  - indenne
  - la neoplasia coinvolge il margine di resezione endoscopico: (ghiandole adenocarcinomatose sono presenti in corrispondenza del margine di resezione/ < mm 1 dal margine di resezione/ in corrispondenza della banda di elettrofolgorazione)

\*Score di riferimento: < 5 foci = negativo >5 foci = positivo (Ueno, 2004)

\*\*Score di riferimento: 0-9 foci = basso grado; >10 foci = alto grado (Ueno, 2002)

### **Il caso verrà discusso in riunione multidisciplinare**

#### CODICE SNOMED UTILIZZATI FINORA

adenocarcinoma in adenoma tubulo villosa	M82633
adenocarcinoma in adenoma tubulo villosa	M82613
adenocarcinoma in adenomatous polyp	ICD8210/3

Per l'inserimento delle codifiche SNOMED si rimanda al NAP



## BIBLIOGRAFIA:

1. Hamilton SR, Bosman FT, Boffetta P. Carcinoma of the colon and rectum. In: Bosman T, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, editors. WHO classification of tumors of the digestive system. Lyon: IARC Press; 2010. p. 138-9.
2. Quirke P, Risio M, Lambert R, et al. Quality assurance in pathology in colorectal cancer screening and diagnosis-European recommendations. *Virchows Arch* 2011; 458 (1): 1-19
3. Vieth M, Quirke P, Lambert R, et al. Annex to Quirke et al. Quality assurance in pathology in colorectal cancer screening and diagnosis: annotations of colorectal lesions. *Virchows Arch* 2011; 458 (1):21-30
4. Watanabe T Michio Itabashi · Yasuhiro Shimada et al. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) Guidelines 2014 for treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol* 2015; 20:207-239
5. Protocollo diagnostico terapeutico dello screening per la diagnosi precoce del tumore del colon-retto. Emilia Romagna. II edizione – Anno 2012
6. Hassan C, Zullo A, Risio M et al. Histologic Risk Factors and Clinical
7. Outcome in Colorectal Malignant Polyp:A Pooled-Data Analysis. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 1588-96.
8. Williams JG, Pullan RD, Hill J et al. Management of the malignant colorectal polyps: AC-PGBI position statement.
9. *Colorectal Dis* 2013; 15 (Suppl 2): 1-38.
10. Ueno H, Mochizuki H, Hashiguchi Y et al. Risk factors for an adverse outcome in early invasive colorectal carcinoma.
11. *Gastroenterology* 2004; 127: 385-94.
12. Ueno H, Murphy J, Jass JR, Mochizuki H, Talbot I. Tumor budding as index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. *Histopathol* 2002; 40:127-32.
13. Linee Guida AIOM edizione 2015: Tumori del colon retto
14. Morino M • Risio M • Bach S et al. Early rectal cancer: the European Association for Endoscopic
15. Surgery (EAES) clinical consensus conference. *Surg Endosc* 2015; 29:755-773

**PARTE QUINTA**

(referenti dott. Romano Colombari e dott.ssa Maria Lunardi)

**IL CAMPIONE OPERATORIO DI RESEZIONE COLORETTALE**

La completezza e l'accuratezza del referto relativo alle resezioni chirurgiche del carcinoma del colon-retto (CCR) sono i requisiti basilari per determinare la prognosi e per pianificare il trattamento individuale dei pazienti.

Vi è la forte evidenza che l'utilizzo di check-list, sia per la descrizione macroscopica dei campioni pervenuti che per la refertazione, favorisca la standardizzazione del processo diagnostico.

Ad oggi l'utilizzo di check-list strutturate come tali non può essere considerato come un passaggio assolutamente indispensabile in virtù della diversità dei vari sistemi gestionali informatici; ciò che importa, tuttavia, è che, soprattutto all'interno di un programma di screening, i referti diagnostici prodotti nelle varie sedi siano quanto più possibile uniformi e contengano tutte le informazioni ritenute necessarie, indipendentemente dalla formattazione delle stesse.

Sono riportate di seguito le indicazioni generali per l'invio, la descrizione macroscopica e il campionamento dei pezzi operatori e successivamente per la valutazione dei parametri patologici minimi che devono essere specificati nel referto.

**a. Richiesta di esame istologico**

La richiesta di esame istologico deve contenere, oltre ai dati identificativi del paziente e della Struttura inviante, la data e l'ora del prelievo, la sede della neoplasia, il tipo di intervento effettuato e la modalità di invio del campione.

Il medico richiedente dovrebbe, inoltre, allegare la precedente diagnosi su materiale biotico (se effettuata in altra Sede), specificare se la neoplasia sia screening-detected e/o se il paziente abbia storia di malattie infiammatorie croniche intestinali o di carcinoma familiare.

Il patologo dovrebbe essere messo a conoscenza della stadiazione pre-operatoria (cTNM).

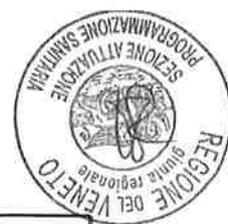
Nella richiesta deve essere indicato necessariamente se sia stata effettuata o meno terapia neoadiuvante (eventuale tipo di trattamento e durata).

**b. Descrizione Macroscopica**

La descrizione macroscopica dovrebbe comprendere: la modalità di invio del campione, il tipo di intervento effettuato, la descrizione e misurazione del pezzo operatorio, la descrizione del tumore e dei linfonodi regionali e la descrizione del colon non neoplastico.



Modalità di invio	a fresco/ in liquido fissativo (formalina tamponata 10%)		
	pervenuto chiuso/aperto		
	presenza di eventuali reperi posti dal chirurgo		
	<i>Il pezzo operatorio a fresco dovrà pervenire in Anatomia Patologica entro un'ora (tempo di ischemia fredda); il tempo di ischemia fredda può essere molto più lungo, senza conseguenze, qualora vengano utilizzati sistemi di conservazione sotto-vuoto; si consiglia di non campionare il pezzo operatorio prima che non siano trascorse almeno 24-48 ore di fissazione in adeguato volume di formalina.</i>		
Tipo di intervento	emicolectomia destra		
	resezione del colon trasverso/emicolectomia destra allargata		
	emicolectomia sinistra		
	sigmoidectomia		
	Resezione anteriore del sigma-retto (RA)*		
	Resezione addomino-perineale (APE)*		
	colectomia totale o subtotale		
Descrizione Campione	altro (specificare)		
	identificazione e misurazione del tratto di colon inviato e di altre strutture /organi presenti (ileo, appendice ciecale, canale anale e cute, omento, tuba uterina, ovaio, utero-vescica..).		
Descrizione del tumore	Sierosa: liscia e lucente, retratta, infiltrata dalla neoplasia		
	Sede del tumore	è generalmente indicata dal clinico nella richiesta; il patologo deve specificare la distanza rispetto ai reperi anatomici identificabili (valvola ileo-ciecale, riflessione peritoneale in RA, linea dentata in APE). <i>La riflessione peritoneale costituisce il reperi macroscopico cruciale per la classificazione dei carcinomi rettali. Questa viene identificata sulla superficie esterna della porzione anteriore del campione. I carcinomi rettali posti interamente al di sotto della riflessione peritoneale presentano la più alta percentuale di recidiva locale (ALLEGATO 1).</i>	
	Caratteri macroscopici	polipoidi	
		vegetante	
		a placca	
		stenosante (anulare)	
		ulcerato	
	diffusamente infiltrativo (tipo linite plastica)		
	Dimensioni del Tumore	Diametro maggiore	
	Livello macroscopico di infiltrazione della parete e delle strutture eventualmente asportate		
Perforazione tumorale	SI/NO <i>Fattore prognostico sfavorevole</i>		
Distanza dal margine	Distale/prossimale (dal più vicino)		
	circonferenziale (radiale) non peritonealizzato		
	mesocolico (distanza dalla radice vascolare del meso) <i>facoltativo</i>		
Piano di escissione meso-rettale (in RA)	Se ne consiglia la valutazione a fresco con eventuale documentazione fotografica secondo la seguente classificazione: fascia mesoretale, piano intramesoretale, piano della tonaca muscolare propria (sec. Nagtegaal 2002 e 2014). <i>Trials clinici hanno dimostrato come la valutazione macroscopica del piano di escissione meso-rettale possa essere predittiva di positività del margine circonferenziale e di recidiva locale (indicatore di qualità). (ALLEGATO 2)</i>		
Piano di escissione sfinteriale (in APE)	<i>Tale area intorno al canale anale necessita di essere valutata separatamente (sec. Nagtegaal 2002 e 2014).</i>		
Linfonodi	numero		
	dimensioni (facoltativo)		
	aspetto (facoltativo)		
Colon non neoplastico	presenza di polipi	sede	
		numero	
	dimensioni		
Presenza di altri processi patologici		ulcera, diverticoli, IBD, ...	



