



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

**Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA**

Tesi di Laurea

Dipartimento di scienze chirurgiche e diagnostiche integrate – DISC

**“Affidabilità dei campioni bioptici nella diagnosi di sottotipi
istologici dell’adenocarcinoma dell’esofago e della giunzione
gastro-esofagea.”**

Relatore
Prof. Luca Mastracci

Candidato
Lorenzo Costacurta

anno accademico 2021/2022

INDICE

ABSTRACT	4
INTRODUZIONE	5
Epidemiologia	5
Clinica	7
Diagnosi	8
Cascata cancerogenetica	10
Classificazione e Stadiazione	13
Classificazione istologica.....	13
Classificazione molecolare.....	14
Stadiazione secondo TNM (VIII edizione)	17
Grading di differenziazione	18
Classificazione di Siewert.....	20
Classificazione di Lauren.....	20
Classificazione di Ming	22
Prognosi	23
Prognosi basata sul pTNM.....	23
Prognosi basata sulla sottoclassificazione morfologica	25

Terapia	41
SCOPO DEL LAVORO	44
MATERIALI E METODI	45
Selezione della casistica	45
Valutazione istologica	46
Analisi statistica	49
RISULTATI	50
Caratteristiche generali della casistica	50
Classificazione dei sottotipi istologici su campione chirurgico e su campioni bioptici	51
Valutazione comparativa dei sottotipi istologici e della classe di rischio su campioni appaiati (campione chirurgico e relative biopsie pre-intervento)	52
Valutazione della numerosità del set bioptico in relazione a classificazione istologica e attribuzione della classe di rischio.	56
DISCUSSIONE	57
CONCLUSIONI	60
BIBLIOGRAFIA	61
RINGRAZIAMENTI	67

ABSTRACT

Un recente lavoro su un'ampia casistica di adenocarcinomi dell'esofago e della giunzione esofago gastrica naïve (trattati chirurgicamente e non neoadiuvati) ha dimostrato che la dettagliata caratterizzazione istologica di questi tumori ha un significativo impatto prognostico. Lo scopo di questo lavoro è valutare se la classificazione dei sottotipi istologici e/o la segregazione di istotipi a maggiore (HR) e minor (LR) rischio sia applicabile sulle biopsie pre-intervento, con quale grado di efficacia e se ci sia un numero minimo di biopsie/biopsie neoplastiche utile per applicare con maggior confidenza tale sottoclassificazione. Sono stati esaminati 106 casi appaiati di campioni chirurgici e biopsie pre-intervento di carcinomi dell'esofago e della giunzione esofago-gastrica (EC/EGJC) naïve. È stata eseguita una dettagliata analisi comparativa tra i sottotipi istologici classificati sul campione chirurgico e sulle corrispondenti biopsie chirurgiche pre-intervento. Degli 86 carcinomi a morfologia ghiandolare valutati su campione chirurgico, 39/43 carcinomi ben differenziati (91%) e 31/43 carcinomi poco differenziati (72%) sono stati correttamente diagnosticati anche sulle biopsie chirurgiche pre-intervento, con coefficiente rho di Spearman di 0.754 e $p < 0.0001$. Per gli istotipi rari la scarsa numerosità dei campioni non ha consentito un'analisi accurata. Per quanto riguarda la classe di rischio, complessivamente si è osservata una analoga categorizzazione del rischio su campione bioptico e corrispondente campione chirurgico per 42/47 forme LR (89%) e 45/59 forme HR (76%), con coefficiente rho di Spearman di 0.653 e $p < 0.0001$. Un set di almeno 5 biopsie neoplastiche aumenta l'affidabilità della sottotipizzazione istologica. I risultati sono promettenti e dimostrano che l'applicazione della sottoclassificazione istologica è possibile sui campioni bioptici e presenta una buona/elevata concordanza con i campioni chirurgici.

INTRODUZIONE

Epidemiologia

Il cancro dell'esofago a livello globale è l'ottavo tumore più comune diagnosticato (3% di tutti i casi) e la sesta causa più comune di decessi correlati al cancro (6% di tutti i decessi), **con una mortalità** che si aggira tra il 75 e l'85%. Il suo tasso d'incidenza standardizzato per età è di 6,3 casi per 100.000 abitanti l'anno. Secondo le stime di GLOBOCAN¹, nel 2020 in tutto il mondo sono stati registrati 604.100 nuovi casi e 544.076 decessi per questo tumore, con una prevalenza netta (418.350 vs 185.750) nel sesso maschile. (tassi di incidenza standardizzati per età M:F= 9,3:3,6 per 100.000 abitanti). Secondo i dati del rapporto *I numeri del cancro in Italia 2020*,² pubblicato dal Gruppo di Lavoro AIOM – AIRTUM – SIAPEC-IAP, **in Italia i nuovi casi di tumore dell'esofago sono circa 2.400 in un anno**, con una stima di circa **1.900 decessi**. A livello globale, i due principali sottotipi di carcinoma esofageo sono il **carcinoma esofageo a cellule squamose (ESCC)** e gli **adenocarcinomi dell'esofago e della giunzione esofago-gastrica (EA/EGJA)**. A livello globale, il carcinoma squamoso esofageo (ESCC) rappresenta la maggior parte dei casi di cancro esofageo, anche se la sua proporzione, rispetto all'adenocarcinoma esofageo, varia da paese a paese. La displasia squamosa esofagea è la sua principale lesione pre-neoplastica. La Displasia esofagea squamosa (OSD) (anche nota come neoplasia intraepiteliale squamosa esofagea) è un'inequivocabile alterazione neoplastica dell'epitelio squamoso esofageo, senza invasione. La displasia squamosa può verificarsi ovunque nell'esofago ed è probabile che segua la distribuzione dell'ESCC. L'ESCC avanzato mostra una prognosi infausta (sopravvivenza globale del 38% a 1 anno e del 12% a 5 anni dopo la diagnosi)³.

Per quanto riguarda l'EA e l'EGJA, l'esofago di Barrett (BE) è l'unico noto precursore di EA. Si ritiene che i pazienti con diagnosi nota di BE abbiano un tasso d'incidenza annuale 40-50 volte più alto di EA/EAGJ rispetto alla

popolazione generale⁴. La sopravvivenza globale a cinque anni per l'adenocarcinoma esofageo (EA)/adenocarcinoma della giunzione esofago-gastrica (EGJA) è di circa il 20%⁵; i tassi di sopravvivenza a 5 anni sono inferiori al 45% anche per i pazienti con diagnosi in fase curativa e quelli trattati con approccio multimodale⁶.

L'incidenza di ESCC esofageo in alcune aree ad alto rischio in Asia (ad es. Cina) è ampiamente in declino¹, e ciò potrebbe essere stato causato dalla crescita economica e il conseguente miglioramento nella dieta della popolazione media, mentre in diversi paesi ad alto reddito (ad es. Stati Uniti, Australia, Francia e Regno Unito), la riduzione dell'incidenza si considera sia dovuta principalmente al calo del fumo di sigaretta⁷. L'ingente consumo di alcool, il fumo e i loro effetti sinergici, infatti, sono i principali fattori di rischio per ESCC nei paesi occidentali. Tuttavia, nei paesi a basso reddito, comprese parti dell'Asia e dell'area subsahariana dell'Africa, i principali fattori di rischio per ESCC, che di solito comprende oltre il 90% di tutti i casi di cancro esofageo, sono ancora da chiarire, sebbene siano state sospettate componenti della dieta⁸ (ad es. carenze nutrizionali, nitrosammine). Ulteriori fattori di rischio sospetti per ESCC includono il tabacco da masticare nel subcontinente indiano e il consumo ripetuto di verdure in salamoia (ad esempio, in Cina) e di bevande e cibi molto caldi (ad esempio, in Uruguay, Iran e Tanzania)⁷.

EA/EGJA rappresenta circa 2/3 dei casi di cancro esofageo in paesi ad alto reddito, con obesità, malattia da reflusso gastroesofageo ed esofago di Barrett tra i principali fattori di rischio⁷. Nei paesi ad alto reddito, i tassi di incidenza di EA/EGJA stanno quindi aumentando rapidamente in parte a causa dell'aumento del BMI medio e dell'aumento d'incidenza della malattia da reflusso gastroesofageo (la diagnosi di malattia da reflusso gastroesofageo è associata ad un rischio di esofago di Barrett del 7%-10%⁹), e forse anche a causa della progressiva diminuzione delle infezioni croniche da *H. pylori*, che sono state inversamente associate all' EA/EGJA¹⁰. Si ritiene che queste tendenze siano destinate a continuare nel prossimo futuro, con EA/EGJA che supereranno ESCC in molti paesi ad alto reddito; è probabile che l'aumento del BMI e dell'obesità

diventino fattori di rischio sempre più importanti per l'incidenza futura del cancro esofageo¹⁰.

Clinica

Nonostante tutti i programmi di follow-up la maggior parte dei carcinomi dell'esofago vengono diagnosticati in fase localmente avanzata o metastatica, e ciò rende ragione degli elevati tassi di mortalità associati a tale patologia. In Nord America¹¹, dove i programmi di screening per la diagnosi precoce dei tumori dell'esofago e della giunzione esofago-gastrica non sono adottati a causa della bassa incidenza, la diagnosi è spesso fatto in ritardo nel decorso della malattia. Alla diagnosi¹¹, quasi il 50% dei pazienti ha un cancro che si estende oltre i confini locoregionali del tumore primario, e <60% dei pazienti con tumori locoregionali può essere sottoposto a resezione curativa. In un range che va dal 70% all'80% circa dei tumori resecati i campioni ospitano metastasi nei linfonodi regionali. ESCC è più incline a localizzarsi vicino alla biforcazione tracheale¹²(terzo medio dell'esofago), ha elevata propensione alla diffusione linfatica precoce ed è associato ad una prognosi peggiore¹³, mentre l'EA si localizza prevalentemente all'esofago distale e ha miglior prognosi. Il cancro esofageo è spesso asintomatico all'inizio. I pazienti con malattia avanzata possono presentarsi con disfagia progressiva (prima i solidi, poi i liquidi con il progredire della malattia), odinofagia (deglutizione dolorosa, spesso notata inizialmente con cibi secchi), dispepsia di nuova insorgenza, bruciore di stomaco non responsivo ai farmaci, dolore toracico, segni di perdita di sangue (anemia, melena, quando il tumore è ulcerato) e perdita di peso non intenzionale¹⁴ (10% o più nei tre-sei mesi precedenti). Dato che molti ESCC si localizzano a livello della biforcazione tracheale, è inoltre possibile che in fasi avanzate presentino sintomi respiratori per interessamento della trachea e/o del bronco sinistro. La disfagia è il sintomo più comune del carcinoma esofageo, sebbene sia aumentato il numero di pazienti asintomatici nei quali è stata fatta una diagnosi mediante endoscopia di sorveglianza. Nei pazienti con ESCC la presentazione più comune è la disfagia, tipicamente accompagnata da perdita di peso e una storia di

assunzione di fumo e alcol. Al contrario, la maggior parte dei pazienti con EA/EGJA sono uomini bianchi con una storia di GERD che hanno recentemente sviluppato disfagia. La perdita di peso non è una scoperta frequente⁵. L'età media alla diagnosi si aggira intorno ai 60-65 anni.

Diagnosi

Rx con pasto baritato delle prime vie digestive

Fornisce una visione generale dell'esofago, dello stomaco e del duodeno, utile al chirurgo nella scelta dell'intervento e del livello di anastomosi¹⁵. Utile per valutare la presenza di fistolizzazione o di fessurazione e la tecnica a doppio contrasto, quando possibile, è preferibile. Mostra elevata sensibilità nelle forme invasive e bassa specificità in quelle non-invasive. L'Rx esofago con bario è stata ampiamente ed è ancora talvolta utilizzata come valutazione iniziale nei pazienti che presentano sintomi di carcinoma esofageo, per la sua ottima sensibilità nel valutare la morfologia e la motilità dell'esofago.

L'esofagogastroduodenoscopia è utilizzata come primo esame diagnostico praticamente in tutti i pazienti, sia per la sua elevata sensibilità e specificità sia per la possibilità di eseguire campioni biotici indispensabili per confermare la diagnosi di carcinoma, la definizione dell'istotipo e lo studio di fattori predittivi di risposta terapeutica e prognostici. Questo approccio consente inoltre ai medici di valutare se nei pazienti con adenocarcinoma dell'esofago distale siano coinvolti il cardias e lo stomaco. L'esame¹⁵ endoscopico corredato da prese biotiche (ed eventualmente brushing) della lesione sospetta mostra elevata specificità e sensibilità in entrambe le forme, invasive e non-invasive. La valutazione cito-istologica raggiunge infatti accuratezza diagnostica ~ 100%¹⁶.

L'altro esame che va' sempre eseguito prima di intraprendere qualsiasi iter terapeutico, come nel carcinoma del retto e nel carcinoma dello stomaco, è l'**Ecoendoscopia**. Utile nella valutazione dell'infiltrazione parietale della neoplasia (T) e dell'interessamento dei linfonodi (N) regionali, mostra

accuratezza ~ 85% del T, dato che gli strati della parete sono alternativamente ipoecogeni ed iperecogeni, e ~ 79% dell'N¹⁶. È l'esame che presenta la maggior sensibilità ed accuratezza nella valutazione della diffusione mucosa e sottomucosa (80-90%), indispensabile nelle lesioni T1/T2 per definire la strategia terapeutica, e nella valutazione delle adenopatie loco regionali (75%), con sensibilità e specificità superiori a TC e PET/TC¹⁷. Non in grado da sola di valutare la potenziale resecabilità, EUS si mostra maggiormente efficace se impiegata in associazione ad altre tecniche di imaging come TC e PET, consentendo agoaspirati ecoguidati di N locoregionali (EUS + FNA), la cui positività può costituire controindicazione a intervento chirurgico con intento radicale¹⁸. La combinazione EUS + TC sembra superiore a EUS + PET nello staging loco regionale¹⁹. EUS è anche utile nella selezione dei pazienti potenzialmente candidati a terapie neoadiuvanti, mentre mostra limiti nella valutazione della risposta al trattamento neoadiuvante. La misurazione ecoendoscopica del diametro trasverso del tumore può rappresentare un indicatore di risposta alla terapia: una riduzione del diametro >50% sembra predittiva di downstaging tumorale patologico²⁰.

La **TC torace e addome con/senza MdC** è in grado di discriminare con capacità del 90% fra lesione T1/T2 e lesione T3/T4 e, per questo aspetto, la sua sensibilità è superiore a quella di PET, mentre è inferiore a quest'ultima nell'identificazione delle metastasi a distanza (64% vs 90%); qualora TC evidenzi metastasi a distanza, rende non necessarie altre procedure, quali PET ed ecoendoscopia¹⁷. TC torace e addome con e senza contrasto completano la stadiazione necessaria per valutare l'estensione locoregionale della malattia¹⁵ (invasione tracheo-bronchiale, invasione dell'aorta, presenza di linfadenopatie mediastiniche e sottodiaframmatiche) e la presenza di metastasi a distanza.

