

**ATTUALITÀ NELLA TERAPIA  
INTEGRATA LOCOREGIONALE DELLE  
NEOPLASIE DELLE VIE AEREE  
DIGESTIVE SUPERIORI**

**DIAGNOSTICA  
ANATOMOPATOLOGICA**

Taranto 12-14 gennaio 2012

Dott. Fabrizio Liberati UO Anatomia Patologica Rieti

- **Lesioni squamose intraepiteliali (SILs)**
- **Carcinoma squamoso basaloide e suoi simulatori**
- **p16 nei carcinomi della testa collo**
- **Carcinomi midline NUT (NMC)**



# LESIONI SQUAMOSE INTRAEPITELIALI

## Definizioni cliniche

- Leucoplachia
- Eritroplachia
- Laringite cronica
- Cheratosi

## Definizioni anatopatologiche

- Cheratosi
- Displasia
- Neoplasia intraepiteliale squamosa (SIN)
- Neoplasia intraepiteliale laringea (LIN)



# CLASSIFICAZIONI DELLE SIL

## WHO 2005

- Iperplasia a cellule squamose
- Displasia lieve
- Displasia moderata
- Displasia severa
- Carcinoma in situ (CIS)

## Ljubljana

- Iperplasia a cellule squamose
- Iperplasia basale/parabasale
- Iperplasia atipica
- Carcinoma in situ

## Sistema binario

- ☐ Iperplasia/Cheratosi
- ☐ SIN I (low grade)
- ☐ SIN II (high grade)



# CLASSIFICAZIONE WHO

**Iperplasia benigna/cheratosi**  
anormale grado di  
cheratinizzazione  
(orto/paracheratosi)

**Displasia lieve**  
atipia architetturale  
e citologica  
confinata allo strato  
basale e parabasale

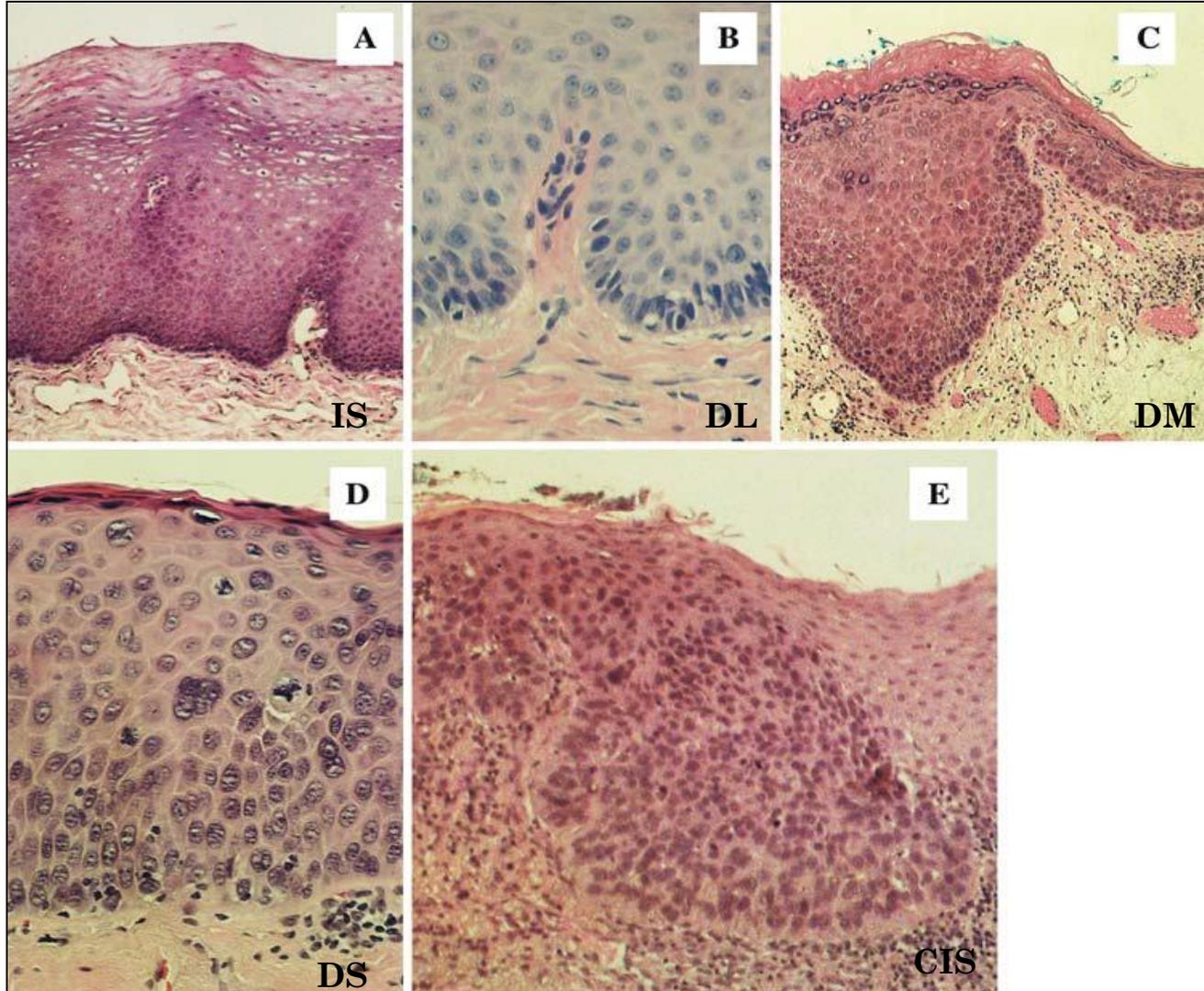
**Displasia moderata**  
modificazioni atipiche con  
mitosi e discheratosi nello  
strato spinoso