Omento	Noduli metastatici	numero
		dimensioni

\* Le diverse tipologie di intervento per i carcinomi rettali dipendono dalla localizzazione del tumore e dalla profondità di invasione. In casi selezionati la TEM (Transanal Endoscopic Microsurgery) è una possibile opzione terapeutica per tumori in fase iniziale in assenza di metastasi linfonodali.

### c. Procedura di campionamento

Il pezzo operatorio va aperto e lavato evitando se possibile di sezionare la neoplasia, identificandola palpatoriamente. Può essere utile la marcatura dei margini di resezione con inchiostro di china. Si raccomanda di eseguire sempre la procedura di marcatura per la valutazione del margine circonfrenziale nei carcinomi rettali.

I prelievi elencati rappresentano il campionamento minimo raccomandato.

Neoplasia	Devono essere effettuati almeno 4-5 prelievi di tumore rappresentativi del punto di massima infiltrazione, della sierosa, dell'invasione delle vene extramurali (estensione neoplastica ad angolo retto rispetto alla tonaca muscolare), il coinvolgimento di organi adiacenti (se presenti) e la transizione tumore/mucosa (per documentare il possibile residuo adenomatoso). Per permettere ciò, la neoplasia dovrà essere interamente sezionata con sezioni trasversali a intervalli di 3-4 mm. Alcuni carcinomi rettali sottoposti a terapia pre-operatoria neoadiuvante vanno incontro a regressione e non presentano residuo tumorale macroscopicamente evidente; in tali casi tutta l'area cicatriziale <u>dovrà</u> essere esaminata istologicamente e in assenza di residuo microscopico <u>dovranno</u> essere effettuati almeno 3 livelli per blocchetto.
Mucosa normale	Effettuare un prelievo di mucosa apparentemente indenne
Margini	<b>Margine circonfrenziale:</b> nel retto è necessario effettuare almeno un prelievo che comprenda la zona in cui il tumore (massa/noduli) giunga vicino a tale margine, prestando particolare attenzione al margine anteriore. Non c'è uniformità per quanto riguarda la valutazione e l'inserimento nel report del margine circonfrenziale nei segmenti colici non completamente peritonealizzati (colon ascendente e discendente); in tali segmenti si raccomanda comunque di eseguire almeno un prelievo quando il tumore sia vicino a tale margine. <b>Margini prossimale e distale:</b> da campionare se la distanza macroscopica del tumore da uno dei margini sia inferiore a 30 mm.
Altre lesioni	Polipi, diverticoli ed eventuali anomalie mucose macroscopicamente apprezzabili nel colon destro si consiglia di effettuare un prelievo di appendice se presente
Linfonodi	Tutti i linfonodi identificati dovranno essere esaminati in toto, sezionando lungo l'asse maggiore i linfonodi delle dimensioni $\geq 4$ mm. Se possibile sarebbe opportuno tenere separato il linfonodo apicale.

### d. Diagnosi Isto-patologica

Il referto anatomo-patologico definitivo deve contenere tutte le informazioni diagnostiche e prognostico predittive necessarie per l'impostazione dei più adeguati protocolli terapeutici.

Istotipo (WHO 2010)	Adenocarcinoma, NOS Adenocarcinoma mucinoso: componente mucoide >50% Carcinoma a cellule ad anello con castone: componente a cellule a anello con castone >50% Carcinoma midollare Adenocarcinoma serrato Adenocarcinoma cribriforme tipo comedo-like Adenocarcinoma micropapillare
---------------------	---



	<p>Carcinoma adenosquamoso  Carcinoma squamoso  Carcinoma neuroendocrino di alto grado  Altro</p> <p><i>La grande maggioranza dei carcinomi colo-rettali sono adenocarcinomi NOS (85%), il 10% sono adenocarcinomi mucinosi; altri istotipi sono rari.</i></p> <p><i>Sebbene la definizione dell'istotipo non abbia in generale una grande valenza prognostica, alcuni istotipi presentano peculiari caratteristiche clinico patologiche e molecolari, che ne rendono importante la corretta identificazione. Il carcinoma midollare, ad esempio, è associato a instabilità microsatellitare con prognosi relativamente favorevole; il carcinoma a cellule ad anello con castone, al contrario, ha una prognosi sfavorevole indipendente dallo stadio.</i></p> <p><i>La prognosi dell'adenocarcinoma mucinoso rimane controversa, almeno in parte legata al pathway molecolare (in particolare status MSI). Bisogna ricordare come la terapia pre-operatoria neoadiuvante possa indurre un fenotipo mucinoso.</i></p> <p><i>Recentemente è stato descritto anche nel colon, in analogia con altri organi, il raro istotipo micropapillare: si tratta di una variante aggressiva di adenocarcinoma, che si associa a un'alta incidenza di invasione linfovaskolare, di metastasi linfonodali e ad una ridotta sopravvivenza. Alcuni Autori evidenziano l'importanza di segnalare nel referto anche la presenza di una componente micropapillare all'interno di un adenocarcinoma NOS, perché quest'ultima potrebbe avere impatto prognostico.</i></p>
Grado di differenziazione	<p>Adenocarcinoma NOS è tradizionalmente graduato in base all'architettura e specificatamente in base alla formazione di ghiandole/tubuli.</p> <p>Per favorire una migliore riproducibilità è preferibile utilizzare la suddivisione in due sole classi (WHO 2010):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• basso grado (bene/moderatamente differenziato, G1-G2)</li> <li>• alto grado (scarsamente differenziato/indifferenziato, G3-G4)</li> </ul> <p>I carcinomi di alto grado mostrano formazione ghiandolare &lt;50% (assenza di formazione ghiandolare/formazione di piccoli tubuli distorti e irregolari).</p> <p>I carcinomi del CCR sono talora eterogenei; il tumore deve essere classificato in base alle caratteristiche dell'area peggiore, cioè con il minor grado di differenziazione se questa è la predominante, escludendo le aree di dedifferenziazione presenti sul margine di infiltrazione (tumor budding).</p> <p><i>Il grado di differenziazione è una variabile prognostica indipendente dallo stadio, con una prognosi significativamente peggiore per i tumori alto grado, in particolare dopo stratificazione delle neoplasie in base allo status MSI (instabilità microsatellitare).</i></p>
Caratteristiche suggestive di MSI (facoltativo)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• infiltrato linfocitario intratumorale (assente/lieve-moderato/marcato)</li> <li>• infiltrato linfocitario peritumorale Crohn-like (assente/lieve moderato/marcato)</li> </ul>
Livello di infiltrazione	<p>Valutato secondo la classificazione TNM (VII edizione, 2009):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• non evidenza di tumore primario</li> <li>• infiltrazione della sottomucosa (pT1)</li> <li>• infiltrazione della tonaca muscolare (pT2)</li> <li>• infiltrazione a tutto spessore della tonaca muscolare ed invasione della sottosierosa o del tessuto adiposo pericolico o perirettale non rivestito da sierosa (pT3)</li> <li>• infiltrazione della sierosa (pT4a)</li> <li>• infiltrazione di altri organi o strutture (pT4b)</li> </ul> <p>La misurazione microscopica dell'estensione dell'infiltrazione del tessuto adiposo (pT3a&lt;1mm, pT3b:1-5 mm, pT3c: 5-15 mm, pT3d: &gt;15mm) viene considerata facoltativa.</p> <p><i>Il patologo deve valutare con attenzione l'infiltrazione della sierosa peritoneale (indicatore di qualità); l'utilizzo di colorazioni speciali per fibre elastiche rimane controverso.</i></p> <p><i>La presenza di fattori prognostici sfavorevoli (infiltrazione della sierosa, alto grado, chirurgia d'urgenza, perforazione tumorale, invasione delle vene extramurali, &lt;10 linfonodi esaminati) costituisce indicazione alla terapia adiuvante in pazienti in stadio II (stadio II high risk).</i></p>
Fronte di avanzamento (facoltativo)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• espansivo</li> <li>• infiltrativo</li> </ul>
Tumor budding	Gli score di riferimento sono due:



(facoltativo)	<p>a) &lt;5 foci = negativo; ≥ 5 foci = positivo (Ueno 2004) valutati su n. 1 campo a 200X                  b) 0-9 foci = basso grado; ; ≥ 10 foci = alto grado (Ueno 2002) valutati su n. 1 campo a 250X</p>	
Invasione delle vene extramurali	<p>presente                  assente/indeterminata  <i>Fattore prognostico sfavorevole (indicatore di qualità); si sottolinea come l'utilizzo di colorazioni speciali per fibre elastiche sia di ausilio nell'identificazione di tale parametro</i></p>	
Invasione endolinfatica	<p>presente                  assente/indeterminata</p>	
Invasione perineurale	<p>presente                  assente/indeterminata</p>	
Margini prossimale/ distale	<p>Se non esaminati perché il tumore è distante &gt;30 mm, si assume che questi siano negativi. <i>In RA la distanza minima proposta dal margine distale non dovrebbe essere inferiore a cm 1; un recente lavoro suggerisce tuttavia come in tale situazione si potrebbe verificare una sottostadiazione linfonodale</i></p>	<p>non valutabile                  indenne (specificare distanza)                  coinvolto da carcinoma                  asivo                  displasia presente (basso o alto do)</p>
Margine Circonferenziale/ Margine mesenteriale (facolt.)	<p>Tale margine è considerato positivo per valori inferiori a 1 mm  <i>Il patologo dovrà considerare il margine positivo sia per la diretta infiltrazione tumorale sia per la presenza di noduli metastatici. Tale dato deve essere specificato nel referto. (indicatore di qualità) (ALLEGATO 3)</i></p>	<p>non valutabile                  indenne (nel retto la distanza sempre riportata nel referto)                  coinvolto da carcinoma                  asivo</p>
Risposta alla terapia neoadiuvante	<p>La terapia pre-operatoria induce nel carcinoma rettale una serie di alterazioni, tra cui la regressione tumorale ed il downstaging.                  Si propone che la valutazione del grado di regressione sul tumore primitivo venga effettuata secondo il sistema di Ryan et al. (2005):                  assenza di cellule tumorali vitali (grado 0, risposta completa);                  presenza di cellule tumorali singole o in piccoli gruppi (grado 1, risposta moderata)                  prevalenza di fibrosi sulla neoplasia residua (grado 2, risposta minima)                  regressione tumorale minima o assente (grado 3, risposta assente).                  Dopo terapia pre-operatoria solo la presenza di cellule tumorali deve essere valutata dal patologo per determinare lo stadio senza considerare fibrosi, necrosi e laghi di muco acellulari.  <i>I carcinomi rettali con regressione tumorale completa o quasi completa hanno una prognosi più favorevole.</i></p>	
Linfonodi regionali	<p>Valutato secondo la classificazione TNM (VII edizione, 2009):                  pN0 assenza di metastasi linfonodali                  pN1 metastasi in 1-3 linfonodi regionali                  - pN1a metastasi in 1 linfonodo                  - pN1b metastasi in 2-3 linfonodi                  - pN1c presenza di depositi tumorali (noduli satelliti) nel tessuto adiposo pericolico o perirettale in assenza di metastasi linfonodali.                  pN2 metastasi in 4 o più linfonodi regionali                  1. pN2a metastasi in 4-6 linfonodi                  2. pN2b metastasi in 7 o più linfonodi                  Il numero dei linfonodi metastatici e il numero dei linfonodi totali esaminati devono sempre essere riportati nel referto.  <i>Lo stato linfonodale è un fattore prognostico fondamentale; la presenza di metastasi linfonodali costituisce l'indicazione principale alla terapia adiuvante. Nel pezzo operatorio devono essere valutati almeno 12 linfonodi locoregionali. Il numero medio dei linfonodi esaminati non dovrebbe essere inferiore a 12-15 (indicatore di qualità).                  Attualmente non si raccomanda di eseguire di routine più livelli sui blocchetti di linfonodi né di utilizzare di routine determinazioni immunoistochimiche per citocheratine, in quanto non c'è sufficiente evidenza circa il significato prognostico delle cellule tumorali isolate, evidenziabili con tale metodica.</i></p>	
Depositi tumorali (noduli satelliti)	<p>assenti                  presenti (indicare numero, diametro del nodulo maggiore ed eventuale associazione a suto linfatico extra-nodale, strutture venose e nervose).</p>	
Processi patologici	<p>polipi</p>	



associati	malattia diverticolare IBD Perforazione non tumorale, etc.
-----------	--

Deve essere riportata nel referto la presenza di malattia metastatica a distanza (pM1) con fermata istologicamente (noduli sierosi, mesenteriali, omentali e linfonodi metastatici non loco-regionali).

**e. Stadiazione**

Si raccomanda di effettuare la stadiazione secondo AICC/UICC TNM (VII edition 2009) (ALLEGATO 4)

**f. Indicatori di qualità**

- Confronto in audit multidisciplinari periodici riguardo il margine circonfferenziale (positivo in meno del 15% dei casi), numero medio dei linfonodi repertati, invasione delle vene extramurali (>25% dei casi) e coinvolgimento della sierosa peritoneale (>20% dei casi).
- Partecipazione a controlli di qualità (CDQ)

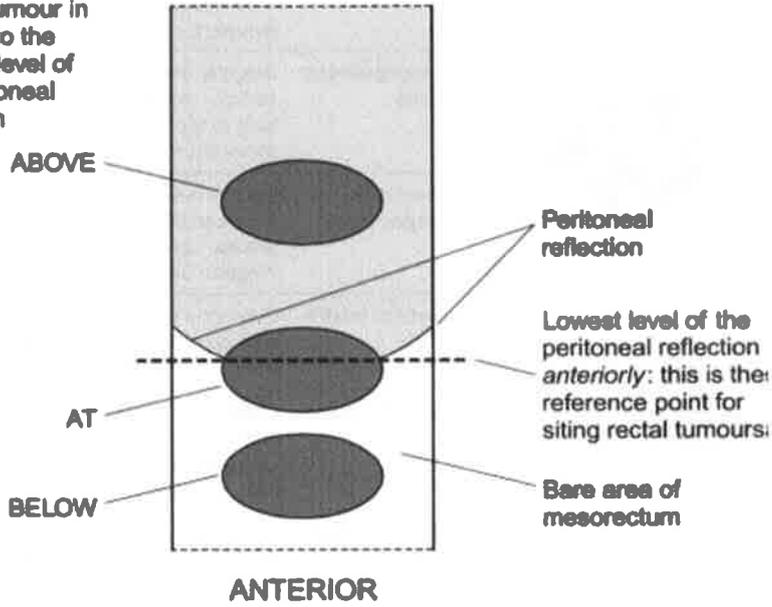
**BIBLIOGRAFIA**

1. AICC/UICC TNM, 7<sup>th</sup> edition, 2009
2. Buiko K, Rutkowski A. Is the 1-cm rule of distal bowel resection margin in rectal cancer based on clinical evidence? A systemic review. *Annals of surgical oncology* 2012; 19;801-808.
3. CAP protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of colon and rectum. October 2013.
4. Lanza G, Messerini L, Gafà R, Risio M. Colorectal tumors: the histology report. *Dig Liv Dis* 2011, 43S; S344-S355.
5. Lee HJ. Colorectal micropapillary carcinomas are associated with poor prognosis and enriched in markers of stem cells. *Mod Path* 2013 Aug 26 (8): 1123-31.
6. Loughray MB, Quirke P, Shepherd NA. Dataset for colorectal cancer histopathology reports. July 2014. <http://www.rcpath.org> .
7. National Comprehensive Cancer Network, Guidelines Version 2014. [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp#site](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site).
8. Nagtegaal ID. Macroscopic evaluation of rectal cancer resection specimen: clinical significance of the pathologist in quality control. *Journal of clinica oncology* 2002; 20, 1729-1734.
9. Nagtegaal ID. Current concepts of colorectal cancer resection pathology. *Histopathology* 2015; 6681; 102-11.
10. Nassar H. Carcinoma with micropapillary morphology: clinical significance e current concepts. *Adv Anat path* 2004 Nov; 11 (6): 297-303.
11. Pryczynicz A. Invasive micropapillary carcinoma: a distinct type of adenocarcinomas in the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2014 April 28; 20 (16): 4597-606.
12. Quirke p, Cuvelier C, Ensari A. Evidence-based medicine: The time has come to set standards for staging. *J Pathol* 2010; 221; 357-360.
13. Quirke P, Risio M, Lambert R, von Karsa L and Vieth M. European guidelines for QA in colorectal cancer screening and diagnosis. 1<sup>st</sup> edition. *Endoscopy* 2012; 44: SE116-SE130.
14. Ryan R, Gibbons D, Hyland JM. Pathologic response following long-course neoadjuvant chemotherapy for locally advanced rectal cancer. *Histopathology* 2005; 47:141-146.
15. Rorvig S, Schlesinger N. Is the longitudinal margin of carcinoma-bearing colon resections a neglected parameter? *Clinical colorectal cancer* 2014; 13; 68-72.
16. Schneider NI, Langner C. Prognostic stratification of colorectal cancer patients: current perspectives. *Cancer Menagement and Research* 2014;6 291-300.
17. WHO classification of tumors of the digestive system. Lyon. IARC Press, 2010.