La **Tomografia ad Emissione di Positroni (PET)**, infine, dimostra elevata sensibilità per la stadiazione TNM pre-trattamento chemioradioterapico o pre-chirurgia²¹, ma non sembra migliorare in maniera significativa l'accuratezza della stadiazione locale rispetto alle tecniche diagnostiche standard²². PET è esame di alta affidabilità per la diagnosi di malattia al IV stadio. E' indicata in tutte le situazioni in cui si ritiene proponibile la chirurgia in quanto superiore rispetto a

TC nell'individuazione delle metastasi a distanza, soprattutto ossee; ¹⁵PET/TC modifica lo stadio nel 3-20% dei pazienti, modificando pertanto il piano terapeutico, soprattutto se inclusivo di chirurgia; nonostante ciò, PET/TC non ha sostituito TC di stadiazione in quanto consente una definizione meno precisa del tumore primitivo, dei linfonodi mediastinici e delle piccole lesioni polmonari ed epatiche¹⁷.

Cascata cancerogenetica

L'adenocarcinoma esofageo (EA) è tipicamente diagnosticato quando un paziente presenta sintomi come la disfagia. Sfortunatamente, la maggior parte di questi pazienti non vivono oltre il primo anno di vita dalla diagnosi perché quando si sviluppa la disfagia, il cancro metastatico è già presente. In modo da prevenire questo cancro o rilevarlo prima, in fase più trattabile, ora vengono compiuti sforzi per identificare pazienti con esofago di Barrett (BE), l'unico noto precursore di EA⁴.

L'esofago di Barrett (BE) è caratterizzato dalla sostituzione del normale epitelio squamoso stratificato dell'esofago distale con epitelio colonnare, che si estende per più di 1 cm prossimamente alla giunzione gastroesofagea (GEJ) ed è caratterizzato dal punto di vista istologico dalla presenza di metaplasia intestinale⁹. La displasia è endoscopicamente associata a lesioni piatte, sollevate o depresse ed è definita da anomalie architetturiche combinate e atipie citologiche identificabili su sezioni colorate con ematossilina ed eosina standard²³²⁴. Le anomalie citologiche e architetturiche interessano l'intero spessore dell'epitelio e generalmente la maturazione cellulare verso la superficie della mucosa è assente. Sono riportati inoltre casi in cui c'è displasia confinata alla cripta ma con maturazione superficiale. La classificazione istologica della displasia riconosce quattro categorie²⁵:

- negativa per displasia (NEG): questa diagnosi rappresenta due diverse situazioni: a) epitelio colonnare senza atipie cellulari; b) cambiamenti reattivi (iperplastici/rigenerativi).

- indefinita per displasia (IND): questa definizione si applica solo a casi in cui il patologo non può determinare con certezza se la lesione è iperplastica/rigenerativa o di natura neoplastica. Ciò potrebbe essere dovuto a inadeguatezza del prelievo bioptico o alla presenza di atipie citologiche e/o alterazioni strutturali di dubbia interpretazione. È una diagnosi “provvisoria”. che deve essere seguita da un ricampionamento a breve termine e/o seconda opinione.
- displasia di basso grado (LGD): è caratterizzato da scarsa distorsione architettónica e da lievi/moderate atipie citologiche. Possono essere presenti nuclei ipercromatici con contorni irregolari, sovrapposizione e affollamento dei nuclei e cellule caliciformi distrofiche.
- displasia di alto grado (HGD): è caratterizzata sia da anomalie architettónicas sia da grave atipia citologica. Le caratteristiche architettónicas aberranti includono affollamento ghiandolare, ghiandole ramificate, budding e/o pattern caratterizzati da cripte villiformi, cribriformi, micropapillari o cisticamente dilatate. Le caratteristiche citologiche includono la perdita completa di polarità cellulare, nuclei allargati e arrotondati con membrane nucleari irregolarmente ispessite e nucleoli ingranditi. Le figure mitotiche tipiche e atipiche sono identificabili in tutti i livelli delle ghiandole e sulla superficie luminale³.

La logica di questo approccio a più livelli è quella di stratificare i pazienti in categorie di rischio crescente per lo sviluppo o la presenza concomitante di adenocarcinoma esofageo (EA)²⁶. Per quanto riguarda la displasia e il rischio di cancro, i pazienti con LGD hanno un tasso di incidenza annuo dell'1,7% per HGD/EA²⁷, mentre i pazienti con HGD hanno un tasso di incidenza annuale di EA del 7%²⁸; è stata inoltre associata una maggiore lunghezza del BE a un più alto rischio di cancro. Uno studio prospettico di coorte ha dimostrato che il rischio di EA aumenta linearmente con la estensione del BE, con un rischio maggiore di sviluppare il cancro in pazienti con BE lungo (> 3 cm) rispetto a quelli con BE corto²⁹.

Si ritiene che i pazienti con diagnosi nota di BE abbiano un tasso d'incidenza annuale 40-50 volte più alto di sviluppare EA/EGJA rispetto alla popolazione

generale³⁰. Progressi nella terapia di eradicazione endoscopica per BE displastico scoperto durante la sorveglianza di BE permettono attualmente di riconoscere e trattare le neoplasie dell'esofago e della giunzione esofago-gastrica in fase iniziale³¹. Tuttavia, la maggior parte dei tumori insorgono in pazienti senza BE diagnosticata in precedenza, il che suggerisce che le strategie di screening siano inadeguate o, come propone un recente studio, la possibile esistenza di un percorso cancerogenetico indipendente dal BE³². In realtà, ad una minoranza di pazienti con BE viene proposta un'endoscopia superiore, e quindi la maggior parte dei BE rimane non diagnosticata. I pazienti con malattia da reflusso gastroesofageo (GERD) sono l'unica categoria cui in genere viene raccomandato lo screening per BE, perché si ritiene che abbiano un rischio relativo (RR) 5 volte maggiore di sviluppare BE lungo³³; anche così solo il 10% circa dei pazienti con GERD riceverà un'endoscopia. La preoccupazione principale è che il tasso di probabilità medio di sviluppare EA/EGJA in pazienti con diagnosi di BE è basso, circa lo 0,3% all'anno³⁴. A tal proposito, un recente studio⁴ ha cercato di determinare se tutti gli BE attesi nella popolazione degli Stati Uniti, diagnosticati e non diagnosticati, potrebbero spiegare tutti gli EA/EGJA rilevati con diagnosi incidentale attesi seguendo o no le previsioni dei tassi di progressione, per adattarli ai dati del registro nazionale dei tumori.

In sostanza il modello matematico stocastico ipotizzato di questo studio ha dimostrato che con adeguata captazione, screening per BE mediante endoscopia superiore o tecnologie non endoscopiche minimamente invasive potrebbero potenzialmente identificare e arruolare tutti i pazienti a rischio di sviluppare EA in un programma di sorveglianza⁴. Sebbene la progressione complessiva verso l'EA sia bassa nei pazienti con diagnosi di BE, per quei pazienti BE selezionati che hanno displasia di alto grado e/o EA precoce rilevati durante la sorveglianza, un trattamento efficace può salvare vite umane. In questo modo, l'analisi rafforza l'obiettivo primario nello screening della BE per la prevenzione dell'EA: un'efficace sorveglianza dell'intera popolazione con BE potrebbe potenzialmente prevenire la maggior parte della mortalità causata da EA nella popolazione generale. Le attuali strategie di sorveglianza intensiva "universale" porterebbero però a costi elevati per quei casi di screening BE sovradiagnosticati e vi è

chiaramente bisogno che le strategie di sorveglianza vadano migliorate, come affermato in uno studio condotto nel 2020, che basandosi sulle indicazioni dell'American Gastroenterological Association per la sorveglianza di questi pazienti³⁵, ha concluso che gli sforzi futuri dovrebbero concentrarsi su una migliore educazione del medico e del paziente per ridurre il numero di biopsie non necessarie e la sorveglianza endoscopica nei pazienti con linee Z normali o irregolari⁹. Il modello matematico stocastico ipotizzato⁴, tuttavia, ha dimostrato invece che, facendo biopsie su linee z normali o lievemente frastagliate che non dovrebbero essere da linee guida biopsiate, una certa quota di pazienti presenta lesioni displastiche o neoplastiche; esiste pertanto in conclusione un forte razionale per lo screening per BE per ridurre la mortalità di EA/EGJA.

Classificazione e Stadiazione

Classificazione istologica

Secondo la classificazione della WHO 2019³⁶, per i carcinomi dell'esofago e della giunzione esofago gastrica si riconoscono i seguenti istotipi:

- Adenocarcinoma NOS
- Carcinoma adenoido cistico
- Carcinoma mucoepidermoide
- Carcinoma adenosquamoso
- Carcinoma squamoso
- Carcinoma indifferenziato NOS
- Tumori neuroendocrini NOS
- Carcinoma neuroendocrino NOS
- Neoplasie miste neuroendocrine-non neuroendocrine (MiNEN).

Soffermandosi sull'adenocarcinoma, possono essere classificati in base all'aspetto morfologico in adenocarcinomi tubulari, papillari, mucinosi, e a cellule ad anello con castone. Tali aspetti non costituiscono istotipi istologici specifici ma pattern, perché attualmente ci sono solo limitate evidenze che queste varianti morfologiche abbiano uno specifico significato diagnostico.

Ciò è in netto contrasto con quanto invece succede per gli adenocarcinomi gastrici, in cui la WHO 2019³⁶ riconosce specifici sottotipi istologici. Infatti tra gli adenocarcinomi NOS dello stomaco si distinguono ben 12 sottotipi istologici specifici, che comprendono: l'adenocarcinoma tubulare, il carcinoma a cellule parietali, l'adenocarcinoma di tipo misto, il carcinoma micropapillare, il carcinoma mucoepidermoide, il carcinoma mucinoso, il carcinoma a cellule ad anello con castone, il carcinoma a cellule poco coese, il carcinoma midollare a stroma linfoide, l'adenocarcinoma epatoide e il carcinoma a cellule di Paneth.

Sia i carcinomi dello stomaco sia i carcinomi dell'esofago hanno nella maggior parte dei casi una sequenza di eventi che, sulla base di uno stimolo pro-infiammatorio (gastrite o esofagite da reflusso) porta ad alterazioni metaplastiche dell'epitelio (metaplasia intestinale) sulla cui base, successive mutazioni genetiche determinano la sequenza displasia di basso grado, displasia di alto grado e carcinoma. Nonostante questo, i sottotipi istologici dell'adenocarcinoma dell'esofago e della giunzione esofago-gastrica sono ritenuti, al di fuori della forma tubulo-papillare, estremamente rari e pertanto non contributivi in una classificazione morfologica con finalità anche prognostiche.

Classificazione molecolare

Nel 2014, "The Cancer Genome Atlas"(TCGA)³⁷ grazie ad un'analisi del numero di copie somatiche, sequenziamento dell'intero esoma, metilazione del DNA, sequenziamento dell'RNA messaggero e del microRNA e dati dell'array sulla struttura proteica da 295 adenocarcinomi primari G/GEJ ha identificato³⁸ quattro sottotipi principali, poi ampliati a cinque per la scoperta di un piccolo sottoinsieme di neoplasie MSI H negative che presentano mutazioni del gene POLE: carcinomi associati a Epstein-Barr virus (EBV), carcinomi con instabilità dei microsatelliti (MSI), carcinomi cromosomicamente instabili (CIN) e carcinomi genomicamente stabili (GS) e HM-SNV (POLE) (Fig. 1).

Tumori³⁹ G/GEJ associati a EBV: principalmente sono localizzati nello stomaco prossimale (fondo e corpo) in pazienti che relativamente più giovani (mediana età alla diagnosi 58-60 anni) di sesso maschile, e tipicamente hanno un'istologia scarsamente differenziata, con elevati livelli di infiltrazione di cellule immunitarie ed espressione di PD-L1 e PD-L2^{40 41}. Questi tumori spesso ospitano mutazioni ricorrenti in PIK3CA, ARID1A e BCOR, che potrebbero essere target per il futuro sviluppo di farmaci.

MSI: è un fenotipo molecolare risultante da un'alterata funzione di riparazione delle proteine del mismatch repair del DNA (MMR), a causa della metilazione del promotore MLH1 o di mutazioni in geni correlati a MMR^{42 43}. Circa il 15% di tumori G/GEJ MSI-H+ sono associati alla sindrome di Lynch, una sindrome ereditaria predisponente al cancro causata da mutazioni germinali nei geni MMR⁴⁴. I tumori MSI-H G/GEJ tipicamente presentano una densa infiltrazione di linfociti e diffusa espressione di proteine di immuno-checkpoint, come PD-L1, evidenziando l'elevata immunogenicità generale di questo sottotipo⁴¹.

Lo studio TCGA ha classificato il piccolo sottoinsieme (9 su 462, 1,9%) di tumori ipermutati non MSI-H come forme ipermutate con varianti prevalentemente a singolo nucleotide (SNV)⁴⁵, che presentano mutazioni del gene POLE.

CIN³⁸: Tumori G/GEJ con marcata aneuploidia, determinata da grave perdita di materiale genetico a livello del cromosoma e/o del braccio. Questo sottotipo è il più frequente (50%), più spesso hanno morfologia ghiandolare e sono prevalenti nello stomaco prossimale, GEJ e cardias³⁹. Le caratteristiche principali includono l'arricchimento con mutazioni di TP53 (71% dei tumori) e amplificazioni ricorrenti di geni che codificano per i recettori tirosina chinasi (RTK); geni come EGFR, ERBB2, ERBB3, FGFR2, JAK2 e MET), KRAS o NRAS, mediatori del ciclo cellulare e VEGFA, alcuni dei quali potenziali bersagli delle target-therapy.

GS³⁸: tumori G/GEJ privi di caratteristiche associate a qualsiasi degli altri sottotipi. Questo tipo di tumore nasce prevalentemente nello stomaco distale, di solito presenta caratteristiche del carcinoma a cellule poco coese di tipo diffuso e tende a insorgere in età più giovane (mediana 59 anni alla diagnosi). Le caratteristiche molecolari più importanti dei tumori di questo gruppo includono

l'arricchimento di mutazioni CDH1 o RHOA o traslocazioni intercromosomiche tra CLDN18 e ARHGAP26/6, che si escludono a vicenda e sono associate ad alterazione delle molecole di adesione intercellulari, del citoscheletro e alla transizione epiteliale-mesenchimale (EMT)⁴⁶. Nonostante la prognosi sfavorevole dei pazienti con tumori di questo sottotipo, che riflette ampiamente la resistenza agli agenti citotossici, la presenza di mutazioni ricorrenti supporta il loro potenziale per strategie terapeutiche mirate³⁹.