**Displasia severa**  
modificazioni  
cito/architetturali con  
mitosi atipiche fino agli  
strati superficiali

**Carcinoma in situ**  
modificazioni atipiche a  
tutto spessore



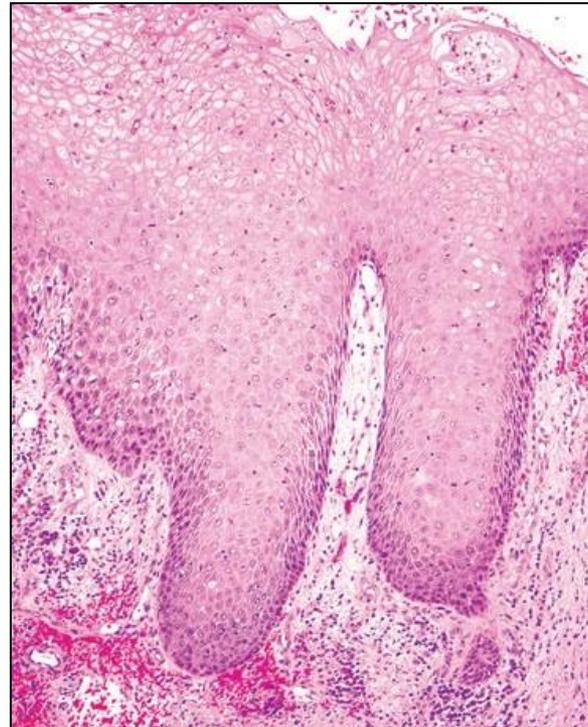
# WHO 2005



# CLASSIFICAZIONE DI LJUBLJANA

## Iperplasia squamosa

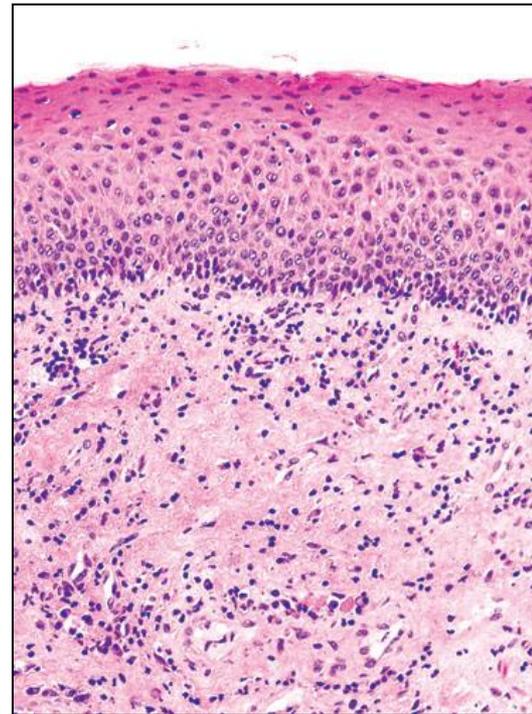
- ❖ Epitelio iperplastico
- ❖ Incremento dello strato spinoso
- ❖ Strato basale /parabasale immodificato
- ❖ Normale maturazione
- ❖ Assente atipia cellulare
- ❖ Infrequenti mitosi tipiche nello strato basale



# CLASSIFICAZIONE DI LJUBLJANA

## Iperplasia basale/parabasale

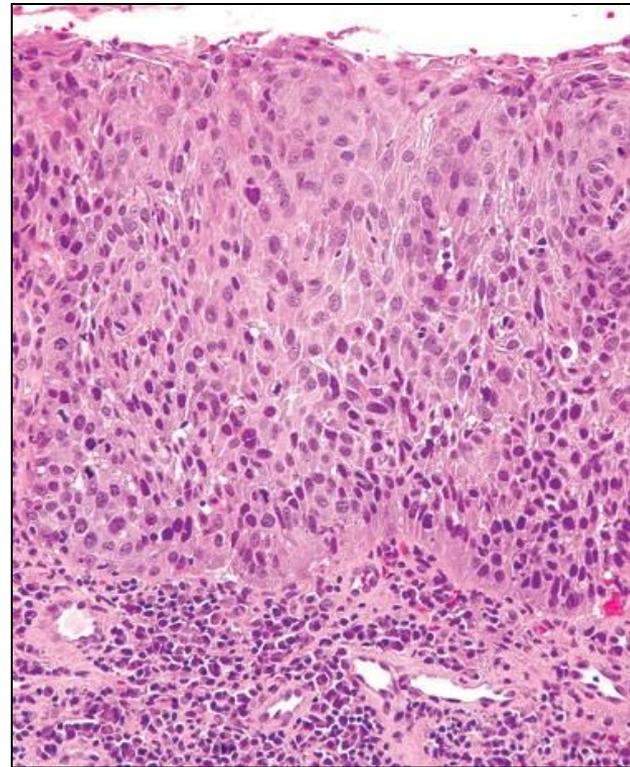
- ❖ Incremento dello strato basale/parabasale
- ❖ Cellule basali perpendicolarmente orientate e strato spinoso orizzontale
- ❖ Cellule parabasali con nuclei lievemente allargati
- ❖ Mitosi tipiche rare negli strati basali
- ❖ < del 5% di cellule discheratosiche



# CLASSIFICAZIONE DI LJUBLJANA

## Iperplasia atipica

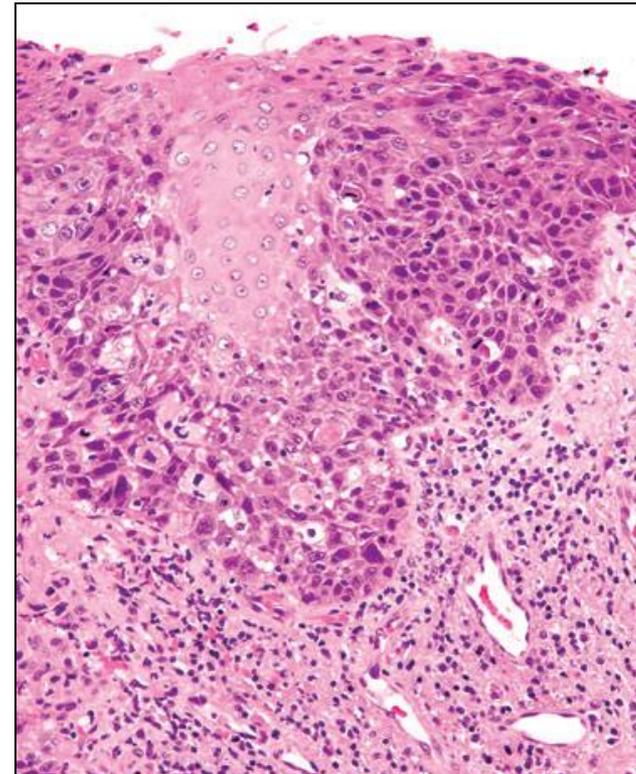
- ❖ Stratificazione ancora evidente
- ❖ Aumento delle cellule con atipie nucleari e orientamento perpendicolare
- ❖ Aumentato rapporto nucleo/citoplasmatico
- ❖ Aumento delle mitosi principalmente nei 2/3 inferiori
- ❖ Cellule discheratotiche ed apoptotiche