ALLEGATO 1

Site of tumour in relation to the anterior level of the peritoneal reflection





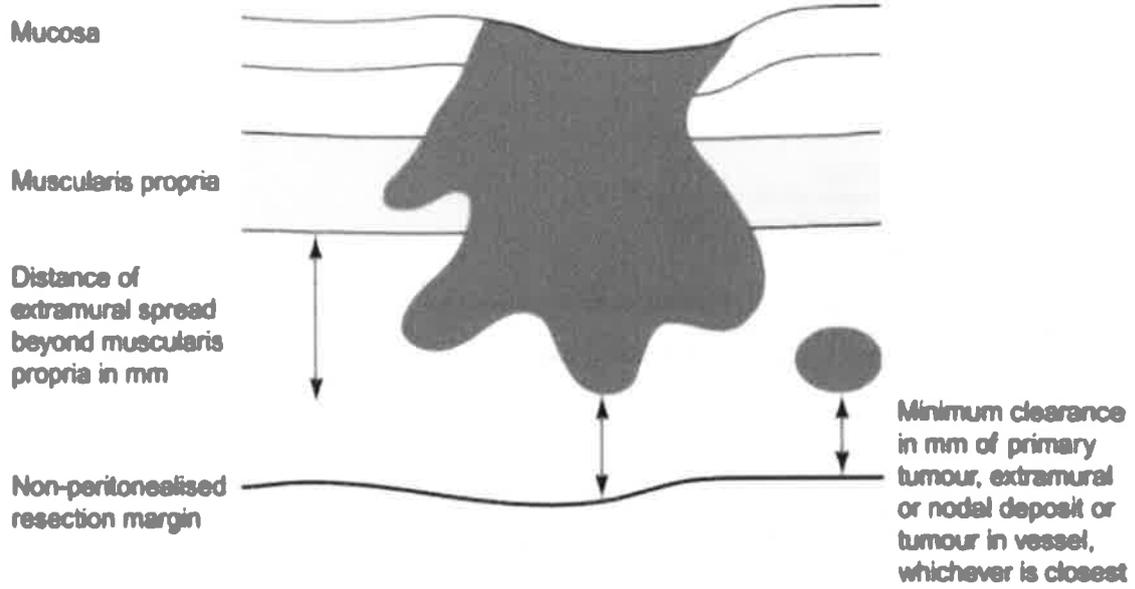
ALLEGATO 2

		Plane of resection	Definition	Implication
Total mesorectal excision (anterior resection or abdomino-perineal resection)		Mesorectal fascia	Smooth CRM, no defects deeper than 5 mm, intact mesorectum	Good prognosis
		Intramesorectal plane	Irregular mesorectal surface, moderate bulk to the mesorectum	Intermediate prognosis
		Muscularis propria plane	Defects down onto the muscularis propria, very irregular CRM	Poor prognosis
Sphincter evaluation (abdomino-perineal resection)		Outside levator plane	Cylindrical specimen, with <i>en bloc</i> resection of levators	Good prognosis
		Sphincter plane	CRM on the surface of the intact sphincteric muscular tube	Intermediate prognosis
		Intramuscular/submucosa plane	Perforation or missing areas of muscle	Poor prognosis
Colon resections		Mesocolic plane	Intact mesocolon	Good prognosis
		Intramesocolic plane	Significant mesocolic defects that do not reveal the muscularis propria	Intermediate prognosis
		Muscularis propria plane	Significant and extensive defects that expose areas of the muscularis propria	Poor prognosis

CRM, Circumferential resection margin.



ALLEGATO 3





**ALLEGATO 4**

**Pathologic Staging (pTNM) (Note M)**

TNM Descriptors (required only if applicable) (select all that apply)

- m (multiple primary tumors)
- r (recurrent)
- y (post-treatment)

**Primary Tumor (pT)**

- pTX: Cannot be assessed
- pT0: No evidence of primary tumor
- pTis: Carcinoma in situ, intraepithelial (no invasion)
- pTis: Carcinoma in situ, invasion of lamina propria
- pT1: Tumor invades submucosa
- pT2: Tumor invades muscularis propria
- pT3: Tumor invades through the muscularis propria into pericolorectal tissues
- pT4a: Tumor penetrates the visceral peritoneum
- pT4b: Tumor directly invades or is adherent to other organs or structures

**Regional Lymph Nodes (pN)**

- pNX: Cannot be assessed
- pN0: No regional lymph node metastasis
- pN1a: Metastasis in 1 regional lymph node
- pN1b: Metastasis in 2 to 3 regional lymph nodes
- pN1c: Tumor deposit(s) in the subserosa, or non-peritonealized pericolic or perirectal tissues without regional lymph node metastasis
- pN2a: Metastasis in 4 to 6 regional lymph nodes
- pN2b: Metastasis in 7 or more regional lymph nodes
- No nodes submitted or found

**Distant Metastasis (pM)**

- Not applicable
- pM1: Distant metastasis
- \*Specify site(s): \_\_\_\_\_
- pM1a: Metastasis to single organ or site (eg, liver, lung, ovary, nonregional lymph node)
- pM1b: Metastasis to more than one organ/site or to the peritoneum

**TNM Stage Groupings**

Stage 0	Tis	N0	M0#	
Stage I	T1	N0	M0	
	T2	N0	M0	
Stage IIA	T3	N0	M0	
Stage IIB	T4a	N0	M0	
Stage IIC	T4b	N0	M0	Stage IIIC
Stage IIIA	T1-T2	N1	M0	T1-T2 N2b M0
	T1	N2a	M0	T4a N2a M0
Stage IIIB	T3-T4a	N1	M0	T3-T4a N2b M0
	T2-T3	N2a	M0	T4b N1-N2 M0
				Stage IVA
				Any T Any N M1a
				Stage IVB
				Any T Any N M1b

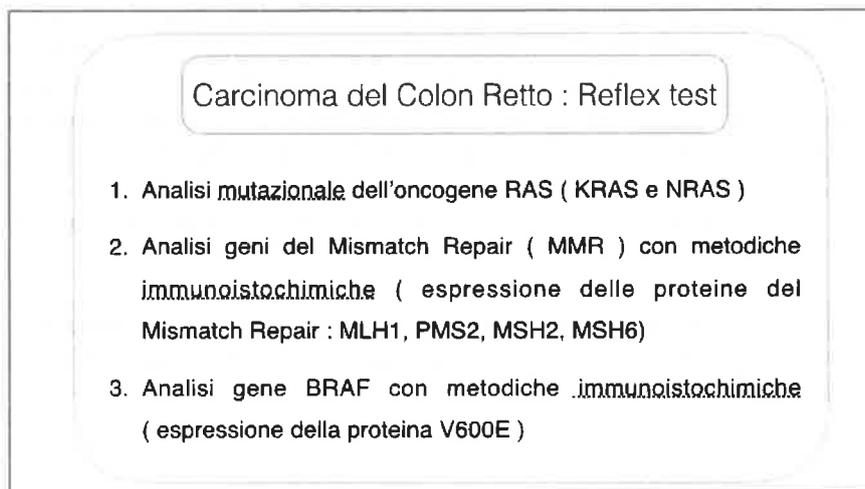
Per l'inserimento delle codifiche SNOMED si rimanda al NAP

**PARTE SESTA**  
(referente dott. Duilio Della Libera)

**ANALISI IMMUNOISTOCHEMICHE E MOLECOLARI FINALIZZATE ALLA CARATTERIZZAZIONE PROGNOSTICO-PREDITTIVA E ALLA RICERCA DELLE FORME EREDITARIE DEL CARCINOMA DEL COLON RETTO (CCR)**

Nella comune pratica clinica le indagini molecolari ritenute al momento fondamentali nella scelta del trattamento medico del CCR in quanto test predittivi di risposta ai farmaci a bersaglio molecolare con valenza prognostica utile nella pianificazione della strategia terapeutica individuale sono costituite dall'analisi mutazionale dell'oncogene RAS (KRAS e NRAS). Tale analisi, in accordo con le raccomandazioni AIOM, trova attualmente indicazione nei soggetti con carcinoma del colon-retto candidati a trattamento in I° linea o in linee successive con farmaci anti-EGFR. Nelle prime fasi diagnostiche può risultare utile la valutazione molecolare a scopo prognostico dello stato di BRAF e dei geni del Mismatch Repair (MMR) con metodiche immunoistochimiche (espressione immunoistochimica delle proteine V600E e del Mismatch Repair) riservando le analisi mutazionali molecolari a un livello successivo.