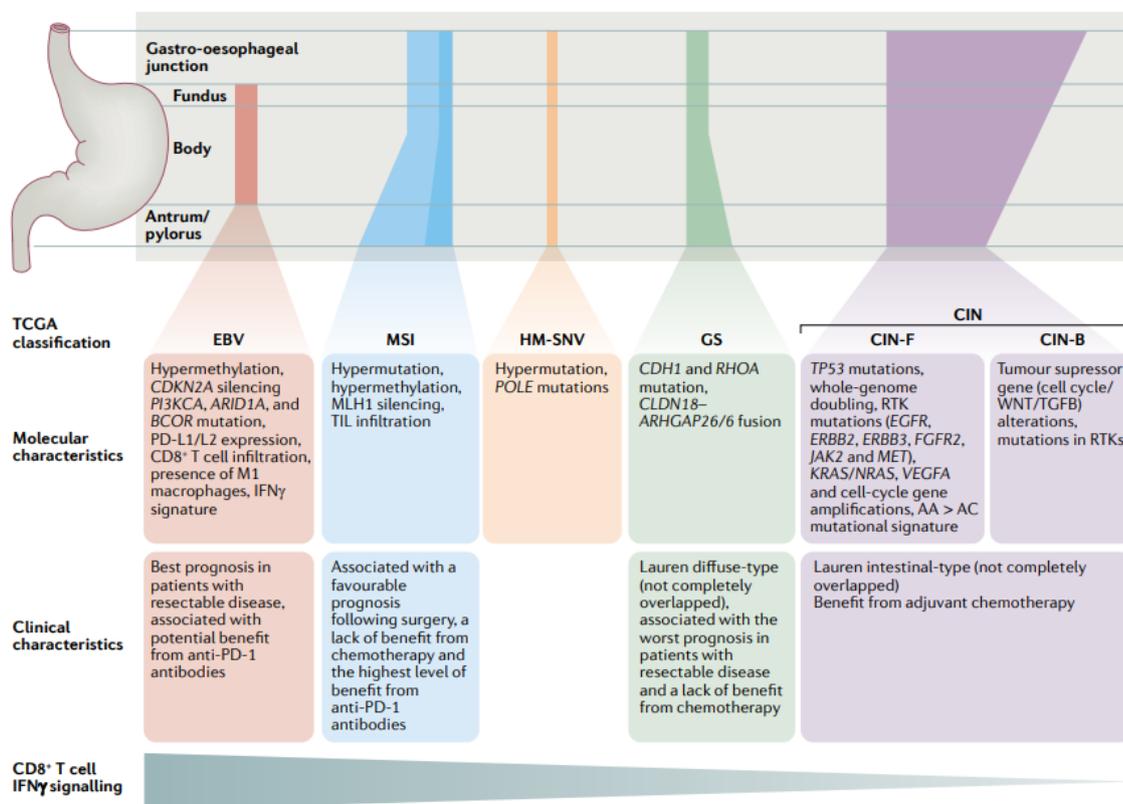


Figura 1³⁹ | Caratteristiche molecolari e cliniche dei sottotipi TCGA del cancro G/GEJ per distribuzione anatomica. Le forme colorate rappresentano la distribuzione anatomica e la relativa incidenza di The Cancer Genome Atlas (TCGA) sottotipi attraverso lo stomaco; la tabella elenca le distinte caratteristiche molecolari e cliniche dei quattro sottotipi. L'incidenza del sottotipo MSI-H è inferiore nella malattia metastatica (blu scuro) che in tutti gli stadi (azzurro). CIN, instabilità cromosomica; CIN-B, CIN-diffusa; CIN-F, CIN-focale; EBV, virus di Epstein-Barr; G/GEJ, giunzione gastrica o gastro-esofagea; GS, genomicamente stabile; HM-SNV, variante a singolo nucleotide ipermutata; MSI, instabilità dei microsatelliti; RTK, recettore tirosina chinasi; TIL, linfocita infiltrante il tumore.

Stadiazione secondo TNM (VIII edizione)

Una stadiazione accurata è essenziale per definire la prognosi del paziente e stabilire il programma terapeutico più idoneo. La stadiazione di riferimento è quella proposta e aggiornata di recente dall'American Joint Committee on Cancer (AJCC)⁴⁷ secondo Classificazione TNM (2017):

- **Tumore primitivo (T)**

- ~ **TX** la presenza di tumore primitivo non può essere accertata
- ~ **T0** non evidenza di tumore primitivo
- ~ **Tis** carcinoma in situ/displasia di alto grado (HGD)
- ~ **T1** il tumore invade la mucosa o la lamina propria o la muscolaris mucosae o la sottomucosa
- ~ **T1a** il tumore invade la mucosa o la lamina propria o la muscolaris mucosae
- ~ **T1b** il tumore invade la sottomucosa
- ~ **T2** il tumore invade la muscolaris propria
- ~ **T3** il tumore invade l'avventizia
- ~ **T4** il tumore invade le strutture adiacenti
- ~ **T4a** il tumore invade la pleura, il pericardio, la vena azygos, il diaframma o il peritoneo
- ~ **T4b** il tumore invade altre strutture adiacenti come l'aorta, i corpi vertebrali o le vie aeree (bronchi, trachea)

~

- **Linfonodi regionali**

- ~ **NX** la presenza di metastasi ai linfonodi regionali non può essere accertata
- ~ **N0** non evidenza di metastasi ai linfonodi regionali
- ~ **N1** metastasi in 1 o 2 linfonodi regionali
- ~ **N2** metastasi in 3-6 linfonodi regionali
- ~ **N3** metastasi in ≥ 7 linfonodi regionali

- **Metastasi a distanza**

- ~ **Mx** la presenza di metastasi a distanza non può essere accertata
- ~ **M0** non evidenza di metastasi a distanza
- ~ **M1** metastasi a distanza

Grading di differenziazione

Il grado di differenziazione degli adenocarcinomi dell'esofago e della giunzione esofago-gastrica si basa su criteri architetturali e definisce tre classi (America Joint Committee on Cancer -AJCC- VIII edizione)⁴⁷:

- ~ **Gx**: il grado tumorale non può essere accertato
- ~ **G1**: forme ben differenziate, ad architettura ghiandolare in >95% della neoplasia
- ~ **G2**: forme moderatamente differenziate, ad architettura ghiandolare nel 50-95% della neoplasia
- ~ **G3**: forme scarsamente differenziate, ad architettura ghiandolare in <50% della neoplasia.

In contrasto rispetto alle altre neoplasie ad insorgenza nel tubo gastroenterico, in cui la WHO 2019 suggerisce di utilizzare un sistema di gradazione a due livelli (neoplasie di basso grado che comprendono forme bene e moderatamente differenziate e neoplasie di alto grado che corrispondono alle neoplasie scarsamente differenziate) allo scopo di ridurre le variabilità interosservatore che aumentano con un sistema di gradazione a 3 livelli, stante l'importanza del grading nella definizione delle classi prognostiche patologiche in neoplasie in stadio iniziale, per i carcinomi dell'esofago e della giunzione esofago gastrica viene mantenuto il sistema di gradazione a tre livelli.

Secondo quanto riportato per quanto concerne l'applicazione del grado di differenziazione nei carcinomi gastrici, questo dovrebbe essere espresso esclusivamente nelle forme di adenocarcinoma ghiandolare (tubulare-papillare), e non dovrebbe essere utilizzato invece negli altri sottotipi (carcinoma a cellule poco coese, carcinoma mucinoso, etc).

Adenocarcinoma, Stadio Patologico (**pTNM**) e gruppi prognostici patologici (tabella 1)

Tabella 1¹⁵.

Stadio	pT	pN	M	Grado
0	Tis (HGD)	N0	M0	
IA	T1a	N0	M0	G1, GX
IB	T1a	N0	M0	G2
	T1b			G1-2, GX
IC	T1	N0	M0	G3
	T2			G1-2
IIA	T2	N0	M0	G3, GX
IIB	T1	N1	M0	ogni G
	T3	N0		GX
IIIA	T1	N2	M0	ogni G
	T2	N1		
IIIB	T2	N2	M0	ogni G
	T3	N1-2		
	T4a	N0-1		
IVA	T4a	N2	M0	ogni G
	T4b	N0-2		
	ogni T	N3		
IVB	ogni T	ogni N	M1	ogni G

Elemento particolarmente importante è che il grading di differenziazione contribuisce, negli stadi iniziale di patologia, alla definizione dei gruppi prognostici patologici.

Rispetto alla VII edizione del TNM, inoltre, l'attuale sistema di stadiazione si applica esclusivamente ai carcinomi insorti in esofago ed ai carcinomi della giunzione esofago gastrica Siewert 1 e 2, mentre i carcinomi della giunzione esofago gastrica Siewert 3 vengono stadati sec. TNM relativo ai tumori dello stomaco.

Classificazione di Siewert

La classificazione di Siewert⁴⁸ individua tre tipi macroscopici (Fig. 2):

- Tipo I: Adenocarcinoma dell'esofago distale. Il centro del tumore si trova 1-5 cm sopra il cardias gastrico.
- Tipo II: Adenocarcinoma del GEJ/cardias. Il centro del tumore si trova 1 cm sopra o 2 cm sotto il cardias gastrico.
- Tipo III: Adenocarcinoma dello stomaco subcardiale. Il centro del tumore si trova 2-5 cm sotto il cardias gastrico.

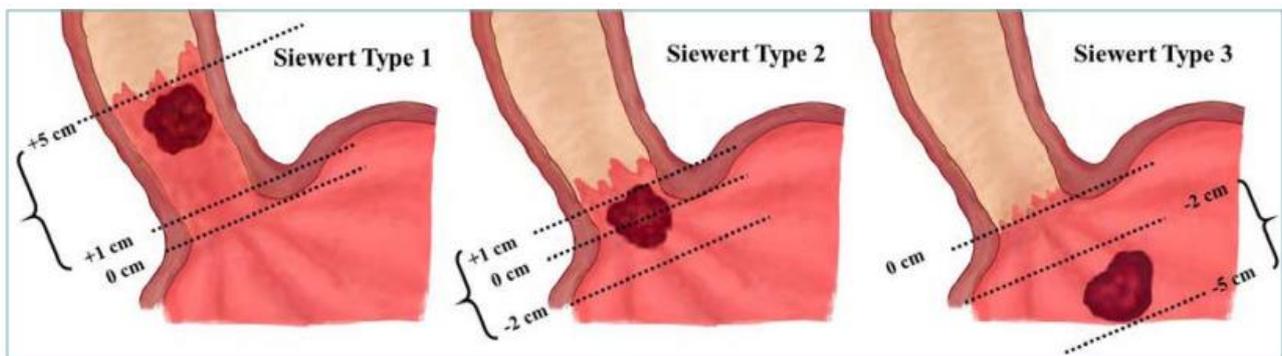


Figura 2⁴⁸. Rappresentazione schematica della classificazione macroscopica di Siewert dei tumori della giunzione gastro-esofagea.

Classificazione di Lauren

È stata la prima classificazione istopatologica del carcinoma gastrico, di grande importanza per la comprensione dell'istopatogenesi, della storia naturale e della biologia di questa neoplasia. Tale classificazione, stante le similitudini morfologiche tra adenocarcinomi dello stomaco e dell'esofago, può essere applicata anche in quest'ultimo ambito. Questa classificazione⁴⁹ distingue due tipi morfologici, a cui corrispondono diverse alterazioni genetiche e un diverso comportamento biologico:

➤ **Carcinoma di tipo intestinale:** è l'istotipo più frequente nei paesi ad alta incidenza di EA e EAGJ. Sebbene possa presentare aspetti di crescita infiltrativi

nei confronti degli strati della parete dell'organo, in genere cresce lungo fronti ampi e coesivi a formare una massa esofitica o un tumore ulcerato. Ha inoltre la tendenza a diffondersi per via ematogena, con lo sviluppo frequente di metastasi epatiche. I carcinomi di tipo intestinale insorgono tipicamente in un background di metaplasia intestinale e formano strutture ghiandolari a vari gradi di differenziazione (in genere correlata alle dimensioni del tumore), anche con morfologia tubulare e papillare, simili a quelle dei carcinomi che insorgono nel grosso o nel piccolo intestino. La secrezione di mucina è variabile e avviene sia focalmente nel citoplasma delle cellule tumorali sia al di fuori dalle cellule, nel lume delle ghiandole neoplastiche.

➤ **Carcinoma di tipo diffuso:** questo tipo di carcinoma assume generalmente un aspetto macroscopico di tipo ulcerativo o di tipo infiltrativo e ha la tendenza ad una diffusione per estensione diretta, con invasione degli organi adiacenti e lo sviluppo di metastasi peritoneali. È costituito da cellule scarsamente coesive infiltranti la parete esofagee singolarmente o in piccoli gruppi che formano strutture mal definite microghiandolari, reticolari o a merletto. Poiché le cellule proliferano in modo disorganizzato e non formano strutture ghiandolari, il muco formato non riesce ad essere drenato e ciò determina il suo accumulo nel citoplasma: la caratteristica di queste cellule è infatti la tendenza ad accumulare mucine intracitoplasmatiche, con formazione di grossi vacuoli mucinosi che espandono il citoplasma e spingono il nucleo verso un polo della cellula (immagine ad "anello con castone"). Questo istotipo si associa spesso a marcata desmoplasia stromale (deposizione stromale di abbondanti fibre collagene) e a reazione infiammatoria, il che rende le cellule difficilmente individuabili nello stroma desmoplastico e confondibili con quelle infiammatorie a bassi ingrandimenti. Poiché la crescita diffusiva del tumore impone un'attenta valutazione dei margini di resezione e della profondità di invasione, nei casi più problematici la colorazione per mucine e le indagini immunoistochimiche per le citocheratine possono essere di grande aiuto per dimostrare la presenza di cellule tumorali.

➤ **Carcinoma misto:** viene definito carcinoma di tipo misto un carcinoma che mostra due aspetti morfologici, embricati o separati, ben riconoscibili e diversi:

una componente ghiandolare o solida o mucinosa, comunque costituita da cellule coese, ed una componente a cellule poco coese (ad anello con castone o poco coese NOS).

Diversi studi hanno evidenziato che il tipo diffuso sec Lauren e la percentuale di componente di cellule ad anello con castone (SRC) sono associati a un comportamento più aggressivo e una sopravvivenza peggiore rispetto al tipo intestinale di Lauren, suggerendo così che le strategie terapeutiche dovrebbero essere adattate in base a queste caratteristiche^{50,51}.

Classificazione di Ming

Nei carcinomi Gastrici un secondo schema classificativo, proposto da Ming⁵² e basato sul pattern di crescita tumorale e sulle modalità di invasione, distingue due forme di carcinoma:

➤ **Tipo espansivo:** le cellule tumorali tendono a crescere per espansione in masse e aggregati, formando noduli che presentano margini nettamente delineati e comprimono i tessuti circostanti. Nella maggior parte dei casi è costituito da elementi ghiandolari; può associarsi un infiltrato linfoplasmacellulare nello stroma variamente rappresentato.

➤ **Tipo infiltrativo:** le cellule tumorali penetrano singolarmente o in piccoli gruppi entro gli strati della parete dell'organo, attribuendo al tumore spiccate caratteristiche di invasività. Lo stroma presenta una forte componente fibrotica con scarsi infiltrati linfoplasmacellulari.

Sebbene sussista una forte corrispondenza tra la classificazione di Ming e quella di Lauren (per cui nella maggior parte dei casi il carcinoma di tipo espansivo secondo Ming corrisponde al carcinoma di tipo intestinale secondo Lauren e quello di tipo infiltrativo al tipo diffuso), la classificazione di Ming risulta fortemente innovativa per le chiare implicazioni prognostiche, fornendo infatti

importanti informazioni riguardo il comportamento biologico e il potere di invasione del tumore.

La modalità di crescita infiltrativa è indice di aggressività del tumore, mentre la crescita di tipo espansivo e la presenza di un infiltrato linfoplasmacellulare sono indice di minore malignità e migliore risposta difensivo-immunologica dell'ospite.

Tuttavia, questa classificazione presenta il limite di essere applicabile solo ai campioni chirurgici, risultando perciò di scarsa utilità sui prelievi bioptici preoperatori per la programmazione terapeutica chirurgica.

Prognosi

Prognosi basata sul pTNM

La prognosi basata sul pTNM dipende molto dallo stadio, ma nel complesso è scarsa perché molti pazienti si presentano con malattia in stadio avanzato.