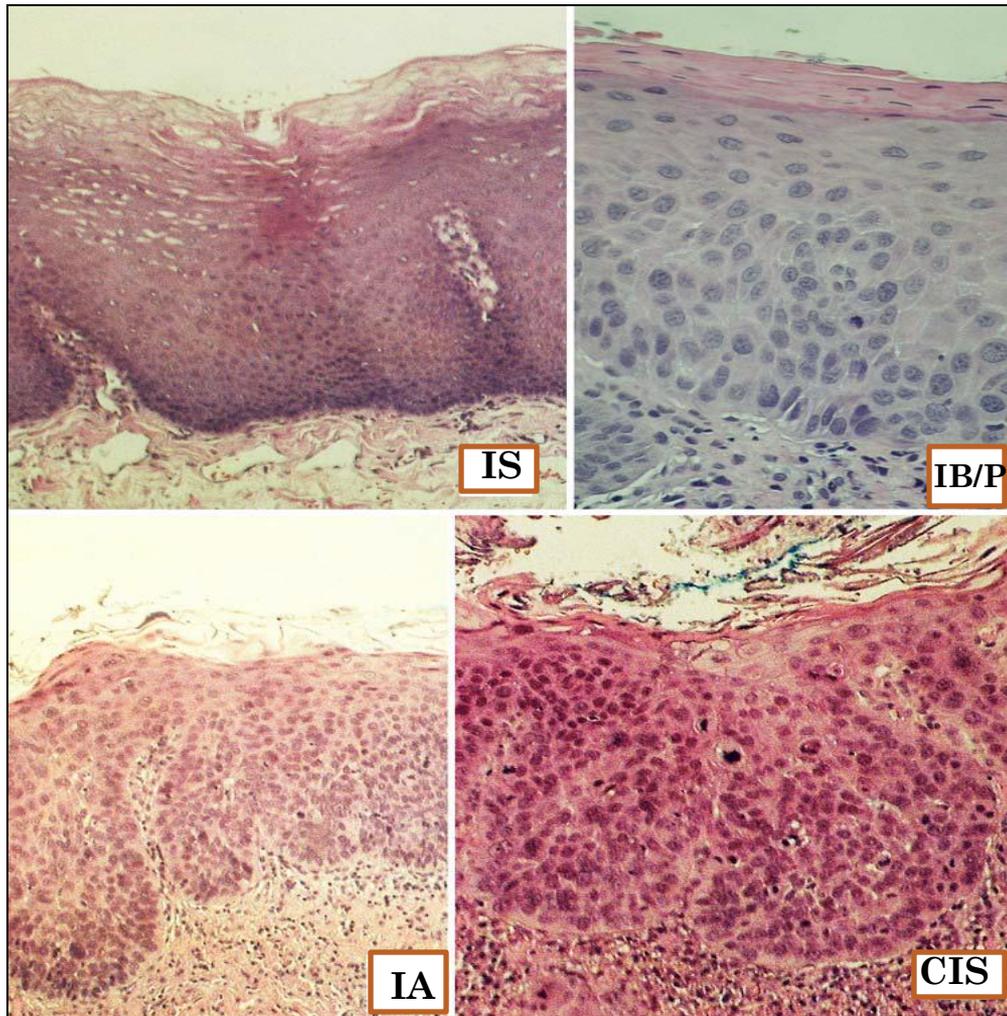
# CLASSIFICAZIONE DI LJUBLJANA

## Carcinoma in situ

- ❖ Perdita di stratificazione o maturazione dell'epitelio superficiale
- ❖ Marcate atipie cellulari
- ❖ Mitosi anche atipiche in tutto l'epitelio (spesso > di 5 per hpf)
- ❖ Cellule discheratotiche ed apoptotiche



# CLASSIFICAZIONE DI LJUBLJANA



# DIFFERENZE TRA CLASSIFICAZIONI WHO LJUBLJANA E SIN

- Difficile distinzione tra iperplasia ed iniziale displasia e tra displasia moderata e severa nella classificazione WHO.
- Per definizione ciascun grado è un precursore in DS compresa la displasia lieve mentre in LC l'iperplasia B/PB è considerata benigna con minimo rischio.
- Iperplasia atipica della LC è simile alla displasia moderata di DS ma parzialmente include anche la displasia severa.
- Alcuni casi di displasia severa non contemplano tutti i caratteri per essere inclusi nella categoria CIS della LC.
- Utilizzo del termine neoplasia è eccessivo nella SIN per forme benigne a minimo rischio di trasformazione.



# RIPRODUCIBILITÀ DELLE CLASSIFICAZIONI

- Indipendentemente dal sistema classificativo usato la concordanza tra patologi è sufficiente ma non elevata.
- La classificazione di Ljubljana ha evidenziato una maggiore riproducibilità rispetto alla WHO.
- Il sistema di grading binario (SIN) ha dato risultati controversi circa una maggiore riproducibilità diagnostica.
- La maggior riproducibilità si ha quando ci si limita a distinguere lesioni displastiche da lesioni non displastiche.



# PREDIZIONE DI TRASFORMAZIONE MALIGNA

- Iperplasia squamosa e KWA: **0% al 4.1%**
- Displasia lieve, SIN I, LIN I, Iperplasia B/PB: **0% all'11,5%**
- Displasia moderata, SIN II, LIN II, Iperplasia atipica: **4% al 24%**
- Displasia severa, SIN III, LIN III, iperplasia atipica e CIS: **9,3% al 57%**



# PREDIZIONE DI TRASFORMAZIONE MALIGNA

- Differenti criteri morfologici classificativi
- La maggiore discordanza si evidenzia nelle lesioni del terzo gruppo a causa dell'utilizzo come sinonimi di displasia severa e CIS
- Non corretto campionamento bioptico.
- Non modificazione di stili di vita (fumo, abuso di alcool, GERD non trattata)

**La grande maggioranza delle lesioni precancerose indipendentemente dalla presenza di displasia non progrediscono verso un carcinoma invasivo.**



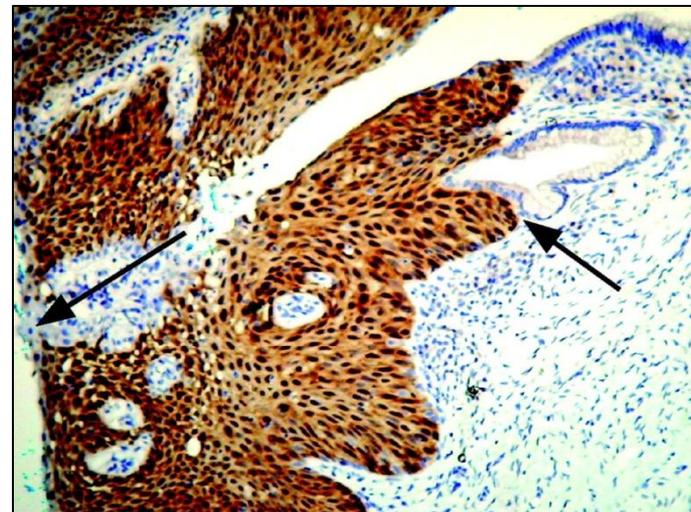
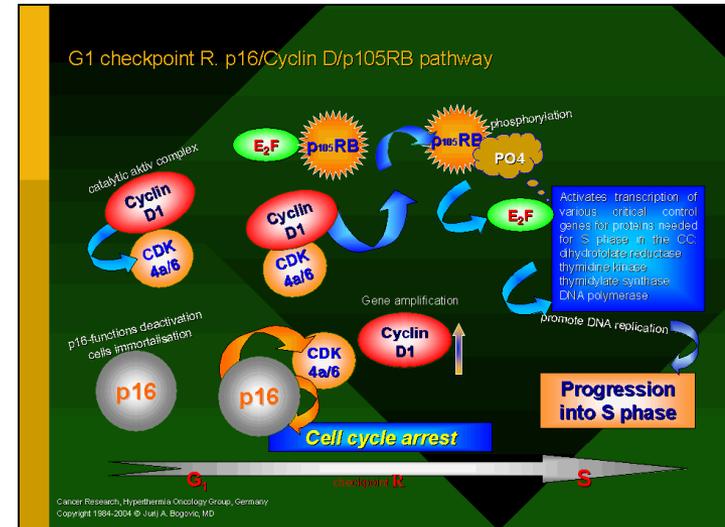
# ASPETTI MOLECOLARI DI CARCINOGENESI