**Fig.1**



In generale il profiling molecolare del CCR dovrebbe costituire una parte integrante della procedura diagnostica anatomo-patologica e comprendere le seguenti informazioni:

- L'identificazione del paziente e del medico/struttura che ha richiesto l'analisi.
- L'identificazione del campione utilizzato per l'analisi.
- La descrizione macroscopica inclusa la definizione della percentuale di cellule tumorali presenti nel campione, l'eventuale dissezione eseguita, con riferimento dell'anatomo-patologo responsabile.
- La metodica impiegata per l'esecuzione dell'analisi molecolare con riferimento alla sensibilità del metodo, agli esoni/codoni o le specifiche mutazioni sottoposte ad analisi.
- I risultati del test, con specificazione del tipo di mutazione eventualmente rilevata con l'indicazione del responsabile della esecuzione del test molecolare.



Per quanto attiene alla preparazione dei campioni biologici da esaminare, le metodiche di estrazione e di analisi mutazionale del DNA si rinvia alle "Raccomandazioni AIOM e SIAPEC-IAP per la valutazione delle mutazioni di Ras nel carcinoma del colon-retto (2015)".

E' auspicabile e raccomandato l'adesione ai programmi di controllo della qualità patrocinati dall'AIOM-SIAPEC per certificare i laboratori che effettuano analisi mutazionale del gene RAS.

Per contrarre i tempi di refertazione molecolare (a garanzia di una rapida inclusione dei pazienti in adeguati percorsi terapeutici) può essere opportuno iniziare la caratterizzazione mutazionale per i geni KRAS e NRAS, la determinazione immunoistochimica per il gene BRAF e le proteine del MMR parallelamente alla valutazione isto-morfologica come reflex test (Fig 1).

#### **Mutazioni di ras nel carcinoma del colon retto (ccr)**

Mutazioni dei gene KRAS e NRAS sono in genere riscontrate in circa il 40-50% dei carcinomi del colon retto e sono predittive di una resistenza al trattamento con farmaci anti-EGFR. Sulla base di questi risultati, AIFA ha ristretto l'impiego di Panitumumab e di Cetuximab ai soli pazienti RAS wild type (assenza di mutazioni nei codoni 12, 13 dell'esone 2, dei codoni 59, 61 dell'esone 3, e dei codoni 117, 146 dell'esone 4 di KRAS e NRAS). L'analisi mutazionale dei geni KRAS ed NRAS dovrebbe essere eseguita su richiesta dell'oncologo medico in base delle indicazioni dell'AIFA (Agenzia Italiana del Farmaco) per l'utilizzo nel CRC metastatico degli anticorpi monoclonali anti-EGFR. L'analisi dei geni RAS trova attualmente indicazione nei pazienti con carcinoma del colon-retto metastatico per i quali è indicato un trattamento in I linea o in linee successive con un regime di terapia contenente un anticorpo monoclonale anti-EGFR. L'analisi mutazionale di KRAS ed NRAS può essere condotta con diverse metodiche e deve riguardare almeno i codoni 12, 13, 59, 61, 117 e 146 di entrambi i geni. In considerazione dell'alta concordanza fra le mutazioni riscontrate nei carcinomi primitivi e nelle corrispondenti metastasi epatiche, la determinazione dello stato mutazionale di RAS può essere effettuata indifferentemente su tessuto tumorale primitivo o metastatico. Per quanto attiene invece le metastasi linfonodali, visto il riscontro di un tasso di discordanza di circa il 25% tra stato mutazionale di RAS del tumore primitivo e delle metastasi linfonodali, queste ultime non dovrebbero pertanto essere utilizzate in prima istanza se il tessuto del tumore primitivo è disponibile.

Non vi sono controindicazioni di eseguire contestualmente all'esame istopatologico le analisi mutazionali dei geni KRAS ed NRAS (reflex test) al fine di ridurre e ottimizzare i tempi di refertazione e definizione terapeutica.

#### **Studio del mismatch repair del DNA**

Il 15% circa dei carcinomi colo-rettali (CCR) si caratterizzano per una particolare alterazione genetica denominata instabilità dei microsatelliti (elevata MSI-H), causata da un'anomala funzione del sistema di riparazione del DNA mismatch repair (MMR). I due terzi dei CCR con MSI-H sono sporadici, presentano la metilazione somatica biallelica del promoter di MLH1, e si sviluppano secondo la VIA CpG island methylator (CIMP). I rimanenti CCR con elevata instabilità microsatellitare (MSI-H) sono ereditari (Sindrome di Lynch) e derivano da mutazioni germline di uno dei geni del MMR (MLH1, MSH2, e più raramente MSH6 e PMS2) con inattivazione somatica del secondo allele. L'inattivazione genetica germline o epigenetica dei geni del MMR si associa generalmente a perdita di espressione della corrispondente proteina e del corrispondente partner eterodimerico (MLH1 con PMS2 e MSH2 con MSH6).

Le proteine del mismatch repair (MMR) sono un gruppo di enzimi nucleari preposti alla correzione e riparazione degli errori (base-base mismatch) che si verificano durante la replicazione del DNA. Le proteine tendono a formare dei complessi di eterodimeri che legandosi alle aree di DNA alterato ne provocano la rimozione. La perdita delle proteine del MMR comporta un accumulo di errori re-



plicativi nel DNA delle cellule proliferanti, fenomeno piu' evidente in quelle aree genomiche caratterizzate da brevi e ripetitive sequenze nucleotidiche (instabilita' microsatellitare / MSI). La perdita delle funzione delle proteine del MMR si correla generalmente ad un alto grado di instabilita' microsatellitare (MSI-H). La stessa funzione viene generalmente mantenuta in caso di bassa (MSI-L) o nulla (MSS) instabilita' microsatellitare. Sono stati identificati nove geni con funzioni correlate al MMR, cinque dei quali con particolare interesse clinico in quanto correlati allo sviluppo della Sindrome di Lynch (Carcinoma Colo-rettale ereditario non polifonico / HNPCC): MLH1 (49%), PMS1 (0.3%), PMS2 (2%), MSH2 (38%), and MSH6 (9%). Nella formazione degli eterodimeri, MLH1 tende a legarsi con PMS2, PMS1 o MLH3 e MSH2 con MSH6.

Lo studio immunohistochimico delle proteine del MMR costituisce un metodo rapido e affidabile di screening della funzionalita' del sistema del mismatch repair con una sensibilita' pari al 90% e una specificita' vicina al 100% (valori inferiori in caso di mutazioni del gene MLH1). Perdita dell'espressione delle proteine MLH1 e MSH2 si verifica in oltre il 90% di neoplasie con elevata instabilita' microsatellitare (MSI-H). Lo studio immunohistochimico dell'espressione delle proteine del MMR deve comprendere un adeguato controllo interno (tessuto non neoplastico/mucosa colica normale).