Sopravvivenza a 5 anni (pTNM):

- **Stadio I: >90%** (purtroppo rarissimo)
- **Stadio IIa: 85-70%**
- **Stadio IIb: 60-50%**
- **Stadio III: 45-25%**
- **Stadio IVa: 23-14%**
- **Stadio IVb** (pz con metastasi a distanza): **<3%**

Nel complesso la sopravvivenza globale a cinque anni per l'adenocarcinoma esofageo (EA)/adenocarcinoma della giunzione esofagogastrica (EGJA) è di circa il 20%; inoltre i tassi di sopravvivenza a 5 anni sono inferiori al 45% anche per i pazienti in fase curativa e per quelli trattati con approccio multimodale⁵⁻¹⁻⁶.

Una delle possibili ragioni della relativa inefficacia del trattamento nei pz con EA/EGJA è che le linee guida per la diagnosi, la classificazione chirurgica, la stadiazione e la terapia sono basate sulla ricerca clinica, condotta

indistintamente su un gruppo biologicamente eterogeneo di neoplasie, uniformemente definito come "adenocarcinoma". Inoltre, la stadiazione clinica, anche se eseguita con tecniche radiologiche ed endoscopiche avanzate, sovrastima o sottostima il 40% dei casi^{53,54}.

In breve, i parametri prognostici più potenti che guidano la terapia sono, ad oggi, la stadiazione clinica e patologica del TNM: la prima è tutt'altro che affidabile, mentre la seconda deriva dal campione chirurgico, è dettagliata dopo la resezione, quando il nucleo della terapia (cioè chirurgia o terapia neoadiuvante + chirurgia) è già terminato^{55,56}. Per superare questi limiti, sono state esplorate altre caratteristiche prognostiche, comprese le associazioni clinico-patologiche con la metaplasia intestinale di Barrett o gastrica^{57,58} e la sottotipizzazione molecolare^{59,60}. Questi studi hanno aggiunto tasselli importanti al puzzle, tuttavia, non hanno ancora trovato applicazione pratica nella gestione del paziente.

Per quanto riguarda i fattori patologici, la caratteristica più importante negli EA/EGJA (oltre allo stadio) è il grado, identificato nell'attuale classificazione dei tumori dell'OMS 2019³⁶ come un sistema a tre livelli, definito dalla percentuale di formazione di ghiandole nelle varie aree della neoplasia. Questo approccio a tre livelli influenza il raggruppamento prognostico EA/EGJA, almeno nelle lesioni precoci senza metastasi linfonodali⁴⁷. Vale la pena notare che sia i tumori gastrici sia quelli del colon-retto sono passati a un sistema più riproducibile, a due livelli, di grado basso/alto⁶¹.

Gli EA/EGJA sono descritti (secondo la Classificazione dei Tumori dell'OMS 2019) come aventi un'architettura tubolare o papillare, mentre i modelli di cellule mucinose e ad anello con castone (SRC) sono raramente presenti come forme pure. Sono disponibili reperti limitati per la rilevanza prognostica dei sottotipi istologici per EA/EGJA³⁶; pertanto, i modelli dovrebbero essere descritti, ma non è richiesta alcuna definizione specifica di istotipo molecolare. Istotipi rari e prognosticamente rilevanti, osservati nel cancro gastrico, come l'adenocarcinoma muconodulare⁶², non sono mai stati descritti/studiati in modo completo negli EA/EGJA.

Prognosi basata sulla sottoclassificazione morfologica

Nel 2021 il nostro gruppo di studio, in collaborazione con altri centri italiani ed europei, ha condotto uno studio⁶³ il cui scopo è stato quello di descrivere un approccio morfologico agli EA/EGJA e valutarne il potere prognostico, con fine ultimo quello di migliorarne la tecnica di stadiazione e di conseguenza fornire dati sempre più precisi che permettano di avere più informazioni possibili per decidere quale sia il miglior trattamento da utilizzare, in modo da cercare di migliorare la cattiva prognosi globale di queste neoplasie.

Lo scopo di questo studio era di rivalutare un'ampia serie di casi di EA/EGJA principalmente sottoposti a intervento chirurgico al fine di:

- (1) identificare le caratteristiche prognostiche istologiche;
- (2) valutare il ruolo prognostico della classificazione nei sottotipi ghiandolari avanzati, resecati chirurgicamente;
- (3) identificare altri sottotipi morfologici, in particolare per quanto riguarda la loro frequenza e prognosi.

Sono stati valutati retrospettivamente vetrini istologici prelevati in 299 pazienti con EA/EGJA, sottoposti a resezione chirurgica radicale (tra il 2003 e il 2019). I pz sono stati reclutati dai database di cinque istituzioni appartenenti all'Esophageal Adenocarcinoma Study Group Europe (EACSGE). I criteri di inclusione erano: età >18 anni; diagnosi istologica di adenocarcinoma; disponibilità dei rapporti di endoscopia/Rx con bario per la classificazione di Siewert; disponibilità del referto patologico originale, vetrini colorati e/o blocchi di paraffina dal campione chirurgico e dati di follow-up post-chirurgici, inclusa la sopravvivenza globale (OS), cancro-specifica (CSS) e libera da malattia (DFS). I criteri di esclusione erano i casi pT1a/N0/M0 secondo l'ottava edizione dell'AJCC⁴⁷ e i seguenti istotipi rari: carcinomi adenosquamosi, neuroendocrini o carcinomi misti neuroendocrini-non neuroendocrini (dimostrati dall'espressione immunohistochemica dei marcatori neuroendocrini). Non è stato incluso nessun paziente trattato con terapia neoadiuvante per garantire che la morfologia del

tumore fosse esente da fattori indotti dal trattamento (ad es. fibrosi, perdita delle caratteristiche architettoniche, aree mucinose post-trattamento).

La rivalutazione di questi 299 EA/EGJA⁶³ ha permesso di rivalutare la morfologia e identificare un approccio di classificazione a due livelli negli adenocarcinomi ghiandolari (80%) sulla base di un cutoff del 6% di componenti scarsamente differenziate (ben differenziati VS scarsamente differenziati). Inoltre sono state riconosciute con una descrizione morfologica approfondita varianti rare, ma prognosticamente significative. Su questa base, sono stati identificati due gruppi di rischio morfologico (basso rischio e alto rischio), aggiungendo un valore prognostico significativo allo stadio.

In un primo incontro, quattro esperti patologi gastrointestinali (RF, DM, ADE, LM) hanno valutato un set di 80 casi e definito le caratteristiche istologiche di interesse: pattern architettonici dell'OMS³⁶, tipo di Laurén⁴⁹(intestinale vs diffuso vs morfologia non classificabile), crescita espansiva di Ming vs crescita infiltrativa⁵², la percentuale di struttura ghiandolare persa con mantenimento della coesione intercellulare (inclusi cluster scarsamente differenziati), grado secondo la classificazione dei tumori dell'OMS 2019³⁶ (G1 ghiandole ben formate in >95%, G2 nel 50-95%, G3 in <50% del tumore), percentuale di componente cellulare neoplastica coesiva rispetto a non coesiva, percentuale di SRC⁶⁴ (definiti come cellule con ampia mucina citoplasmatica, visivamente chiara su ematossilina ed eosina, e un nucleo posizionato eccentricamente), percentuale di componente mucinosa extracellulare e presenza di invasione perineurale e vascolare.

Sottotipi istologici della casistica

All'interno dell'intera coorte, sono stati identificati prevalentemente adenocarcinomi con caratteristiche ghiandolari con pattern tubolari/papillari/solidi (240/299 casi - 80,2%). L'analisi del grado, secondo i criteri della classificazione dei tumori dell'OMS 2019, è stata applicata esclusivamente ad essi. Gli adenocarcinomi di grado 1 rappresentavano il 43%

(103/240), il grado 2 il 27,5% (66/240) e grado 3 per il 29,5% (71/240). L'analisi ROC ha identificato un cutoff del 6% di perdita della struttura ghiandolare (cioè la componente scarsamente differenziata) come il più informativo per quanto riguarda la sopravvivenza. Su questa base, 103 casi con <6% di componenti scarsamente differenziati sono stati considerati di basso grado (LG) (che corrispondeva a tutti i casi G1; Figura 3a,b), mentre 137 casi con $\geq 6\%$ di componente scarsamente differenziata sono stati considerati di alto grado (HG) (che corrispondeva ai casi G2 e G3; Figura 3c,d).

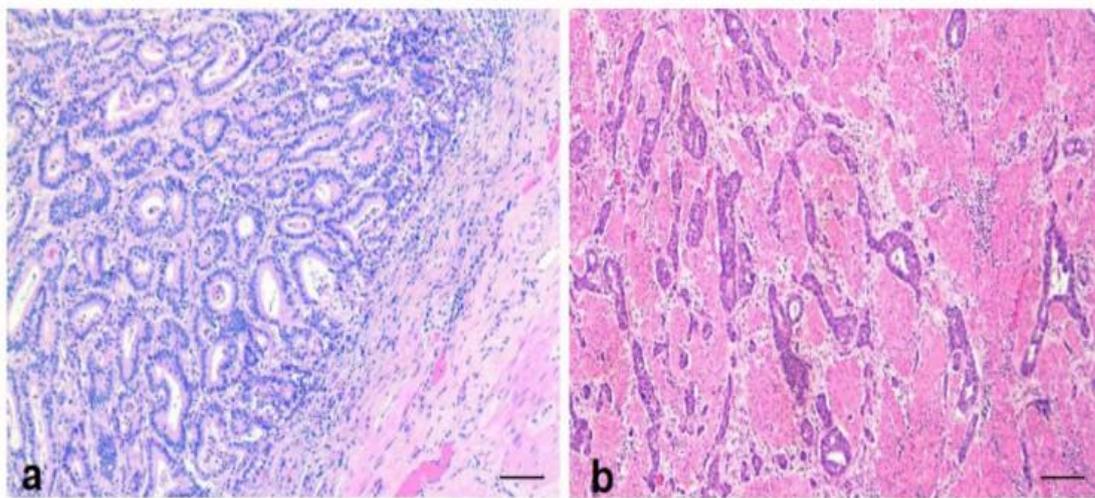


Figura 3.

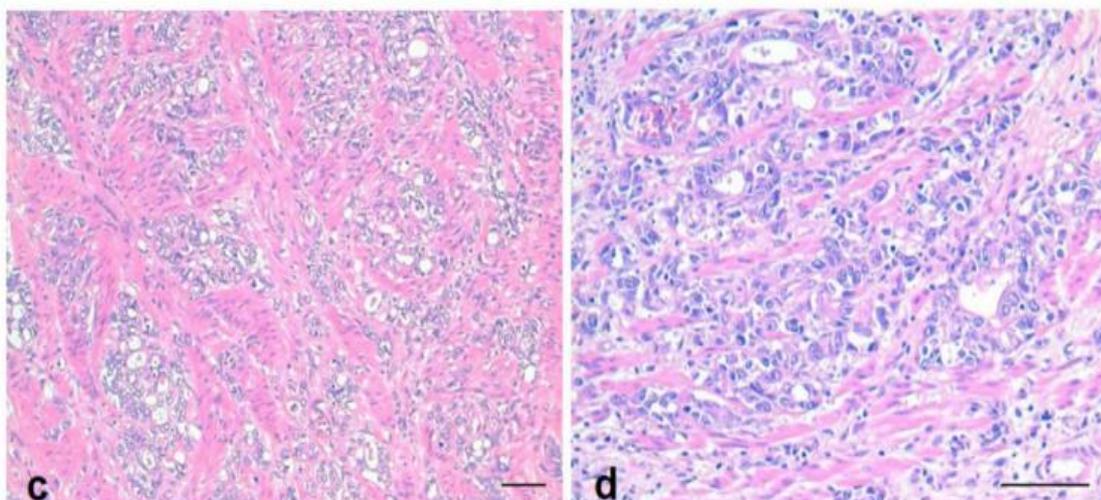


Figura 3.⁶³ Il sottotipo ghiandolare ben differenziato (GL-WD) è caratterizzato da ghiandole ben formate e può presentare un modello di crescita in espansione (a) o infiltrativo (b); la perdita della struttura ghiandolare (cioè, componente scarsamente differenziata) può essere osservata in meno del 6% dell'area del tumore.

(c,d) Sottotipo ghiandolare scarsamente differenziato (GL-PD): due esempi del componente scarsamente differenziato che mostra la perdita della struttura ghiandolare con coesione cellulare preservata. Questo modello caratterizza GL-PD, mostra un modello di crescita infiltrativo e si trova solitamente nella porzione profonda del tumore (ematossilina ed eosina; barre di scala 100 micron).

Oltre agli adenocarcinomi con caratteristiche ghiandolari con pattern tubolari/papillari/solidi, sono stati identificati 59 casi (19,7%) come sottotipi morfologici rari, tumori con componenti mucinose, ad anello con castone/cellule non coesive e con caratteristiche miste. Poiché in letteratura ci sono poche informazioni disponibili per gli istotipi rari di EA/EGJA, sono state ricercate somiglianze con istotipi rari di cancro gastrico.

In particolare, per quanto riguarda le neoplasie mucinose, è stato identificato un carcinoma muconodulare mucinoso (MMC)⁶², definito come tumore che mostra una "componente mucinosa schiacciante (80% o più) sotto forma di laghi di mucina ben delimitati, con cellule tumorali galleggianti all'interno, predominanza della mucina extracellulare sulle cellule tumorali, pattern di crescita generalmente espansivo e con moderata anaplasia cellulare".

Questi MMC sono stati distinti dai restanti carcinomi mucinosi invasivi (IMC), che hanno mostrato un modello di crescita infiltrativo⁶⁵, cellularità più elevata e una maggiore atipia cellulare. Come descritto in precedenza, in entrambi questi tipi di tumore, SRC può essere trovato galleggiante in laghi extracellulari di mucina, ma questi aspetti non dovrebbero portare a una diagnosi di carcinoma SRC⁶⁴⁻⁶⁶. I carcinomi a cellule non coesive sono stati separati in carcinomi desmoplastici diffusi (DDC), definiti come "carcinomi non coesivi in cui una desmoplasia ricca di fibroblasti circonda singole (o piccoli gruppi di) cellule tumorali, moderatamente atipiche, con cellularità limitata", e carcinomi anaplastici diffusi (DAC) caratterizzati da "cellule di medie/grandi dimensioni scarsamente coese, con nuclei grandi, pleomorfi e altamente atipici, nucleoli prominenti, alti tassi di

proliferazione, alta cellularità e scarso stroma”⁶⁷. Una componente di SRC è stata descritta in entrambi i tipi di cancro, e questi sono più abbondanti nella porzione superficiale dei DDC⁶⁷, mentre si trovano in modo variabile nei DAC.

Gli adenocarcinomi misti (MIX) sono stati definiti come tumori che mostrano due o più distinti componenti istologiche (ghiandolari/tubulari/papillari e scarsamente coesi/anello con sigillo) secondo i criteri dell'OMS per l'adenocarcinoma gastrico (poiché nessuno è specificamente disponibile per EA/EGJA)⁶⁶.

In particolare sono stati identificati 8 carcinomi muconodulari mucinosi⁶³ - MMC (Figura 4a, b); 17 carcinomi mucinosi invasivi - IMC (Figura 4c-e); 5 carcinomi desmoplastici diffusi - DDC (Figura 4f, g); 9 carcinomi anaplastici diffusi - DAC (Figura 4h,i); 20 carcinomi misti (Figura 5a, b).