- Alterazioni dei tumor-suppressor genes (p16, p53, FHIT)
- Alterazioni di oncogeni (bcl1, ciclina D1/PRAD1, int-2, hst-1)
- Alterazioni con protein overexpression (EGFR, eIF4E)
- Riattivazione delle telomerasi
- Instabilità microsatellitare
- Alterazioni dei complessi Mcm 2-7



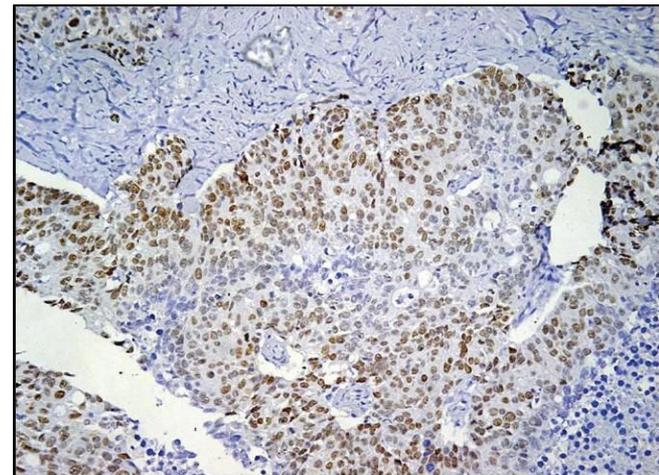
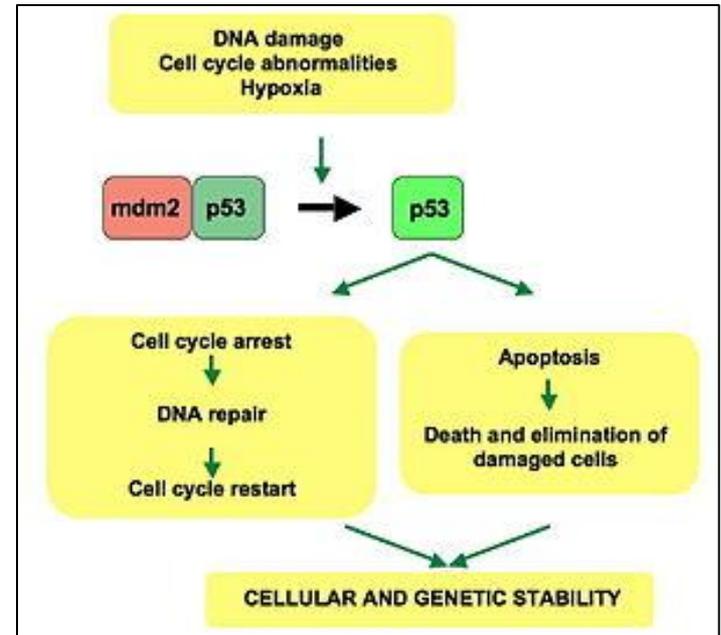
# P16 IN SIL

- Gene p16 cromosoma 9p21
- Mutazioni, delezioni (LOH), ipermetilazioni.
- Perdita della regione 9p21 è un evento precoce nella carcinogenesi documentato anche nella metaplasia squamosa (Yoo 2004) e nell'iperplasia (Hasina 2004)



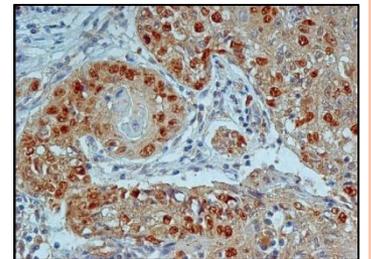
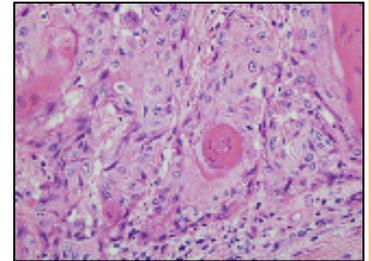
# P53

- p53 gene è localizzato sul cromosoma 17
- Mutazione/inattivazione, perdita allelica sono state documentate nella transizione da forme preinvasive a invasive (Boyle 1993) o in fase precoce di trasformazione neoplastica (Califano 2000) o come evento generante focolai di cellule clonalmente relate con potenzialità maligne (Braakhuis 2003)
- Mutazioni di p53 sembrano occorrere principalmente nella fase preinvasiva in quanto l'incremento da bassi ad alti stadi in fase invasiva è modesto (Bosch 2004)



# P53 IN SCC

- Mutazioni di p53 correlano con fumo ed alcool (3.5 di rischio maggiore di HNSCC)
- p53 IHC non correla con la prognosi anche se entra nel meccanismo di carcinogenesi soprattutto nelle forme HPV-
- p53 IHC è un eccellente supplemento all'analisi mutazionale: riduzione o perdita= non sense mutation, overespressione=missense mutation; normale espressione=assenza di mutazioni (Bosch 2004)
- Overespressione e perdita di p53 prevalgono nello stadio IV
- Mutazioni disruptive (non conservative) di TP53 (localizzate nel DNA-binding domain/regione L2-L3) sono associate con ridotta sopravvivenza dopo chirurgia (Poeta 2007)