Le alterazioni dei partner obbligatori (MSH2 e MLH1) comportano degradazione e quindi perdita di espressione anche del corrispettivo partner secondario, mentre le mutazioni dei partner secondari (MSH6 e PMS2) sono caratterizzate da perdita selettiva della sola espressione di MSH6 o PMS2. Pertanto, l'analisi immunohistochimica dell'espressione delle proteine del MMR consente di identificare il gene che con ogni probabilita' è inattivato, secondo il seguente schema:

ICC	Interpretazione	Commenti	Approfondimenti
<b>Assente espressione di MLH1</b>	Mutazione germline MLH1 Ipermetilazione promoter MLH1	Silenziamento epi genetico del gene MLH1 per ipermetilazione del suo promoter	Analisi mutazionale gene MLH1 Analisi mediazione promoter MLH1 Analisi BRAF V600E
<b>Assente espressione di MLH1 e PMS2</b>	Mutazione germline MLH1 Ipermetilazione promoter MLH1	Espressione ICC di PMS2 assente in caso di mutazione di MLH1 (dimero MLH1/PMS2) Mutazione germline di PMS2 rara	Analisi mutazionale gene MLH1 Analisi mediazione promoter MLH1 Analisi BRAF V600E
<b>Assente espressione di PMS2</b>	Mutazione germline PMS2 Mutazione germline MLH1	Mutazioni germline di PMS2 possono non associarsi a mancata espressione ICC di MLH1 L'assente espressione ICC della sola proteina PMS2 puo' essere espressione di mutazione germline di MLH1	Analisi mutazionale gene PMS2 Analisi mutazionale gene MLH1 se il gene PMS2 non e' mutato
<b>Assente espressione di MSH2</b>	Mutazione germline MSH2 Mutazione germline EPCAM	Forte probabilita' di mutazione dei geni MSH2 o EPCAM Silenziamento epi genetico gene MSH2	Analisi mutazionale gene MSH2 Analisi mutazionale gene EPCAM se il gene MSH2 non e' mutato



ICC	Interpretazione	Commenti	Approfondimenti
<b>Assente espressione di MSH2 e MSH6</b>	Mutazione germline MSH2 Mutazione germline EPCAM Mutazione germline MSH6	Le proteine MSH2 e MSH6 formano un dimero e spesso MSH6 non e' espressa a seguito di una mutazione di PMS2	Analisi mutazionale gene MSH2 Analisi mutazionale gene EPCAM / MSH6 se il gene MSH2 non e' mutato
<b>Assente espressione di MSH6</b>	Mutazione germline MSH2 Mutazione germline MSH6	La proteina MSH2 puo dimerizzarsi con altri partner oltre a MSH6. La mutazione di MSH6 provoca la mancata espressione ICC solo di MSH6	Analisi mutazionale gene MSH6 Analisi mutazionale gene MSH2 se il gene MSH6 non e' mutato
<b>Normale espressione ICC di tutte le proteine del MMR</b>	Non Sindrome di Lynch Possibile mutazione germline non senso in uno dei geni del MMR	La normale espressione ICC delle proteine del MMR non esclude la S.di Lynch. Mutazioni non senso possono esistere in proteine intatte ma non funzionanti	Correlazione con l'instabilita' microsatellitare e con criteri clinico-anamnestici

Lo status del sistema MMR sembra costituire un fattore prognostico indipendente nel carcinoma colo-rettale. Forme di CCR in stadio II e III con instabilita' microsatellitare (MSI) sembrano avere tassi di sopravvivenza maggiori rispetto a forme analoghe MSS e una minor responsivita' a trattamenti chemioterapici adjuvanti con composti a base di 5 fluoro-uracile. Inoltre lo stato del MMR è essenziale nell'iter diagnostico per l'identificazione delle forme ereditarie associate alla sindrome di Lynch. **Per tale motivo se ne consiglia la valutazione quanto più estesa possibile.**

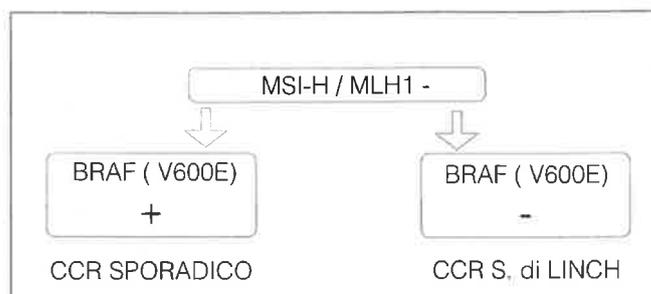
#### **Mutazioni di BRAF nel carcinoma del colon retto**

L'oncogene BRAF codifica una serina/treonina chinasi che agisce a valle del KRAS nella via MAPK. L'azione del BRAF si esplica attivando una chinasi (mitogen activated protein kinase / MAPKK o MEK) che porta alla proliferazione cellulare. In oltre il 90% dei casi la mutazione dell'oncogene riguarda lo scambio Timidina/Adenina al nucleotide 1799 nel domain della chinasi (mutazione V600E) con sostituzione valina/glutamina, attivazione di MEK e una incontrollata proliferazione cellulare EGFR indipendente. Nel CRC le mutazioni KRAS/NRAS e BRAF sono mutuamente esclusive.

Mutazioni di BRAF sono presenti in circa il 10% dei pazienti con carcinoma del colon retto (CCR), sono correlate ad una prognosi sfavorevole della malattia e sembrano rispondere in misura minore a terapie con farmaci anti-EGFR associandosi spesso a condizioni di instabilità microsatellitare (MSI). Le mutazioni di BRAF, al pari delle neoplasie con MSI, prevalgono nei soggetti di età avanzata, di sesso femminile localizzandosi preferibilmente nel colon prossimale. Tali forme inoltre presentano una certa predilezione a metastatizzare in sedi non tipiche, peritoneo e linfonodi a distanza, con un minor numero di metastasi polmonari.

Forme sporadiche di CCR con elevata instabilità microsatellitare (MSI-H) e assente espressione immunostochimica per la proteina MLH1 del MMR presentano frequentemente una mutazione V600E del gene BRAF (reazione ICC positiva per V600E) a differenza delle forme di CCR correlate alla Sindrome di Lynch wild type per BRAF (Fig.2 reazione ICC negativa per V600E).

Fig. 2



Un ulteriore utilizzo della reazione ICC per la ricerca della proteina V600E risiede nello screening delle lesioni serrate. La mutazione V600E del gene BRAF costituisce infatti un marcatore specifico della via serrata nella carcinogenesi del CCR. Non è presente nei convenzionali adenomi, né nei polipi iperplastici tipici e compare nelle lesioni serrate a partire dalla forma microvescicolare del polipo iperplastico connotando un particolare rischio di progressione maligna lungo la via serrata.

### Farmacogenomica

L'utilizzo chemioterapico di farmaci citotossici nella terapia medica del CCR comporta talora problemi legati all'efficacia terapeutica del composto utilizzato e alla sua tossicità. Tali farmaci infatti sono caratterizzati da un complesso metabolismo che prevede attività enzimatiche specifiche il cui deficit si traduce generalmente in una riduzione della compliance terapeutica con conseguente accumulo della sostanza attiva o dei suoi metaboliti con comparsa di una indesiderata tossicità.

Le maggiori problematiche sono connesse alla terapia con fluoropirimidine e irinotecano. Può essere indicato in casi selezionati (valutazione preterapeutica di casi con elevato il rapporto rischio/beneficio in base alle particolari caratteristiche cliniche o in corso di terapia con comparsa di fenomeni inattesi di tossicità o tossicità gastrointestinale di grado  $\geq 3$  o ematologica di grado 4) lo studio della diidropirimidina deidrogenasi (DPD), enzima del metabolismo delle fluoropirimidine, e l'uridina-glucuronosil-transferasi (UGT) del metabolismo epatico dell'irinotecano.

### Classificazione molecolare del carcinoma del colon-retto

Il carcinoma del colon-retto (CCR) è contraddistinto da specifiche alterazioni molecolari a carico di numerosi geni oncosoppressori e oncogeni che complessivamente determinano la trasformazione neoplastica da un normale epitelio colico all'adenocarcinoma invasivo con il tramite di lesioni intermedie (precursori).

Circa il 70-80% dei casi di CRC sono di tipo sporadico e si caratterizzano per un lungo processo di trasformazione multifattoriale con il graduale accumulo di mutazioni somatiche multiple (instabilità cromosomica - CIN) che si associa a gravi anomalie geniche (delezioni ed inserzioni, attivazione di proto-oncogeni, inattivazione di geni tumore soppressore) precocemente a carico del gene APC e tardivamente del gene P53. I rimanenti casi di CRC sono correlati ad una predisposizione familiare o ereditaria ad ammalare di neoplasia colica con riferimento a particolari sindromi genetiche, come la poliposi adenomatosa familiare, associata (FAP) a mutazioni del gene APC (adenomatous polyposis coli), ed il carcinoma del colon-retto ereditario non-poliposico nella sindrome di Lynch, caratterizzato da mutazioni germinali dei geni mismatch repair (MMR).