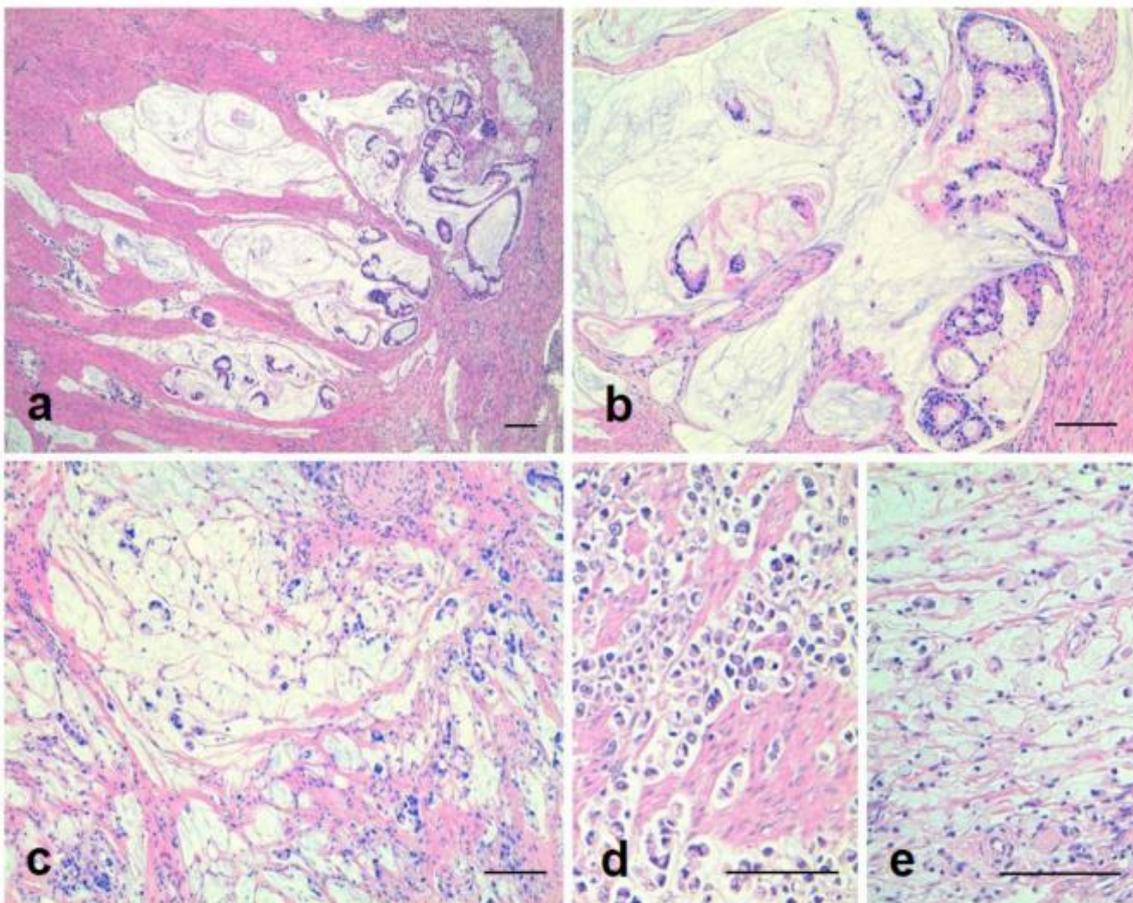


Figura 4.

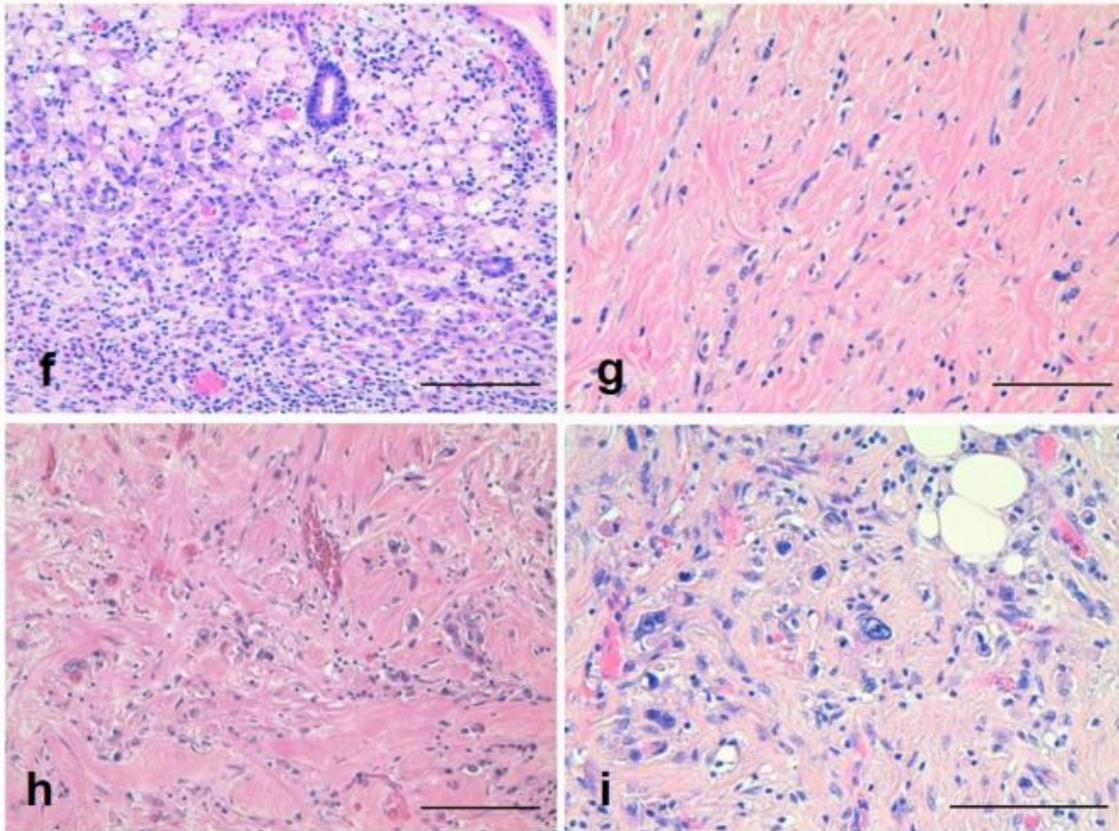


Figura 4⁶³. Istotipi rari di EA/EGJA. (a, b) Carcinoma muconodulare mucinoso (MMC): il modello di crescita è esclusivamente in espansione. (c-e) Carcinoma mucinoso infiltrativo (IMC): cellule tumorali scarsamente coesive, isolate o in piccoli aggregati, mostrano un pattern infiltrativo (c) con un grado variabile di atipia (d) e possono avere caratteristiche cellulari ad anello con castone (e). (f, g) Carcinoma desmoplastico diffuso (DDC): le cellule ad anello con castone sono spesso limitate alla parte più superficiale del tumore (f), mentre la parte profonda mostra una crescita infiltrativa, una lieve atipia citologica e poche mitosi (g). (h,i) Carcinoma anaplastico diffuso (DAC): il modello di crescita del tumore è infiltrativo con cellule scarsamente coesive (h), ma, a differenza del "tipo desmoplastico diffuso", le cellule mostrano un alto grado di atipie citologiche (i) e numerose mitosi. (ematossilina ed eosina; barre di scala 100 micron).

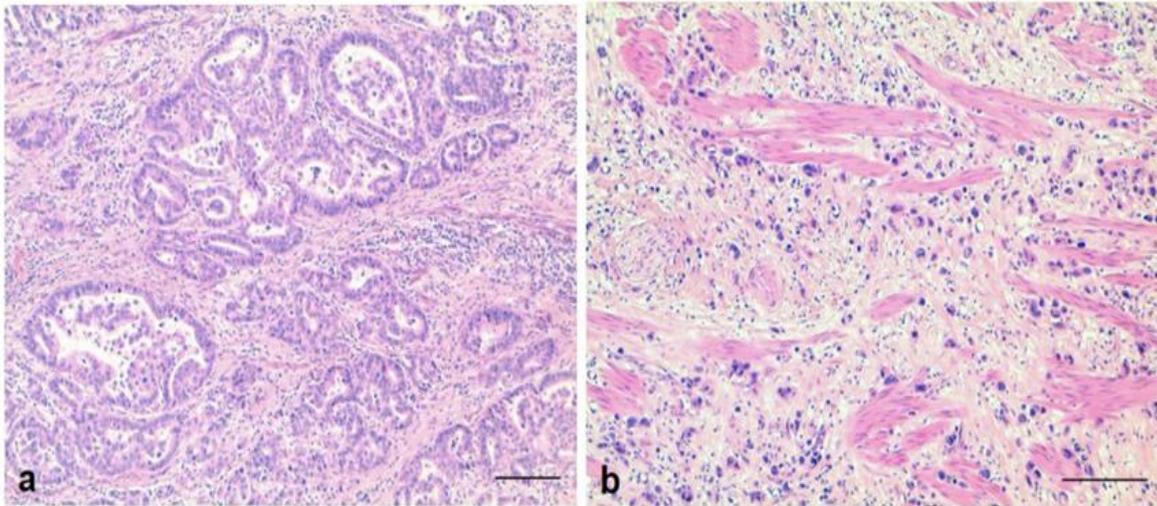


Figura 5⁶³. Il sottotipo misto mostra una mescolanza di aspetti francamente ghiandolari (a) e una componente cellulare scarsamente coesiva (b). Le figure (a,b) appartengono a diverse aree dello stesso tumore e mostrano la contemporanea presenza di una componente ghiandolare differenziata e di una componente scarsamente coesiva (ematossilina ed eosina; barre di scala 50 micron).

Sono stati quindi valutati i 299 casi⁶³ (243 maschi/56 femmine, età media 72 anni—

IQR 62-78). Nella Tabella 2 viene mostrato un riassunto delle caratteristiche cliniche e patologiche. Fatta eccezione per otto casi di stadio p IB (tutti T2-N0), gli altri erano di stadio II (72 casi- 24,1%), stadio III (149 casi—49,8%) o stadio IVA (70 casi—23,4%).

Tabella 2. Principali caratteristiche cliniche e patologiche della casistica.

Main Clinical Characteristics			
Gender	Male		243 (81.3%)
	Female		56 (18.7%)
Age (yrs)	Median		IQR
	72		62–78
Siewert	1	2	3
	119 (39.8%)	124 (41.5%)	56 (18.7%)
R status	0		1
	280 (93.6%)		19 (6.4%)
Lymph node Number	Median		IQR
	28		20–41
Main Pathologic Characteristics			
T	1–2	3	4
	95 (31.8%)	179 (59.9%)	25 (8.4%)
Stage (pTNM)	Ib-II	III	IV
	80 (26.8%)	149 (49.8%)	70 (23.4%)
Laurén	Intestinal	Diffuse	Unclassified
	250 (83.6%)	29 (9.7%)	20 (6.7%)
Ming	Expanding		84 (28.1%)
	Infiltrative		215 (71.9%)
Histological subtype	Lower risk		116 (38.8%)
	Glandular Well Differentiated		103 (34.4%)
	Mucinous Muconodular Carcinoma		8 (2.7%)
	Diffuse Desmoplastic Carcinoma		5 (1.7%)
	Higher risk		183 (61.2%)
	Glandular Poorly Differentiated		137 (45.8%)
	Invasive Mucinous Carcinoma		17 (5.7%)
	Diffuse Anaplastic Carcinoma		9 (3%)
	Mixed Carcinoma		20 (6.7%)

yrs—years; IQR—interquartile range.

Il modello prevalente di crescita secondo Ming è infiltrativo, con solo il 28,1% (84) di casi in crescita espansiva. La maggior parte degli adenocarcinomi sono stati classificati secondo la classificazione di Laurén come tipo intestinale (250 casi—83,6%) e una minoranza è stata classificata come tipo diffuso (29 casi—9,7%) o non classificata (20 casi—6,7%). Componenti di cellule ad anello con castone (che vanno da un minimo del 5% a un massimo del 90% di cellule neoplastiche) sono stati identificati in 53 casi (17,7%), 25 dei quali mostravano >15% di SRC.

Risultati dello studio

Tabella 3. Risultati.

UNIVARIATE ANALYSIS			Kaplan–Meier Analysis			Cox Regression Analysis		
Variables	Criterion	No. Patients	CSS		p	HR	95% CI	p
			Censored	No. of Events				
Cut off of loss of glandular structure (i.e., poorly differentiated component)	<6	103	76	27	<0.0001	2.361	1.504–3.707	<0.0001
	≥6	137	73	64				
Ming's growth pattern	Infiltrative	165	98	67	0.011	0.551	0.345–0.881	0.013
	Expansive	75	51	24				
Vascular invasion	No	88	66	22	0.001	2.184	1.351–3.531	0.001
	Yes	152	83	69				
Perineural invasion	No	131	92	39	<0.0001	2.110	1.385–3.214	0.001
	Yes	109	57	52				
MULTIVARIATE ANALYSIS								
Variables			p					
Ming			0.901					
						HR	95% CI	
6% cut-off of loss of glandular structure (i.e., poorly differentiated component)			0.010			1.860	1.160–2.981	
Vascular invasion			0.036			1.702	1.036–2.797	
Perineural invasion			0.040			1.588	1.020–2.472	

CSS—cancer specific survival; HR—hazard ratio; CI—confidence interval.

L'analisi della sopravvivenza⁶³ in relazione alla classificazione di Laurén non ha mostrato differenze significative (Figura 4), né considerando separatamente i tipi intestinali, diffusi e non classificati, né raggruppando i tipi diffusi e i non classificati considerandoli separatamente a quelli intestinali. La classificazione WHO Classification of Tumors 2019³⁶, che include gli istotipi tubolari, papillari,

mucinosi, scarsamente coesi/ad anello con castone e misti, non ha mostrato alcuna correlazione con la sopravvivenza ($p = 0,325$).

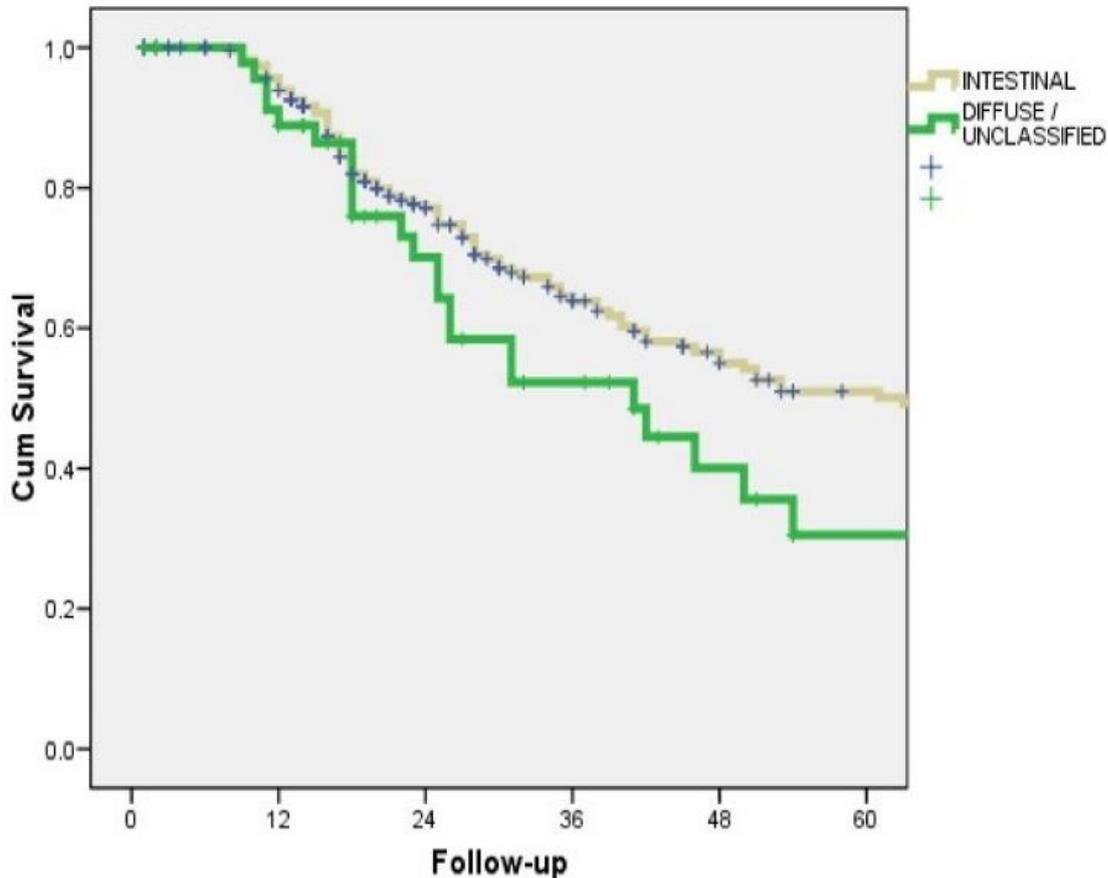


Figura 6⁶³. Curva CSS di Kaplan-Meier per i pazienti con istologia intestinale e diffusa/non classificata secondo la classificazione di Laurén: la CSS a 5 anni era del 51% per il sottotipo intestinale (250 casi) e del 30,5% per il sottotipo diffuso/non classificato (49 casi) ($p = 0,089$).