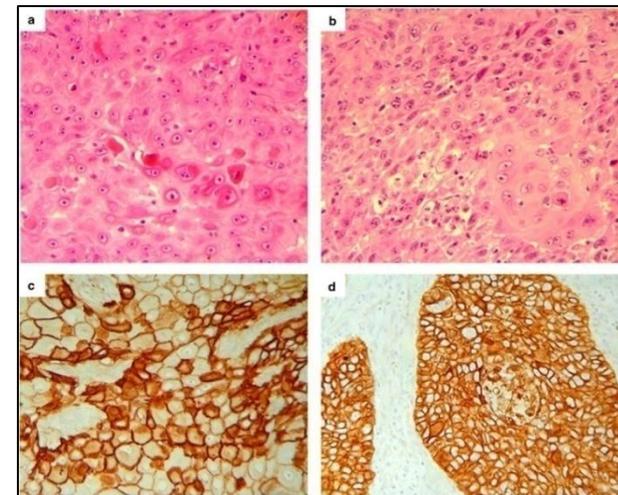
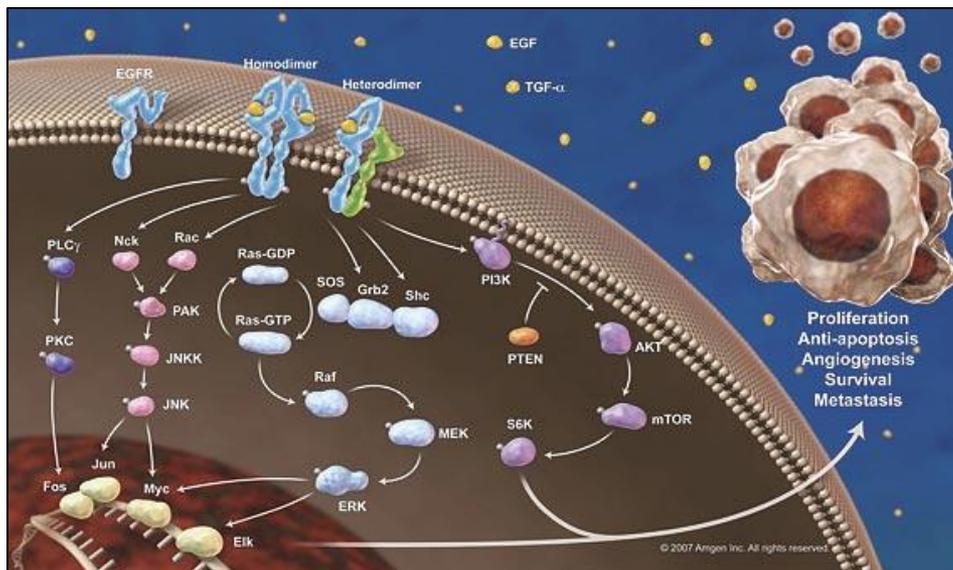
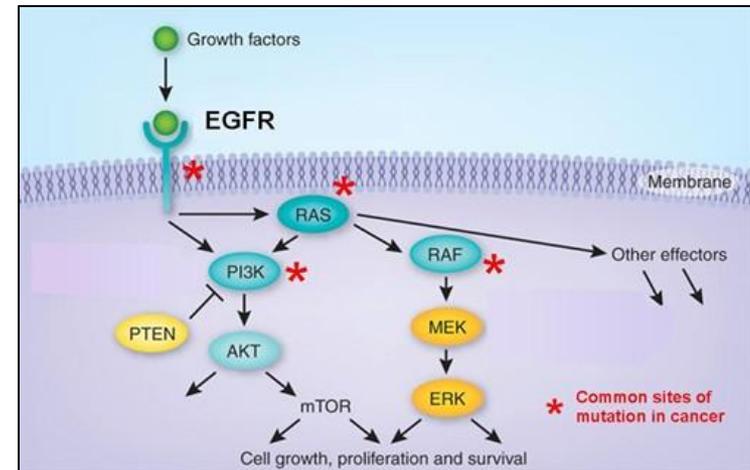
## LOH CROMOSOMA 3P

- I geni della regione 3p non sono stati ancora ben definiti
- Gene fragile histidine triad (FHIT) 3p14 deleto in tumori umani
- Perdita di FHIT è stata documentata in 42% dei SSC e nel 23% delle lesioni premaligne (Yuge 2005)
- Assente differenza tra i tre gradi di displasia e FHIT



# EGFR

- EGFR cromosoma 7p12
- Overespressione di EGFR è documentata come early event nella carcinogenesi incrementando con l'aumentare delle anomalità nella progressione SILs versus SCC (Shin 1994; Gale 1997)



# EGFR IN SCC

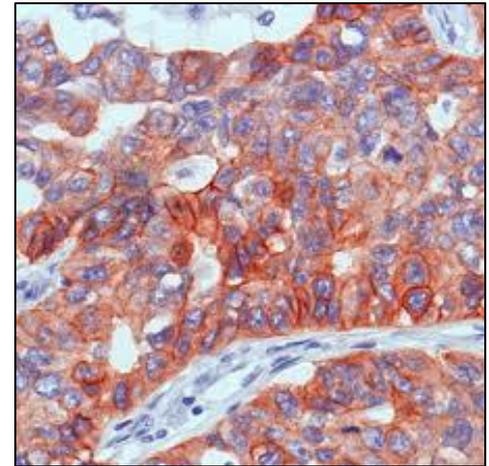
➤ HNSCC con iperespressione di EGFR e di TGFalfa in IHC correlano con una prognosi più sfavorevole in quanto indipendenti indicatori prognostici di peggiore OS, di DFS e tempo di recidiva (Grandis 1998, Kian Ang 2002)

➤ EGFR IHC non ha valore predittivo di malattia metastatica

➤ Amplificazione di EGFR gene, overespressione di mRNA e iperespressione IHC non correlano (EGFR gene copy sono inattive, EGFR gene genera dei trascritti aberranti, cross-reattività in IHC) (Chung 2006)

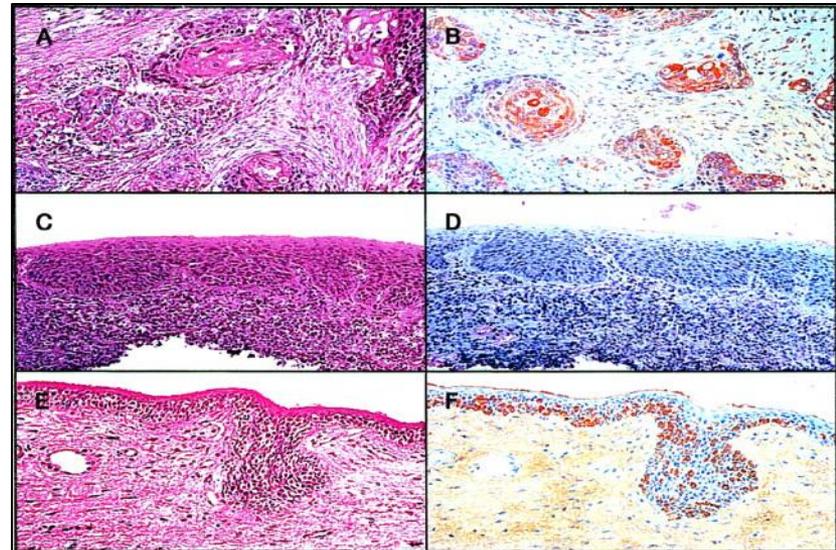
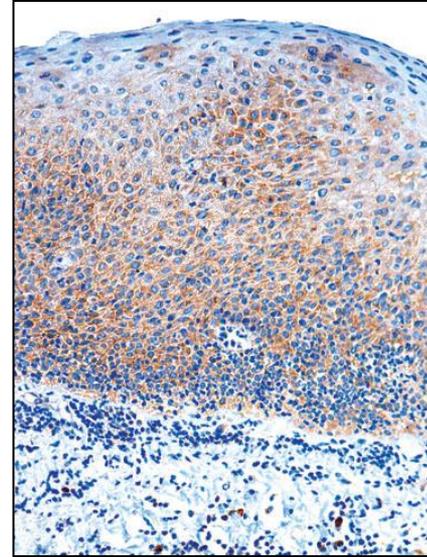
➤ Amplificazione del gene EGFR in FISH è un marker di prognosi peggiore (Chung 2006)

**Effetti terapeutici = blocco di EGFR pathway mediante farmaci inibitori (cetuximab) sembra migliorare la risposta alla terapia radiante in un piccolo subset di HNSCC (Huang 1999)**