Nel processo della cancerogenesi del CCR sono note almeno tre vie molecolari (Fig 3):

1. Via dell'instabilità cromosomica (CIN) o "APC pathway" caratterizzata dall'attivazione di oncogeni e inattivazione di geni tumore soppressore con forme sporadiche di CCR o ereditarie (FAP). Le forme sporadiche di CCR presentano precoci mutazioni somatiche bialleliche del gene tumore soppressore APC in oltre l'80% dei casi e le forme ereditarie FAP mutazioni geminali



dello stesso gene. I casi di CCR sporadico prive di mutazioni somatiche del gene APC si caratterizzano per mutazioni del gene codificante la beta-catenina, proteina coinvolta nella stessa cascata di segnali la via Wnt (Wingless type) APC correlata. In oltre il 50% dei casi le forme sporadiche di CCR presentano una mutazione dell'oncogene RAS (generalmente KRAS e meno frequentemente NRAS) che compare precocemente nel processo della cancerogenesi dell'adenocarcinoma colico (presente in oltre la metà degli adenomi colici di dimensioni superiori a 1 cm).

2. Via della disfunzione del sistema del mismatch repair del DNA caratterizzata da due fenomeni principali. Il primo correlato alle forme ereditarie di CCR nell'ambito della Sindrome di Lynch, prevede una o più mutazioni germline a carico dei geni del mismatch repair del DNA che si associa in modo caratteristico all'accumulo ripetuto di brevi sequenze nucleotidiche, i microsatelliti, definendo il fenomeno dell'instabilità microsatellitare (MSI). L'instabilità microsatellitare non è presente in modo esclusivo nella Sindrome di Lynch essendo presente anche nel 15% delle forme sporadiche di CCR. In questi casi l'instabilità microsatellitare non deriva da una mutazione dei geni del MMR ma rappresenta un fenomeno epigenetico con l'ipermetilazione del promoter di un gene del MMR, generalmente MLH1, che comporta il silenziamento trascrizionale dell'espressione del gene ipermetilato.
3. Via dell'ipermetilazione o metilazione aberrante del DNA (CIMP). La trascrizione dei geni è regolata da cosiddette sequenze promotrici che regolano il legame dei fattori di trascrizione al gene di interesse. La metilazione delle sequenze promotrici è un fine meccanismo di regolazione della trascrizione genica, in quanto altera la capacità dei fattori di trascrizione di legarsi ad esse e promuovere la trascrizione. Questa via di cancerogenesi prevede l'ipermetilazione di particolari sequenze nucleotidiche, le isole CpG (CIMP) dei promotori di molti geni coinvolti nella genesi del CRC. Le isole di CpG sono segmenti di DNA (di almeno 0.5 kb) con un alto rapporto G:C e elevato contenuto CpG, spesso localizzate nelle regioni promoter o nelle sequenze terminali-5' dei geni. Il 90% delle isole CpG delle regioni promoter sono in condizioni normali non metilate. Il verificarsi di una condizione di ipermetilazione altera il legame fra il DNA e le proteine istoniche con il concorso di un enzima, la istone-deacetilasi e trasforma la struttura cromatinica delle regioni del promoter in una struttura chiusa, inaccessibile ai fattori di trascrizione con il risultato dell'inattivazione genica. In queste condizioni l'ipermetilazione delle isole CpG del promoter rappresenta un meccanismo alternativo alla mutazione genica per l'inattivazione di geni tumore soppressore nei tumori umani. Nel caso del CCR sono coinvolti i geni del MMR con una instabilità microsatellitare (MSI) su base epigenetica. Le forme sporadiche di CCR CIMP+ con instabilità microsatellitare (MSI-H) generalmente non presentano mutazione a carico dei geni RAS ma mutazioni del gene BRAF e costituiscono un sottogruppo di neoplasie correlate alla cancerogenesi lungo la via delle lesioni serrate.

Fig 3

	PATWAY INSTABILITA' CROMOSOMICA	PATWAY IBRIDA	PATWAY MISMATCH REPAIR	PATWAY	CIMP / SE RATA
	EREDITARIA E SPORADICA	SPORADICA	EREDITARIA ( S. DI LINCH )	EREDITARIA E SPORADICA	
Instabilita' cromosomica ( CIN )	<b>PRESENTE</b>	<b>PRESENTE</b>	ASSENTE	ASSENTE	ASSENTE
CIMP status	NEGATIVO	<b>BASSO</b>	NEGATIVO	<b>ALTO</b>	<b>ALTO</b>
MSI status	MSS	<b>MSI-L o MSS</b>	<b>MSI-H</b>	<b>MSI-H</b>	<b>MSI-L</b>
Mutazione KRAS	<b>+++</b>	<b>+++</b>	+ / -	-	-
Mutazione BRAF	-	-	-	<b>+++</b>	<b>+++</b>
MLH1 status	NORMALE	NORMALE	<b>MUTATO</b>	<b>METILATO</b>	<b>METILATO (PARZIALE)</b>
Metilazione MGMT	-	<b>+++</b>	-	+ / -	<b>+++</b>

I geni del Mismatch Repair (MMR) sono preposti al controllo e alla riparazione degli errori che si verificano durante il processo di replicazione del DNA (MLH1, MSH2, PMS2 e MSH6). In circa il 15 dei casi di CCR si verifica la perdita di espressione del prodotto genico del sistema MMR dovuto generalmente ad alterazioni epigenetiche che silenziano l'espressione genica (generalmente ipermetilazione del promoter di entrambi gli alleli del gene MLH1) e in minor misura da mutazioni germline a carico di uno o piu' di questi geni sono alla base della Sindrome di Linch (SL). Esistono due possibili varianti legate la prima, Sindrome Linch like, alla presenza di instabilità microsatellitare (MSI) con anomala espressione di una proteina del MMR dovuta nè a mutazione germline, nè a ipermetilazione del promoter ma a una mutazione somatica acquisita bilancia di un gene del sistema MMR. La seconda variante, Sindrome familiare del carcinoma colo-rettale Tipo X (FCCTX) pur soddisfacendo i criteri di Amsterdam, si differenzia dalla SL per l'assenza di anomalie o mutazioni del sistema MMR e dall'assenza di rischio di sviluppare neoplasie extracoliche. Un'ultima variante riguarda la Sindrome di Linch soprattutto nelle forme con tumori extracolici in generale e endometriali in particolare. In questi casi il gene MSH2 del MMR viene silenziato in maniera epigenetica da una ampia delezione che interessa il gene contiguo EpCAM. La conseguenza del funzionamento anomalo del sistema del Mismatch Repair (MMR) oltre al verificarsi di ripetuti errori replicativi del DNA è data dall'accumulo di corte sequenze anomale di nucleotidi chiamate microsatelliti che tendono ad accumularsi nelle regioni promoter dei geni che controllano la crescita cellulare, rendendoli vulnerabili a mutazioni. Questo fenomeno prende il nome di Instabilità Microsatellitare (MSI) e costituisce la "footprint" biologica del funzionamento anomalo del MMR.



L'Instabilità Microsatellitare (MS) viene valutata testando i loci specifici con un panel di sequenze mono-dinucleotidiche; l'instabilità microsatellitare viene definita alta (MSI-H) quando presente in oltre il 40% dei loci e bassa (MSI-L) quando inferiore al 40%. Se assente si parla di Instabilità Microsatellitare assente (MSS).

Le neoplasie correlate alla Sindrome di Lynch e al 15% delle forme sporadiche di CCR presentano un condizione di elevata instabilità microsatellitare (MSI-H). Queste varianti di adenocarcinoma tendono ad avere caratteristiche anatomico-cliniche particolari: prevalenza nel colon destro, grading elevato, prevalente componente mucinosa, ricco infiltrato linfocitario intratumorale e lunga sopravvivenza.

Per quanto riguarda le neoplasie con bassa instabilità microsatellitare (MSI-L), a differenza delle forme MSI-H, non sono generalmente associate a difetti del sistema MMR (mutazione germline o ipermetilazione promoter gene MLH1). In una bassa percentuale di casi si associano a perdita di espressione del gene MSH3 del sistema MMR che costituisce un elemento prognostico negativo. In una buona percentuale di casi si associa a metilazione del promoter del gene O-6 Metilguanina DNA metiltransferasi (MGMT) con instabilità del MMR di tipo MSI-L. La metilazione di MGMT rara nella sindrome di Lynch e' presente in un'elevata percentuale di casi di lesioni serrate (25% adenomi serrati sessili, 78% adenomi serrati dislessici, 50% adenocarcinomi serrati) e suggerisce un ruolo della MSI-L nella via CIMP/Serrata della cancerogenesi del CCR.