Per quanto riguarda solo gli adenocarcinomi ghiandolari, la percentuale della componente scarsamente differenziata ($p < 0,0001$), il modello di crescita infiltrativa di Ming ($p = 0,011$), l'invasione vascolare ($p = 0,001$) e l'invasione perineurale ($p < 0,0001$) hanno avuto un impatto negativo sulla sopravvivenza cancro-specifica (CSS) nell'analisi univariata. Il grado (G1 contro G2 contro G3) secondo la classificazione dei tumori dell'OMS 2019 è un buon predittore di sopravvivenza ($p < 0,0001$) (Figura 7a). Quando sono state analizzate separatamente le differenze di sopravvivenza tra i casi G2 rispetto ai casi G3, queste erano statisticamente significative ($p = 0,013$), ma con un'inferenza

statistica inferiore. Il cut-off del 6% per il componente scarsamente differenziato identificato dall'analisi della curva ROC, correlava con la sopravvivenza allo stesso modo del grado, ma con solo due livelli ($p < 0,0001$) (Figura 7b). L'analisi multivariata è stata effettuata considerando tutte le caratteristiche prognosticamente significative identificate all'analisi univariata. All'analisi multivariata, $\geq 6\%$ di componenti scarsamente differenziati (usati per separare adenocarcinomi ghiandolari di basso grado/ben differenziati (GL-WD) rispetto ad adenocarcinomi ghiandolari di alto grado/scarsamente differenziati (GL-PD)) era la caratteristica meglio correlata con la sopravvivenza ($p = 0,010$), mentre anche l'invasione vascolare e l'invasione perineurale si sono dimostrate statisticamente significative ma con un'inferenza statistica inferiore ($p = 0,036$ e $p = 0,040$, rispettivamente) (Tabella 3)⁶³.

Per quanto riguarda gli istotipi rari, è stata rilevata una differenza significativa nella frequenza di mortalità tra MMC e DDC rispetto a IMC, DAC e carcinomi misti ($p = 0,0125$).

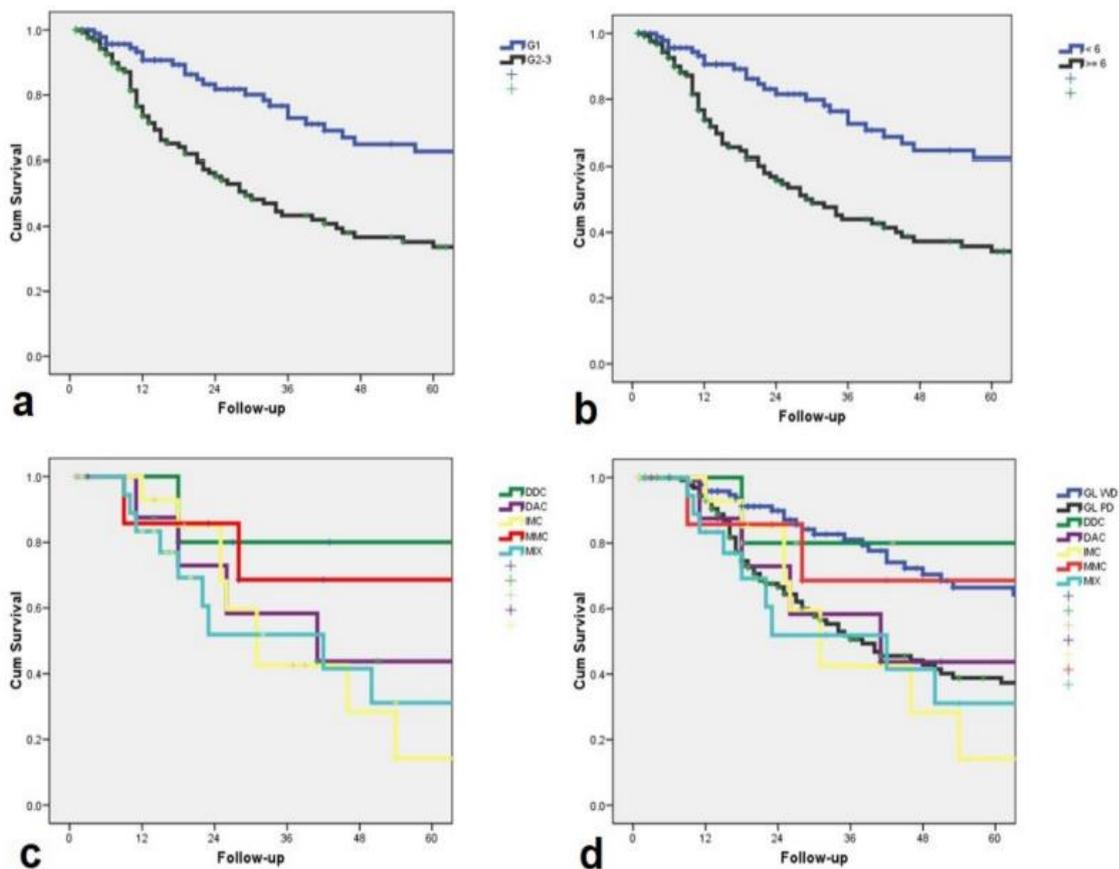


Figura 7⁶³. (a) Curva di sopravvivenza di Kaplan-Meier specifica per il cancro (CSS) secondo il sistema di classificazione dell'OMS per i pazienti con G1 (103 casi) rispetto a G2-G3 (137 casi). La differenza nella sopravvivenza era altamente significativa ($p < 0,0001$). (b) Curva CSS per pazienti con adenocarcinoma ghiandolare divisa in base al cut-off del 6% di componenti scarsamente differenziati identificati da ROC ($< 0,0001$). (c) Curve CSS solo di istotipi rari e (d) curve CSS di tutti gli istotipi, compresi i sottotipi ghiandolari ben differenziati e ghiandolari scarsamente differenziati. Abbreviazioni: GL-WD: sottotipo ghiandolare ben differenziato; GL-PD: sottotipo ghiandolare scarsamente differenziato; MMC: carcinoma muconodulare mucinoso; IMC: carcinoma mucinoso invasivo; DDC: carcinoma desmoplastico diffuso; DAC: carcinoma anaplastico diffuso; MIX: carcinoma misto.

Gruppi istologici prognostici

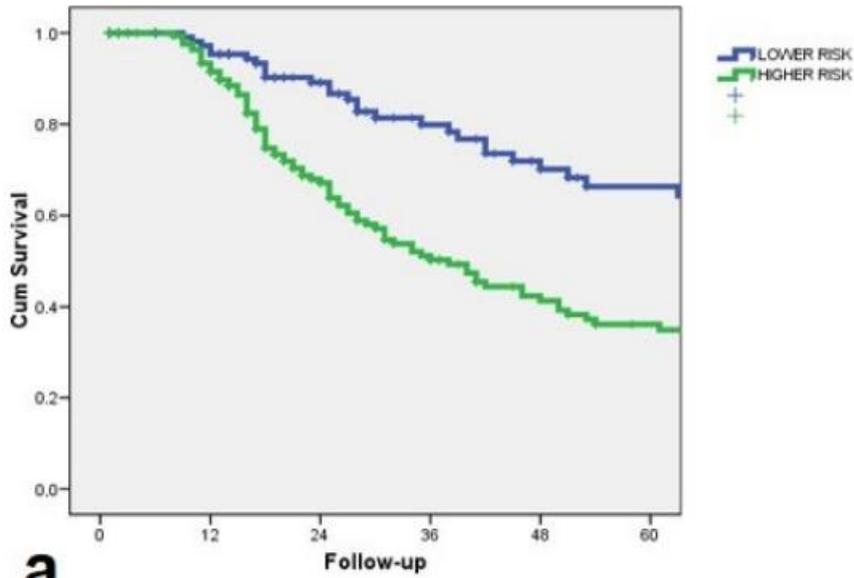
Secondo la curva di Kaplan-Meier per i pazienti classificati secondo i sette sottotipi istologici (istotipi ghiandolari e rari insieme) la sopravvivenza cancro-specifica a 5 anni ($p = 0,003$) (Figura 5d) è risultata la seguente:

- GL-WD (103 casi): CSS= 66,4%
- GL-PD (137 casi): CSS= 38,9%
- MMC (8 casi): CSS=68,6%
- IMC (17 casi): CSS=14,2%
- DDC (5 casi): CSS=80%
- DAC (9 casi): CSS=43,8%
- MIX (20 casi): CSS= 31,2%

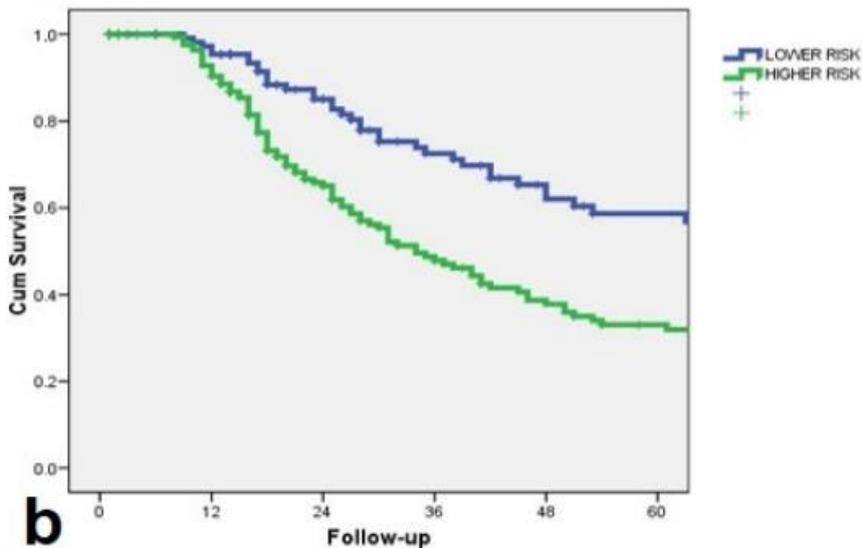
Sulla base di questi risultati, sono stati identificati due sottotipi istologici con una prognosi chiaramente diversa⁶³: carcinomi a basso rischio (LR) (che comprendono i sottotipi GL-WD, MMC e DDC) e carcinomi ad alto rischio (HR) (che comprendono GL-PD, IMC, DAC e sottotipi misti) (Figura 6a, b). La sopravvivenza di questi due gruppi era significativamente differente in termini di CSS ($p < 0,0001$), DFS ($p = 0,001$), e OS ($p < 0,0001$).

5-year CSS:

- **Low risk LR carcinoma: 66.3%**
- **High risk HR carcinoma: 36.1%**



a



b

Figura 8⁶³. Curva Kaplan-Meier CSS (a) e DFS (b) per pazienti con carcinomi a basso rischio (GL-WD, MMC, DDC) (116 casi) e carcinomi ad alto rischio (carcinoma GL-PD, IMC, DAC, MIX) (183 casi) ($p < 0,0001$ ep = 0,001 rispettivamente). 5 anni La CSS era del 66,3% per i carcinomi a basso rischio e del 36,1% per i carcinomi ad alto rischio. Abbreviazioni: GL-WD: sottotipo ghiandolare ben differenziato; GL-PD: sottotipo ghiandolare scarsamente differenziato; MMC: carcinoma muconodulare mucinoso; IMC: carcinoma mucinoso invasivo; DDC: carcinoma desmoplastico diffuso; DAC: carcinoma anaplastico diffuso; Mix- carcinoma misto.

Analisi di sopravvivenza dell'intera coorte

L'analisi univariata su tutte le serie di casi ha mostrato che l'età (>72 anni), la presenza della componente SRC in almeno il 5% delle cellule neoplastiche, la presenza di qualsiasi componente cellulare tumorale non coesiva, il pattern di crescita infiltrativo secondo Ming e la presenza di l'invasione vascolare e perineurale ha avuto un impatto negativo sulla CSS (Tabella 3) ($p < 0,05$). Confrontando tutti i parametri considerati con CSS nell'analisi multivariata, solo quattro di questi hanno mantenuto un impatto prognostico significativo: stadio ($p < 0,0001$), classificazione istologica (rischio più elevato rispetto a rischio inferiore; $p = 0,001$), età del paziente > 72 anni ($p = 0,008$) e l'invasione vascolare ($p = 0,015$) (Tabella 3). Infine, la valutazione combinata dello stadio e dei sottotipi istologici (rischio più basso rispetto a quello più alto) ha mostrato una significativa discriminazione prognostica, con valori di CSS a 5 anni che vanno dall'87,6% nel gruppo a rischio inferiore in stadio II al 14% nel gruppo a rischio più alto in stadio IVA (Schema 1).

Tabella 4. Risultati dell'analisi statistica univariata e multivariata di sopravvivenza.

UNIVARIATE ANALYSIS								
Variables	Criterion	No. Patients	Kaplan–Meier Analysis		<i>p</i>	Cox regression Analysis		
			CSS			HR	95% CI	<i>p</i>
			Censored	No. of Events				
Age (yrs)	<72	148	93	55	0.013	1.580	1.095–2.279	0.015
	≥72	151	90	61				
Signet ring	<5%	246	156	90	0.030	1.610	1.039–2.495	0.033
	≥5%	53	27	26				
Non Cohesive cells	No	221	142	79	0.014	1.617	1.094–2.392	0.016
	Yes	78	41	37				
Ming's growth pattern	Infiltrating	215	125	90	0.004	0.534	0.344–0.827	0.005
	Expanding	84	58	26				
Lauren's classification	Intestinal	250	157	93	0.089	1.479	0.935–2.338	0.094
	Diffuse/Unclassified	49	26	23				
Vascular Invasion	No	107	80	27	<0.0001	2.242	1.456–3.450	<0.0001
	Yes	192	103	89				
Perineural Invasion	No	165	112	53	0.001	1.883	1.303–2.721	0.001
	Yes	134	71	63				
Stage (pTNM)	I/II	80	63	17	<0.0001	2.337	1.785–3.060	<0.0001
	III	149	89	60				
	IV	70	31	39				
Histologic classification	Lower risk	116	86	30	<0.0001	2.415	1.593–3.664	<0.0001
	Higher risk	183	97	86				

MULTIVARIATE ANALYSIS			
Variables	<i>p</i>	HR	95% CI
Signet ring	0.297		
Non-cohesive cells	0.250		
Ming's growth pattern	0.824		
Lauren's classification	0.671		
Perineural Invasion	0.245		
Stage (pTNM)	<0.0001	2.089	1.588–2.749
Histologic classification	0.001	2.047	1.336–3.135
Age	0.008	1.659	1.142–2.411
Vascular Invasion	0.015	1.726	1.113–2.677

yrs—years; CSS—cancer-specific survival; HR—hazard ratio; CI—confidence interval.