# EIF4E

- Fattore di iniziazione eucariotico (eIF4E) proteina di 24-kDa che si lega all'mRNA per la regolazione della sintesi proteica (gene 4q21)
- Amplificazione ed overespressione di eIF4E è associato con trasformazione maligna in HNSCC (Sorrells 1999)
- Correlazione tra l'espressione di eIF4E e displasia = aumento e differente distribuzione (Gale 2009)
- Valore prognostico nel predire la ricorrenza (Nathan 2002)



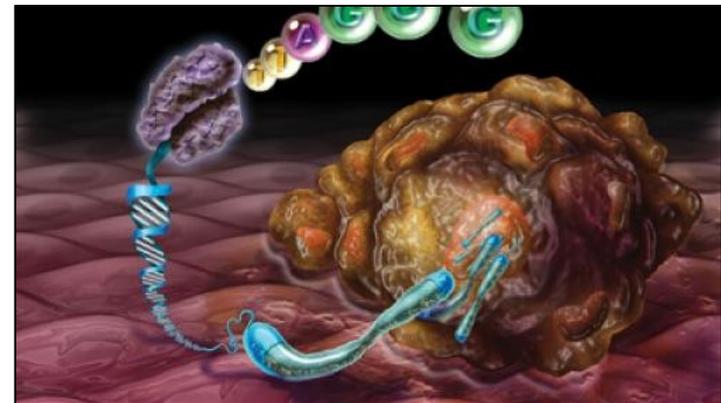
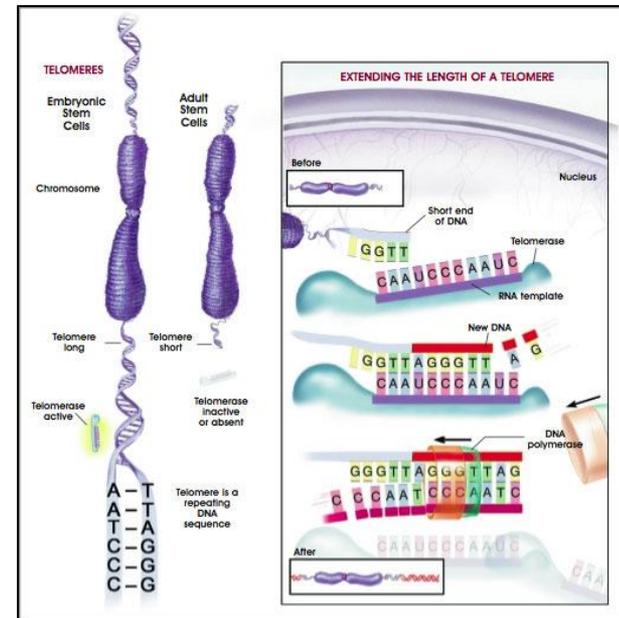
# TELOMERASI

➤ I telomeri sono complessi di DNA-proteine che avvolgono l'estremità terminale dei cromosomi

➤ DNA dei telomeri è sintetizzato da una trascrittasi inversa (subunità di RNA hTR + subunità enzimatica hTERT)

➤ Telomerasi è riattivata nel 90% delle neoplasie maligne

➤ hTERT mRNA aumenta con l'aumentare del grado di anormalità epiteliale: 7% epitelio normale; 20% IpS; 37% IpB/PB; 75% IpA 89% CIS e 85% SCC (Luzar 2003)

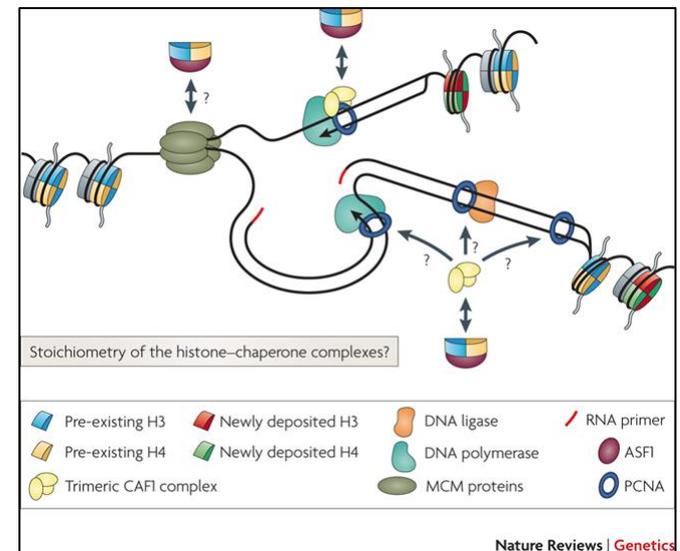


# MINICHROMOSOME MAINTENANCE PROTEINS

➤ Mcm 2-7 sono 6 proteine riconducibili alla classe delle elicasi formanti complessi con il DNA che intervengono nella separazione dei due filamenti di DNA ed innescano la fase replicativa attraverso l'attivazione di DNA polimerasi controllando che questa avvenga una sola volta per ciclo cellulare (distacco e degradazione blocca la replicazione)

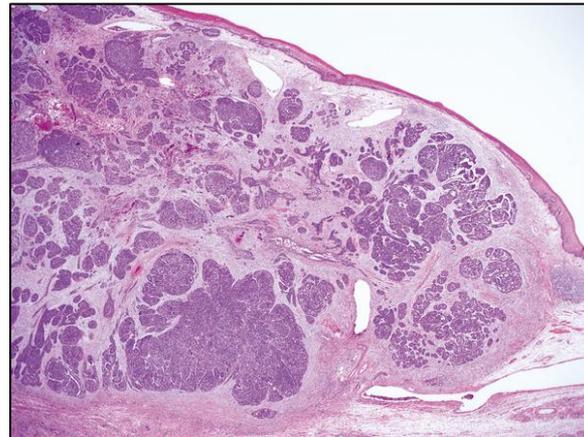
➤ Alterazioni di queste proteine possono portare ad una attività replicativa incontrollata

➤ Chatrath et al. (Br. J Cancer 2003) Mcm-2 è espresso negli strati più superficiali in CIS ed in SCC laringeo con minima espressione nelle IpB/PB e nella IpA.