#### ➤ **Sindromi di predisposizione ereditaria al carcinoma del colon-retto**

Il 5% circa dei casi di carcinoma del colon-retto è portatore di alterazioni genetiche predisponenti allo sviluppo della neoplasia. Da una parte le forme non poliposiche che si riferiscono principalmente alla sindrome di Lynch (HNPCC / Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer), dall'altra le forme poliposiche ( Adenomatosi famigliare classica/ FAP o attenuata/AFAP, poliposi associata a mutazione MutYH / MAP ).

Non esiste un accordo universale sugli elementi diagnostici minimi utili a identificare pazienti portatori di mutazioni associate a sindromi conosciute da avviare alla consulenza oncogenetica. Tuttavia sulla base delle linee guida di Amsterdam e Bethesda si suggerisce di considerare alcuni elementi clinici di sospetto sulla base delle caratteristiche della neoplasia e sull'anamnesi oncologica del paziente e della sua famiglia:

- neoplasia con elevata instabilità microsatellitare ( MSI ) ad alto grado di malignità, fenotipo mucinoso o a cellule ad anello con castone, con infiltrato linfocitario tumorale Crohn like.
- neoplasie con elevata instabilità microsatellitare ( MSI ) con mancata espressione immunostochimica di una o più proteine del Mismatch Repair ( MMR )
- età inferiore ai 50 anni
- neoplasie del colon prossimale
- neoplasie multiple , sincrone o metacrone nello stesso paziente
- neoplasie utero-ovariche, pelvi-ureterale, del pancreas, stomaco e prostata in età inferiore ai 50 anni
- polipi/poliposi associata al carcinoma colo-rettale
- più casi di neoplasia nello stesso gruppo parentale di I/II grado ( materno e paterno )
- presenza in famiglia di almeno un caso di neoplasia in età inferiore ai 50 anni

Per quanto attiene alla sindrome di Lynch i dati della letteratura consigliano di eseguire un test di screening con la valutazione immunostochimica delle proteine del MMR eventualmente seguita dalla valutazione della instabilità microsatellitare su tutti i campioni di tumore (Fig.4). In caso di instabilità dei microsatelliti (MSI) o immunostochimica con mancata espressione delle proteine codificate dai geni del Mismatch Repair (MMR) vi è indicazione della ricerca della mutazione ereditaria su campione di sangue dei geni del MMR (MLH1, PMS2, MSH2, MSH6). In caso di riscontro di mutazione, è in carico al genetista l'inquadramento clinico del paziente e, sulla base della storia famigliare, della componente parentale del paziente.





## BIBLIOGRAFIA

1. Raccomandazioni AIOM e SIAPEC-IAP per la valutazione delle mutazioni di RAS nel carcinoma del colon retto. Gruppo di lavoro AIOM e SIAPEC-IAP 2015
2. Giardiello F.M., Allen JI, Jennifer E. Axilbund, Boland C.R., Burke C.A et al Guidelines on Genetic Evaluation and Management of Lynch Syndrome: A Consensus Statement by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. Am J Gastroenterol advance online publication, 29 July 2014; doi: 10.1038/ajg.2014.186
3. Newton ACS Wong; David Gonzalez; Manuel Salto-Tellez; Rachel Butler; Salvador J Diaz-Cano; Mohammad Ilyas RAS Testing of Colorectal Carcinoma—A Guidance Document From the Association of Clinical Pathologists Molecular Pathology and Diagnostics Group.; William Newman; Emily Shaw; Philippe Tanriere; Shaun V Walsh . J Clin Pathol. 2014;67(9):751-757
4. Guideline on the Evaluation of Molecular Markers for Colorectal Cancer Expert Panel Draft Recommendations Summary for Open Comment Period. ASCO 2015
5. Linee guida dei Tumori del colon retto. AIOOM 2015
6. Recommendations from the eGAPP Working Group: can testing of tumor tissue for mutations in eGFR pathway downstream effector genes in patients with metastatic colorectal cancer improve health outcomes by guiding decisions regarding anti-eGFR therapy? Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group Genetics in medicine. Volume 15. Number 7 July 2013
7. Kuan SF, Navina S, Cressman KL, Pai RK. Immunohistochemical detection of BRAF V600E mutant protein using the VE1 antibody in colorectal carcinoma is highly concordant with molecular testing but requires rigorous antibody optimization. Hum Pathol. 2014 Mar; 45(3):464-72. Epub 2013 Nov 4.
8. Capper D, Voigt A, Bozukova G, Ahadova A, Kickingereeder P, von Deimling A, von Knebel Doeberitz M, Kloor M. 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. Epub 2013 Apr 25.
9. DNA mismatch repair and BRAF status in colorectal cancer: Interest for the therapeutic management?. Bull Cancer. 2015 Jun ;102(6 Suppl 1):S72-81
10. Lipsyc M, Yaeger R. Impact of somatic mutations on patterns of metastasis in colorectal cancer. J Gastrointest Oncol 2015;6 (6):645-649. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2015.045
11. Ben Tran, MBBS, FRACP, Scott Kopetz, MD, Jeanne Tie, MBBS, MD, FRACP, Peter Gibbs, MBBS, MD, FRACP, Zhi-Qin Jiang, MD, Christopher H Lieu, MD, Atin Agarwal, MD, Dipen M Maru, MD, Oliver Sieber, PhD, and Mayesh Desai, MBBS, FRACP . Impact of BRAF Mutation and Microsatellite Instability on the Pattern of Metastatic Spread and Prognosis in Metastatic Colorectal Cancer . Cancer. 2011 October 15; 117(20): 4623–4632
12. Callisia N. Clarke, E. Scott Kopetz. BRAF mutant colorectal cancer as a distinct subset of colorectal cancer: clinical characteristics, clinical behavior, and response to targeted therapies. J Gastrointest Oncol 2015;6(6):660-667
13. Gyeong Hoon Kang. Four Molecular Subtypes of Colorectal Cancer and Their Precursor Lesions. Arch Pathol Lab Med—Vol 135, June 2011
14. Jung Ho Kim, Gyeong Hoon Kang. Molecular and prognostic heterogeneity of microsatellite-unstable colorectal cancer .World J Gastroenterol 2014 April 21; 20(15): 4230-4243
15. Giovanni Lanza, Luca Messerini, Roberta Gafà, Mauro Risio. Colorectal tumors: The histology report. Digestive and Liver Disease 43S (2011) S344–S355
16. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. Cancer Res. 1998; 58 (22):5248-5257.



17. Bellizzi AM, Crowder CD, Marsh WL, Hampel H, Frankel WL. Mismatch repair status in a cohort of rectal adenocarcinomas before and after chemoradiation. *Mod Pathol.* 2010;23:137A.
18. Radu OM, Nikiforova MN, Farkas LM, Krasinskas AM. Challenging cases encountered in colorectal cancer screening for Lynch syndrome reveal novel findings: nucleolar MSH6 staining and impact of prior chemoradiation therapy. *Hum Pathol.* 2011; 42(9):1247-1258.
19. Shia J, Zhang L, Shike M, et al. Secondary mutation in a coding mononucleotide tract in MSH6 causes loss of immunoeexpression of MSH6 in colorectal carcinomas with MLH1/PMS2 deficiency. *Mod Pathol.* 2013;26(1):131-138.
20. Domingo E, Niessen RC, Oliveira C, et al. BRAF-V600E is not involved in the colorectal tumorigenesis of HNPCC in patients with functional MLH1 and MSH2 genes. *Oncogene.* 2005; 24 (24):3995-3998.
21. Senter, L, Clendenning, M, Sotamaa, K, et al. The clinical phenotype of Lynch syndrome due to germline PMS2 mutations. *Gastroenterology.* 2008; 135 (2):419-428.
22. Bessa X, Balleste B, Andreu M, et al. A prospective, multicenter, population-based study of BRAF mutational analysis for Lynch syndrome screening. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008; 6 (2):206-214.
23. Allegra CJ, Jessup JM, Somerfield MR, et al. American Society of Clinical Oncology Provisional Clinical Opinion: testing for KRAS gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy. *J Clin Oncol.* 2009;27(12):2091-2096.
24. De Roock, Claes B, Bernasconi D, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol.* 2010;11(8):753-762.
25. De Roock, De Vriendt V, Normanno N, Ciardiello F, Tejpar S. KRAS, BRAF, PIK3CA, and PTEN mutations: implications for targeted therapies in metastatic colorectal cancer. *Lancet Oncol.* 2011;12(6):594-603.
26. Prenen H, De Schutter J, Jacobs B, et al. PIK3CA mutations are not a major determinant of resistance to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab in metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15(9):3184-3188.
27. Laurent-Puig P, Cayre A, Manceau G, et al. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27(35):5924-5930.