Schema 1. Distinzione dei pazienti in base allo stadio patologico, alla sopravvivenza cancro-specifica (CSS) e ai tipi istologici a rischio più basso/alto.

In conclusione⁶³, la principale novità di questo studio è stata l'introduzione di un algoritmo diagnostico che separa gli adenocarcinomi con architettura ghiandolare dagli istotipi rari, e classifica ulteriormente i primi e sottotipi i secondi. Questa distinzione morfologica ha dimostrato di avere un impatto prognostico statisticamente significativo da sola o dicotomizzata in carcinomi a rischio più basso e più alto, specialmente se abbinata allo stadio. In effetti, la combinazione stadio+istotipo mostra un elevato potere discriminante per la CSS a 5 anni, che va dall'87,6% nel gruppo a rischio più basso in stadio II al 14% nel gruppo a rischio più alto in stadio IVA. Per convalidare i risultati e valutare la facilità di applicazione, i risultati di questo studio dovranno essere confermati su diverse serie di tumori naïve al trattamento con caratteristiche simili. Infine, poiché la terapia neoadiuvante sta diventando lo standard di trattamento di tali tumori, la naturale evoluzione di questo studio prevede la valutazione dell'applicabilità di questi criteri morfologici su biopsie endoscopiche pre-trattamento e su campioni chirurgici successivi a terapia neoadiuvante.

Terapia

Come per tutti i tumori, la corretta stadiazione è essenziale per la scelta e il buon esito a distanza della terapia dell'EA e dell'EGJA. In epoca recente infatti, il miglioramento prognostico è da ricercare nel cambio epidemiologico (maggiore prevalenza di adenocarcinoma nei paesi occidentali), aumento delle diagnosi precoci (identificazione di condizioni precancerose come l'esofago di Barrett), analisi pre-operatoria dei fattori di rischio chirurgici, approccio clinico multidisciplinare, aumento resecabilità R0, miglioramento dell'assistenza anestesologica e riabilitazione postoperatoria (la terapia antalgica epidurale postoperatoria, consentendo la mobilizzazione precoce del paziente, riduce le complicanze polmonari), miglioramento delle cure postoperatorie e in gran parte nel miglioramento della stadiazione¹⁵.

La scelta della terapia ad oggi è basata sul pTNM:

- Si stima che il rischio di metastasi linfonodali nei tumori dell'esofago confinati alla mucosa (T1a), principalmente adenocarcinomi nella pratica clinica, sia dell'1%-2%, pertanto un trattamento endoscopico locale può essere considerato sufficiente come trattamento definitivo. L'approccio terapeutico più comune è la combinazione di tecniche di resezione endoscopica (EMR) per rimuovere il tessuto neoplastico associate a tecniche ablativo come le radiofrequenze per rimuovere il tessuto metaplastico/displastico residuo. La sua efficacia terapeutica arriva fino al 98% e le sue potenziali complicanze includono sanguinamento, perforazione e stenosi. Anche negli adenocarcinomi T1b, ben o moderatamente differenziati senza invasione linfovaskolare o metastasi linfonodali, è stato dimostrato che il trattamento endoscopico è l'opzione preferita perché il tasso di coinvolgimento linfonodale è solamente del 6%⁶⁸.
- Nei pazienti con neoplasie che coinvolgono la tonaca muscolare propria (T2-T3-T4) è necessario l'intervento chirurgico, con ESOFAGECTOMIA o ESOFAGO-GASTRECTOMIA (per i carcinomi giunzionali).

L'esofagectomia è il trattamento principale nel trattamento del carcinoma dell'esofago in stadio iniziale, con obiettivo di resezione chirurgica oncologicamente radicale (R0), ovvero senza residuo macroscopico e microscopico (assenza di cellule tumorali ad 1mm dal margine di resezione). L'esofagectomia è ancor oggi uno degli interventi chirurgici più impegnativi in termini di morbilità e mortalità operatoria⁶⁹. L'esofagectomia, insieme alla duodenocefalopancreasectomia, è uno dei due interventi più difficili che eseguono i chirurghi generali, con morbilità e mortalità piuttosto alte. Nei centri ad alto volume la mortalità è di poco inferiore al 5%, che è un valore altissimo, considerando che per la maggior parte degli altri interventi curativi per svariate neoplasie la mortalità è molto più bassa.

La procedura va attuata in pazienti attentamente selezionati, ovvero in coloro che possono effettivamente beneficiare della resezione per un significativo prolungamento di quantità e qualità di vita⁷⁰, tenendo conto dell'età ma soprattutto delle comorbidità presenti e la loro entità, che rappresentano i maggiori fattori di rischio di complicanze cardiovascolari e polmonari nel periodo post-operatorio.

- Nei pazienti con carcinomi localmente avanzati (da T3/N1 in su) la terapia chirurgica non è comunque sufficiente, e vi è ormai indicazione assoluta alla terapia neoadiuvante. Nel carcinoma dell'esofago infatti il trattamento neoadiuvante (possibilmente chemioradioterapico) si fa preferire al trattamento adiuvante in termini di compliance, fattibilità, tossicità ed efficacia. Gli approcci terapeutici neoadiuvanti riguardano la chemioterapia (CT) preoperatoria e la chemioradioterapia (CT/RT) preoperatoria¹⁵. Il solo trattamento radioterapico preoperatorio non è raccomandato, ad eccezione dei casi in cui il paziente non è idoneo per CT o CT/RT combinata preoperatoria. Nei pazienti in buone condizioni cliniche con adenocarcinoma resecabile dell'esofago distale, un trattamento concomitante chemioradioterapico neoadiuvante dovrebbe essere preso in considerazione come prima opzione⁷¹.

Il principale obiettivo del trattamento neoadiuvante, che rappresenta la premessa per il controllo della malattia nel tempo, è l'ottenimento di una risposta completa patologica.

Gli schemi di chemioterapia per trattamento neoadiuvante nei pz con adenocarcinoma dell'esofago sono:

- cisplatino 75-100 mg/m² + fluorouracile 750-1000 mg/m² in infusione continua x 96 ore ogni 28 giorni concomitanti a radioterapia;
- carboplatino AUC 2 + paclitaxel 50 mg/m² settimanali x 5 settimane concomitanti a radioterapia⁷².

Per quanto riguarda la RT invece la Conformazionale Tridimensionale (3D-CRT) è considerata la terapia radiante standard, permettendo precisa e affidabile distribuzione di dose ai volumi bersaglio con buon risparmio di tessuti sani circostanti⁷³. La coregistrazione di immagini TC con PET/TC e/o EUS nella pianificazione del trattamento permette inoltre di ottimizzare accuratezza e dettaglio di definizione del target così come avviene con RT guidata dalle immagini.

I pazienti sottoposti a esofagectomia (R0) per adenocarcinoma dell'esofago distale non dovrebbero essere sottoposti a chemioradioterapia adiuvante⁷⁴.

- I casi T4b non sono operabili e pertanto afferiscono alle cure palliative.

SCOPO DEL LAVORO

Un recente lavoro pubblicato dal Gruppo europeo di Studio dell'adenocarcinoma dell'esofago e della giunzione esofago-gastrica (EACSGE) su una ampia casistica di adenocarcinomi dell'esofago e della giunzione esofago gastrica naïve (non sottoposti a terapia neoadiuvante)⁶³ già citato in precedenza ha dimostrato che la separazione degli adenocarcinomi ghiandolari dagli altri istotipi rari, accoppiata a graduazione degli adenocarcinomi ghiandolari (alto grado di differenziazione verso basso grado di differenziazione) e sottotipizzazione degli istotipi rari (carcinoma mucinoso muconodulare vs carcinoma mucinoso invasivo; carcinoma diffuso desmoplastico vs carcinoma diffuso anaplastico; forme miste costituite da una componente a cellule coese – ghiandolare/mucinoso – e una componente a cellule non coese) ha un significativo impatto prognostico. Infatti sia i differenti sottotipi di adenocarcinoma sia una dicotomizzazione degli stessi in forme a minor rischio (LR -ghiandolare ben differenziato, mucinoso muconodulare, diffuso desmoplastico) e a maggior rischio (HR -ghiandolare poco differenziato, mucinoso invasivo, diffuso anaplastico e forme miste) in associazione allo stadio patologico di malattia, mostra significative differenze nella sopravvivenza cancro specifica (CSS) a 5 anni, con range di sopravvivenza che variano dall'87,6 nei carcinomi LR in II stadio al 14% nei carcinomi HR in IV stadio.

Poiché attualmente gli adenocarcinomi dell'esofago e della giunzione esofago-gastrica vengono sottoposti a terapia neoadiuvante prima dell'intervento chirurgico, scopo di questo lavoro è valutare se la classificazione dei sottotipi istologici e/o la segregazione di istotipi a maggiore e minor rischio sia applicabile sulle biopsie pre-intervento, con quale grado di efficacia e se ci sia un numero minimo di biopsie/biopsie neoplastiche utile per applicare con maggior confidenza tale sottoclassificazione sul materiale bioptico.

MATERIALI E METODI

Selezione della casistica

La casistica originale già pubblicata⁶³ comprende 299 adenocarcinomi dell'esofago e della giunzione esofago gastrica, di cui 116 classificati come adenocarcinomi lower risk (LR) e 183 higher risk (HR).

Dai database di refertazione delle 6 anatomie patologiche partecipanti allo studio (IRCCS Ospedale Policlinico San Martino Genova, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Humanitas Milano, Istituto Scientifico San Raffaele Milano, Istituto Europeo di Oncologia Milano e Azienda Ospedaliera di Verona) sono stati selezionati tutti i casi di cui fossero disponibili biopsie diagnostiche pre-intervento. Sono pertanto stati ricercati negli archivi delle Anatomie Patologiche i vetrini e i blocchetti di materiale fissato in formalina ed incluso in paraffina delle biopsie accoppiate ai campioni chirurgici per eseguire eventuali ritagli e colorazione con Ematossilina & Eosina per quei casi in cui i vetrini originali non fossero disponibili o non fossero più leggibili per problemi di aging del vetrino stesso.

Per ampliare la casistica, dal database della Anatomia Patologica dell'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino Genova sono stati estratti tutti i casi di adenocarcinomi dell'esofago e della giunzione esofago-gastrica, non sottoposti a terapia neoadiuvante, diagnosticati tra il 2003 ed il 2023; di questi si è verificato se fossero disponibili in sede anche i set di biopsie pre-intervento. Per tutti i casi in cui erano disponibili sia le biopsie pre-intervento sia i campioni chirurgici, i corrispondenti vetrini e blocchetti sono stati ricercati negli archivi della Anatomia Patologica; per quei casi in cui i vetrini non fossero più correttamente leggibili per problemi di aging, si è provveduto a effettuare ritagli e colorazione con Ematossilina & Eosina.

Valutazione istologica

La valutazione istologica dei campioni biotici e dei campioni chirurgici è stata eseguita in cieco da un anatomico patologo già coinvolto nella diagnosi e categorizzazione istologica della casistica originale di adenocarcinomi dell'esofago e della giunzione esofago-gastrica.

La valutazione istologica dei pezzi operatori ha riguardato solo i nuovi casi aggiunti alla casistica originale. La classificazione dei sottotipi istologici è stata effettuata sulla base dei criteri adottati nel precedente lavoro⁶³. In particolare sono stati identificati i seguenti sottotipi istologici:

Adenocarcinoma ghiandolare ben differenziato (GL-WD): caratterizzato da ghiandole ben formate con pattern di crescita prevalentemente, ma non esclusivamente, espansivo e con perdita di struttura ghiandolare in $\leq 5\%$ dell'area del tumore (Fig 9 A, B, C).

Adenocarcinoma ghiandolare scarsamente differenziato (GL-PD): caratterizzato da perdita della struttura ghiandolare in $>5\%$ della neoplasia, con preservazione della coesione cellulare e con pattern di crescita più frequentemente (ma non esclusivamente) infiltrativo (Fig 9 D, E, F).

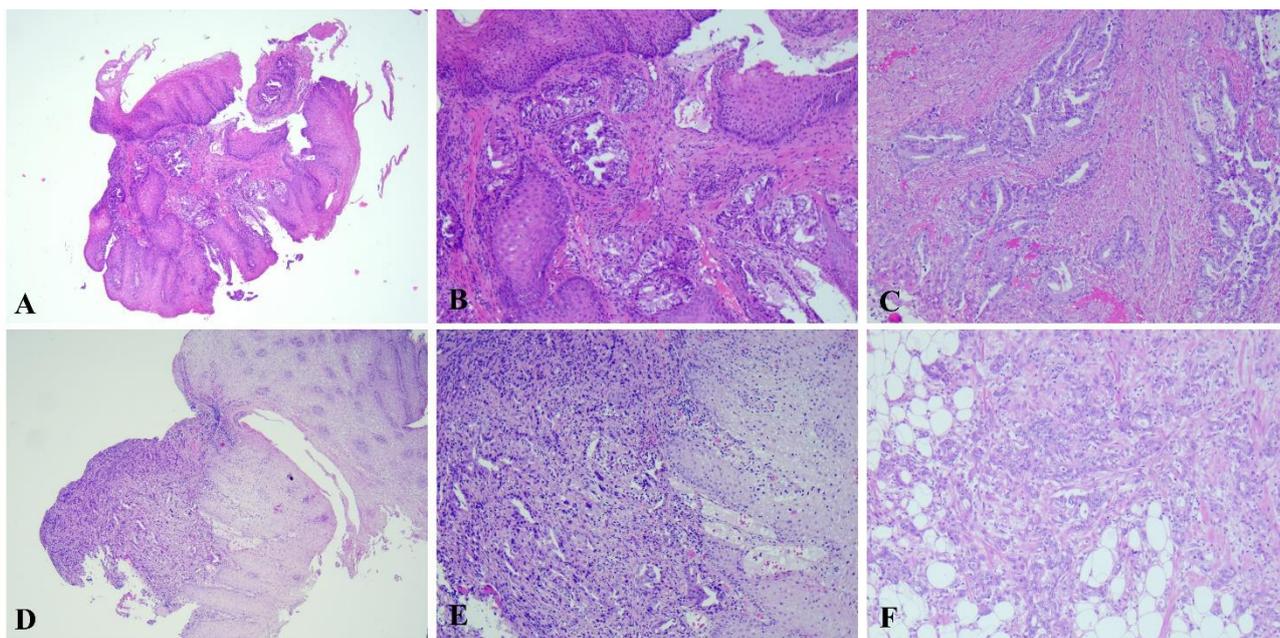


Fig. 9. Carcinoma GL WD su campione biotico (A-B) e corrispondente campione chirurgico (C). Carcinoma GL PD su campione biotico (D-E) e corrispondente campione chirurgico (F).