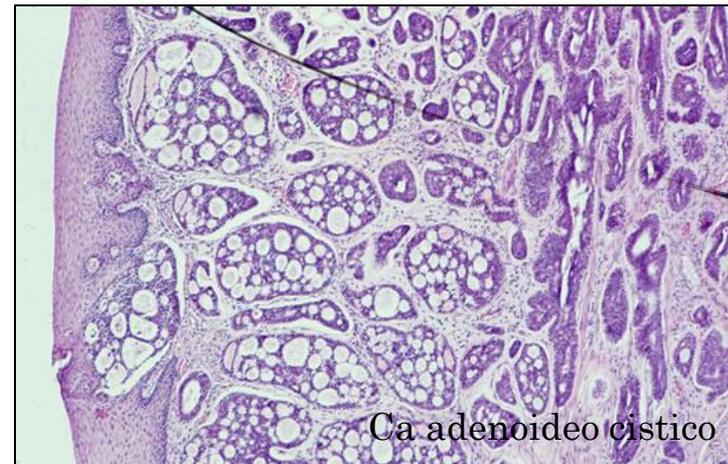
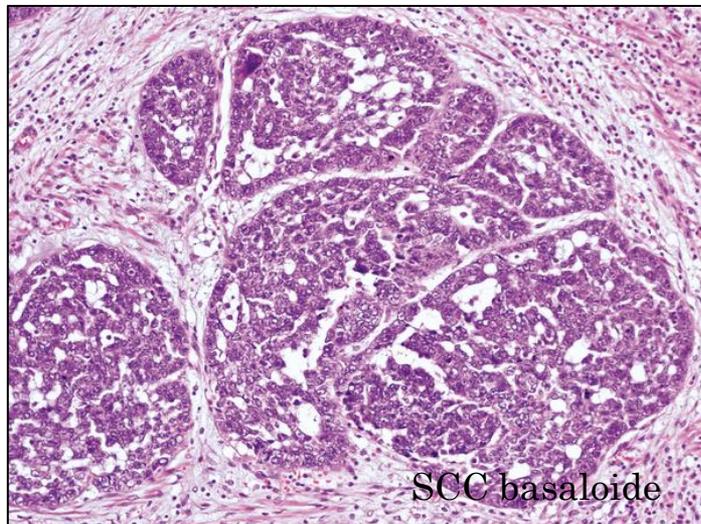
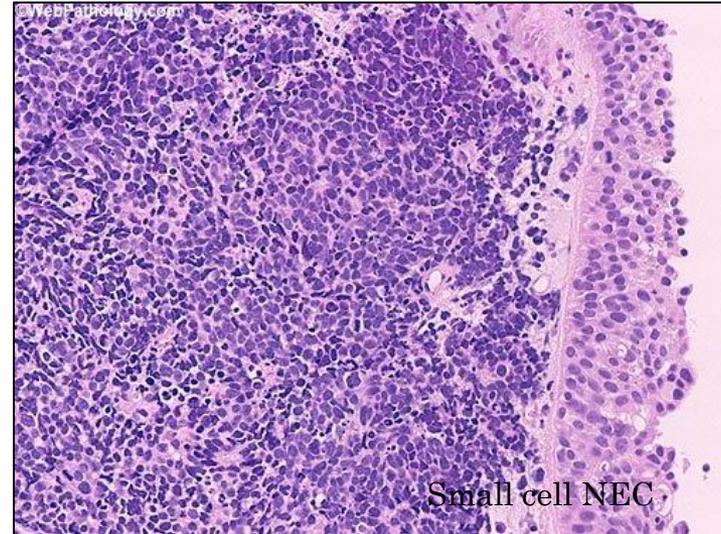
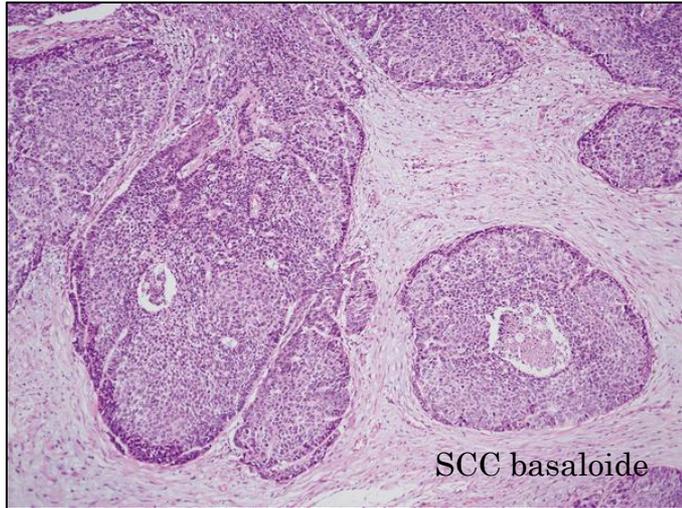


# CARCINOMA SQUAMOSO BASALOIDE

- 1986 da Wain et al. (Hum. Pathol.1986; 17:1158)
- 6-7ma decade
- M>F 4:1 circa
- Sedi: base lingua, laringe sovraglottica, seno piriforme, tonsille palatine.
- Sintomi: disfonia, disfagia, dolore e sensazione di massa.
- Alcool etilico e fumo.
- Neoplasia di alto grado.



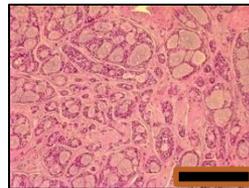
# SCC BASALOID VS ADC VS SMALL CELL NEC



# CA ADENOIDEO CISTICO VS SCC BASALOIDE

## CA adenoideo cistico

- Piccole cellule
- Pattern cribriforme, tubulare, solido
- Scarse mitosi
- Assente differenziazione squamosa
- Assente displasia epiteliale
- Markers mioepiteliali (actina e desmina)



## SCC basaloide

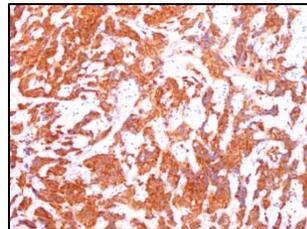
- Piccole cellule
- Pattern solido, lobulare, cribriforme, comedo
- Numerose mitosi
- Focale differenziazione squamosa
- Displasia epiteliale
- Assenti markers mioepiteliali



# SCC BASALOIDE VS NEC A PICCOLE CELLULE

## Small cell NEC

- Sovraglottico
- Piccole cellule
- Solidi sheets di cellule
- Crush artifact e fenomeno di Azzopardi
- Assente displasia epiteliale
- HMW CK, p63 negative
- TTF1 (-/+), p16 (+/-), N-E markers positivi (in particolare sinaptofisina)



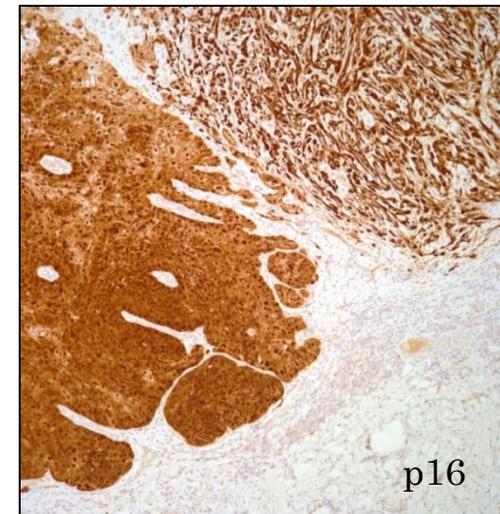
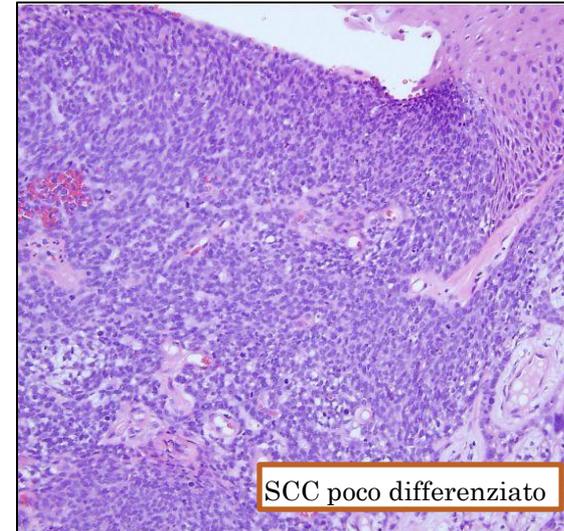
## SCC basaloide

- Sovraglottico
- Piccole o larghe cellule
- Solido, lobulare, cribriforme, comedo
- Focale differenziazione squamosa
- Displasia mucosa
- HMW CK e p63 positive
- TTF1 e N-E markers negativi



# P16 NEI CARCINOMI TESTA COLLO

- p16 inibitore del complesso ciclina/CDK 4-6
- P16 è quasi sempre overespressa nei SCC HPV+ più frequenti a livello orofaringeo con prevalente morfologia non cheratinizzante basaloide (Zheng 2006)
- Neoplasie a migliore outcome clinico e migliore risposta alla terapia
- Molecola può essere determinata con metodica immunohistochimica mediante anticorpo monoclonale (clone E6H4 della MTM laboratories)



# P16 NEI CARCINOMI TESTA COLLO

**SCC p16 positivi e HPV negativi valutati con metodica ISH e PCR (Chernock 2009, Smeets 2007 e Lewis 2010) hanno la stessa prognosi favorevole delle forme HPV positive**

## Possibili meccanismi base

Eliminazione del virus dalla cellula trasformata con possibile delezione di Rb o soppressione di Rb indipendente da E7

Presenza di un genotipo di HPV non identificato dalle tecniche utilizzate

Iperespressione di p16 indipendente da HPV

**Test IHC per p16 da solo è sufficiente per sottoclassificare carcinomi squamosi a prognosi più favorevole.**



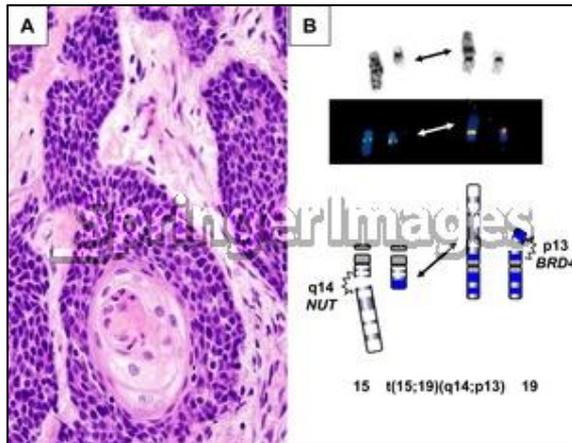
# CARCINOMA MIDLINE NUT

- NMC è un carcinoma indifferenziato caratterizzato dal riarrangiamento cromosomico del gene NUT (French 2004)
- Inizialmente ritenuto più frequente nei bambini e nei giovani oggi sembra avere una distribuzione anche in età adulta con un'età media di 47 anni (Stelow 2008)
- Assente predilezione di sesso (French 2009)
- Sedi: mediastino, nasofaringe, laringe, trachea, sporadici casi in retroperitoneo, vescica, pancreas e ghiandole salivari (Den Bakker 2009)
- Scarsa relazione con il fumo
- Neoplasia molto aggressiva: sopravvivenza media di 9.5 mesi (French 2010)



# CARCINOMA MIDLINE NUT

- Tumori in genere con una singola anomalia: traslocazione (15;19) (q14;p13.1)
- 2/3 dei casi il gene NUT (proteina nucleare del testicolo) si fonde con il gene BRD4 formando un gene di fusione BRD4-NUT (French 2003)
- 1/3 dei casi il gene di fusione è BRD3 o altri non ancora identificati: NUT1-variant (French 2004)



## Meccanismo di azione:

- ❖ BRD4 è legato a proteine istoniche associate con DNA attivamente trascritto ed a un complesso trascrizionale pTEFb preservando la memoria cellulare per la re-iniziazione della trascrizione dopo la fase mitotica (Jang MK 2005 e Yang Z 2005)
- ❖ NUT codifica un polipeptide a funzione sconosciuta
- ❖ **Oncoproteina BRD4-NUT potrebbe modificare la cromatina bloccando la differenziazione epiteliale e mantenendo le cellule in fase proliferativa (French 2010)**

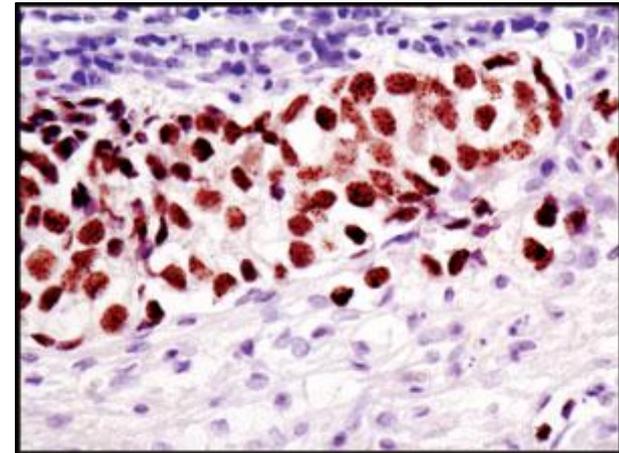
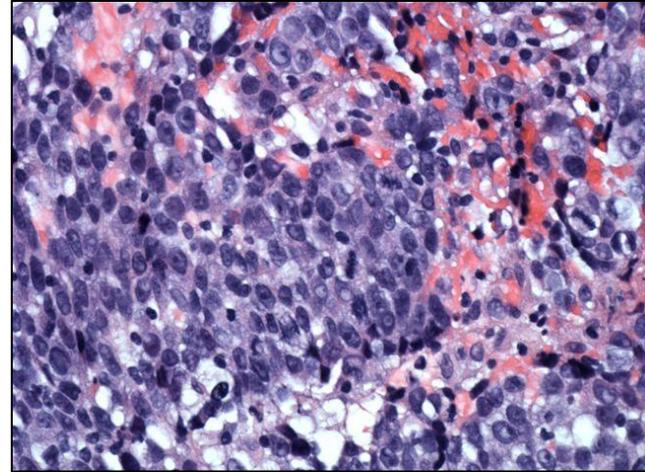
# CARCINOMA MIDLINE NUT

➤ Carcinoma poco differenziato con o senza differenziazione squamosa caratterizzato da una proliferazione monotona nodulare od in sheets di cellule medio-piccole, rotonde con cromatina vescicolosa e spesso nucleolate.

➤ IHC: policlonale rabbit verso NUT (> 90% nucleare) (Haack 2009) e CD34+ (64% dei casi) (French 2004)

➤ FISH è gold standard per valutare il riarrangiamento di NUT incluse le NUT-variants

➤ DD: Ca indifferenziato seno-nasale, SCC non cheratinizzante indifferenziato EBV-relato, PNET)



# GRAZIE PER L'ATTENZIONE