Carcinoma mucinoso muconodulare (MMC): caratterizzato da una crescita esclusivamente espansiva con ampi laghi di muco che accolgono nastri di epitelii differenziati, senza marcato affollamento cellulare (prevalgono i laghi di muco); possono essere presenti cellule poco coese e con morfologia ad anello con castone ma non sono prevalenti. (Fig 10, A-B-C).

Carcinoma mucinoso infiltrativo (IMC): caratterizzato da laghi di muco che accolgono cellule tumorali scarsamente coese, isolate o in piccoli aggregati, con grado variabile di atipia e con un pattern di crescita infiltrativo; possono essere presenti cellule con aspetto ad anello con castone o poco coese e talora queste sono prevalenti.

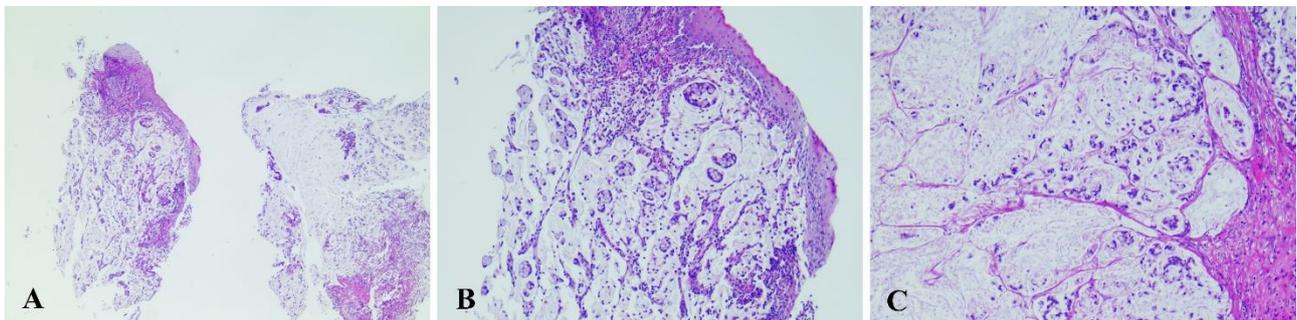


Fig 10. Carcinoma Mucinoso Muconodulare (MMC) su campione biotico (A-B) e corrispondente campione chirurgico (C).

Carcinoma diffuso desmoplastico (DDC): caratterizzato da elementi neoplastici poco coesi con cellule ad anello con castone spesso limitate alla parte più superficiale del tumore; la parte più profonda della proliferazione neoplastica mostra un marcato stroma fibroso desmoplastico in cui sono immerse cellule neoplastiche poco coese (spesso difficilmente distinguibili dagli elementi stromali) con lievi atipie citologiche, scarse mitosi e pattern di crescita infiltrativo.

Carcinoma diffuso anaplastico (DAC): caratterizzato da una proliferazione di cellule neoplastiche in elementi poco coesi, con maggior densità cellulare rispetto al DDC, rilevanti atipie cito-cariologiche, frequenti mitosi e pattern di crescita infiltrativo.

Carcinoma misto (MIX); caratterizzato da coesistenza di due componenti neoplastiche morfologicamente distinte, separate o embricate tra loro, di cui una rappresentata da elementi neoplastici coesi a morfologia ghiandolare (indipendentemente dal grado di differenziazione) o mucinosa ed una composta da cellule poco coese (con aspetti del DDC o del DAC). Ciascuna delle due componenti deve rappresentare almeno >5% della intera neoplasia.

La valutazione dei campioni bioptici selezionati è stata eseguita in cieco rispetto alla valutazione già eseguita sui pezzi operatori. Per ciascun campione è stato riportato il numero complessivo di biopsie, il numero di biopsie comprendenti neoplasia invasiva (escludendo i campioni bioptici costituiti da mucosa non neoplastica, da neoplasia non invasiva o da materiale necrotico-infiammatorio), il sottotipo istologico e la corrispondente presunta classe di rischio (Lower Risk - LR- vs Higher Risk - HR). Per il riconoscimento dei diversi sottotipi istologici sono stati utilizzati gli stessi criteri utilizzati per i campioni chirurgici; in tale contesto è da sottolineare che i parametri relativi al pattern di crescita non sono applicabili stante la superficialità dei campioni bioptici.

L'accoppiamento tra valutazioni eseguite su campioni chirurgici e campioni bioptici è stato effettuato a posteriori, utilizzando i dati anagrafici (cognome, nome e data di nascita del paziente) come parametro di accoppiamento univoco degli stessi.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata eseguita da statistici esperti della Università di Bologna, già coinvolti nella analisi statistica dei dati relativi al precedente lavoro pubblicato⁶³.

In prima istanza, per i 7 diversi sottotipi istologici sono stati valutati: 1) sensibilità; 2) specificità; 3) accuratezza; 4) valore predittivo positivo (VPP); 5) valore predittivo negativo (VPN); 6) numero di veri positivi (VP); 7) numero di falsi positivi (FP); 8) numero di falsi negativi (FN); 9) numero di veri negativi (VN). La sottoclassificazione effettuata sul campione chirurgico (dove è stato possibile effettuare una valutazione più accurata avendo a disposizione molteplici campionature della neoplasia) è stata utilizzata come parametro di riferimento (gold standard).

Il coefficiente di correlazione rho di Spearman è stato utilizzato come test di correlazione tra sottoclassificazione istologica effettuata su campione chirurgico vs campione bioptico e relativa classe di rischio.

L'analisi mediante ROC curve è stata utilizzata per verificare quale fosse il set bioptico minimo in grado di consentire la corretta sottoclassificazione istologica e categorizzazione del rischio con maggior sensibilità e specificità.

RISULTATI

Caratteristiche generali della casistica

L'intera casistica è costituita da 106 casi appaiati di campioni chirurgici e biopsie pre-intervento di adenocarcinomi dell'esofago e della giunzione esofago-gastrica (EA/EGJA) naïve. Settantacinque casi derivano dalla casistica originale; ulteriori 31 casi derivano dalla ricerca di EA/EGJA eseguita sul materiale di archivio della Anatomia Patologica dell'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino di Genova. I casi hanno un range temporale compreso tra il 1998 ed il 2020.

Ottantaquattro pazienti (79%) erano di sesso maschile e 22 (21%) di sesso femminile, con una età media di 67,6 anni (min 40 anni; max 88 anni).

Il numero di biopsie disponibili per la valutazione istologica di ciascun caso variava da un minimo di 1 ad un massimo di 12 biopsie con un valore medio di 4,5 ed una mediana di 4 biopsie per caso. Il numero di biopsie in cui era presente carcinoma invasivo (ovvero il numero di biopsie effettivamente utili per la diagnosi) variava da un minimo di 1 ad un massimo di 10, con un valore medio ed una mediana di 3 biopsie per ciascun caso.

Le principali caratteristiche cliniche (stadio, pT, pN, pM) dei carcinomi della popolazione oggetto di studio sono riportati in Tab 5.

Tabella 5. Caratteristiche cliniche della popolazione.

SESSO		ETA'	Min	Max			
M	84	67	44	86			
F	22	68	40	88			
STADIO		pT		pN		pM	
1b	3	1	1	0	25	0	98
2a	10	2	26	1	34	1	8
2b	13	3	73	2	22		
3a	11	4	6	3	25		
3b	45						
4a	22						
4b	2						
TOT	106						

Per quanto riguarda lo stato dei linfonodi loco-regionali, il numero medio di linfonodi isolati per ciascun caso è stato di 28,7 linfonodi (con un minimo di 3 ed un massimo di 82 linfonodi per caso); in 81/106 casi (76%) uno o più linfonodi loco-regionali erano sede di metastasi carcinomatosa ed il numero di linfonodi metastatici variava da un minimo di 1 ad un massimo di 54. Il lymphnode ratio (rapporto tra numero di linfonodi isolati e numero di linfonodi positivi) ha presentato valori compresi tra 0.02 e 1.

Invasione vascolare è stata osservata in 54 casi (51%) mentre invasione perineurale è stata osservata in 47 casi (44%); 28 pazienti (26%) presentavano sia invasione vascolare sia invasione perineurale.

Classificazione dei sottotipi istologici su campione chirurgico e su campioni bioptici

La maggior parte degli EA/EGJA presentavano sul campione chirurgico una morfologia ghiandolare (86/106 – 81%) ed erano equamente distribuiti tra forme ben differenziate (43 GL WD, forme G1) e forme poco differenziate (43 GL PD, forme G2 e G3). Solo il 19% dei casi (20 casi) presentava morfologia corrispondente ad istotipi rari, e di questi la maggior parte erano forme miste (9 casi). In Tab 2 sono riportati i dettagli relativi alla diagnosi dei diversi sottotipi sia su campione chirurgico sia su campione bioptico. Da notare in particolare che su campione bioptico non è stato riconosciuto nessun sottotipo misto, mentre una quota maggiore di carcinomi a morfologia ghiandolare è stata classificata come GL WD rispetto al campione chirurgico (52 vs 43). Tali differenze si riflettono nella diversa attribuzione della classe di rischio su campioni bioptici e campioni chirurgici, con un maggior numero di casi classificati come Higher Risk su campione chirurgico (59/106; 56%) a confronto con un maggior numero di casi classificati come Lower Risk su campioni bioptici (56/106; 53%).

Tabella 6. Classificazione dei sottotipi istologici su campioni chirurgici e campioni bioptici

Classificazione su campioni chirurgici						
GL WD	MMC	DDC	GL PD	IMC	DAC	MIX
43	3	1	43	4	3	9
Lower Risk			Higher Risk			
47			59			
Classificazione su campioni bioptici						
GL WD	MMC	DDC	GL PD	IMC	DAC	MIX
52	4	0	40	5	5	0
Lower Risk			Higher Risk			
56			50			

Valutazione comparativa dei sottotipi istologici e della classe di rischio su campioni appaiati (campione chirurgico e relative biopsie pre-intervento).

È stata eseguita una dettagliata analisi comparativa tra i sottotipi istologici classificati sul campione chirurgico e sulle corrispondenti biopsie chirurgiche pre-intervento. Una sintesi di tali risultati è riportata in Tabella 7.

Per quanto concerne i carcinomi a morfologia ghiandolare, 39 dei 43 carcinomi ben differenziati sono stati correttamente diagnosticati anche sulle biopsie chirurgiche pre-intervento (91%) mentre 4 casi sono stati sovra-diagnosticati su biopsia come forme poco differenziate (ovvero a maggior rischio). Dei 43 carcinomi ghiandolari poco differenziati valutati su campione chirurgico invece, una minor quota (31/43 – 72%) sono stati correttamente diagnosticati sui campioni bioptici, mentre 12 casi sono stati sotto-diagnosticati come forme ben differenziate (e pertanto a minor rischio).

Per quanto riguarda gli istotipi rari, la scarsa numerosità dei campioni con tali caratteristiche non consente una analisi accurata. Tenuto conto di tali limiti, le forme mucinose muco-nodulari (3 casi) e mucinose invasive (4 casi) sono state riconosciute con una corrispondenza del 100% sulle biopsie appaiate ai campioni chirurgici. Al contrario, in entrambe le forme di carcinoma a cellule poco coese (diffuso desmoplastico e diffuso anaplastico), il campione bioptico non ha fornito

elementi dirimenti per la corretta categorizzazione. Nessuno dei casi classificati come carcinoma misto (corrispondenti a forme a maggior rischio) su campione chirurgico è stato diagnosticato come tale sul materiale bioptico. Più in particolare dei 9 carcinomi del sottotipo misto:

- 7 presentavano caratteristiche miste della forma ghiandolare poco differenziata e della forma diffusa anaplastica; 5 di questi sono stati diagnosticati su campioni bioptici come carcinomi ghiandolari poco differenziati e 2 come carcinomi diffusi anaplastici. In entrambi i casi la corrispondente classe di rischio non variava (forme a maggior rischio).
- 1 presentava caratteristiche del carcinoma ghiandolare ben differenziato e del carcinoma diffuso anaplastico; sul materiale bioptico è stato classificato come carcinoma ghiandolare ben differenziato, pertanto con attribuzione di una classe di rischio più bassa.
- 1 presentava caratteristiche del carcinoma mucinoso muconodulare e del carcinoma diffuso anaplastico e, sui campioni bioptici, è stato classificato come carcinoma mucinoso muconodulare, pertanto con attribuzione di una classe di rischio più bassa.

Per quanto concerne la classe di rischio, questa risente in maggior misura della diversa attribuzione dei casi a forme GL WD e GL PD sui campioni bioptici rispetto ai campioni chirurgici, ed in minor misura (anche per laminor frequenza complessiva) al diverso riconoscimento dei sottotipi rari. Complessivamente si è osservata una analoga categorizzazione del rischio su campione bioptico e corrispondente campione chirurgico per 42 su 47 forme a minor rischio (89%) e 45 su 59 forme a maggior rischio (76%), con 5 casi LR sovrastimati a HR e 14 casi HR sottostimati a LR sui campioni bioptici.

Tabella 7. Valutazione comparativa dei sottotipi istologici e della classe di rischio su campioni appaiati (campione chirurgico e relative biopsie pre-intervento).

Valutazione comparativa dei carcinomi ghiandolari	
Campione Chirurgico	Campione bioptico
43 GL WD	39 GLWD
	4 GL PD
43 GL PD	12 GL WD
	31 GL PD
Valutazione comparativa degli istotipi rari	
Campione Chirurgico	Campione bioptico
3 MMC	3 MMC
1 DDC	1 DAC
4 IMC	4 IMC
3 DAC	2 DAC
	1 IMC
9 MIX	1 GL WD
	5 GL PD
	1 MMC
	2 DAC
Valutazione comparativa della classe di rischio	
Campione Chirurgico	Campione bioptico
47 LR	42 LR
	5 HR
59 HR	14 LR
	45 HR

Il coefficiente di correlazione rho di Spearman è risultato pari a 0.754 con un $p < 0.0001$ nella correlazione tra sottotipi istologici diagnosticati nel campione chirurgico e corrispondenti biopsie pre-intervento. Il coefficiente di correlazione rho di Spearman è risultato pari a 0.653 con un $p < 0.0001$ nella correlazione tra classi di rischio (LR e HR) attribuite su campione chirurgico e corrispondenti biopsie pre-intervento.

La valutazione di sensibilità, specificità, accuratezza, valore predittivo positivo e valore predittivo negativo rispetto alla classificazione istologica su campioni bioptici appaiati a campioni chirurgici è stata possibile per i sottotipi GL WD, GL PD, MMC, IMC e DAC. Non è stato possibile calcolare tali parametri per il sottotipo DDC (1 solo caso diagnosticato su campione chirurgico e classificato come DAC sul campione bioptico) e per i carcinomi di tipo misto (9 casi

diagnosticati sul campione chirurgico vs 0 casi diagnosticati sui corrispondenti campioni biotici). La sintesi di questi dati è riportata nella Tab. 4. In particolare, i campioni biotici hanno mostrato sensibilità del 91%, specificità del 79% e accuratezza pari all'84% nella corretta classificazione del carcinoma GL WD e sensibilità del 72%, specificità dell'86% e accuratezza pari all'80% nella corretta classificazione del carcinoma GL PD.

Per quanto concerne la corretta attribuzione della classe di rischio, le biopsie hanno consentito l'attribuzione alla classe LR con sensibilità dell'89%, specificità del 76% e accuratezza pari all'82% e l'attribuzione alla classe HR con sensibilità dell'76%, specificità del 89% e accuratezza pari all'82%.

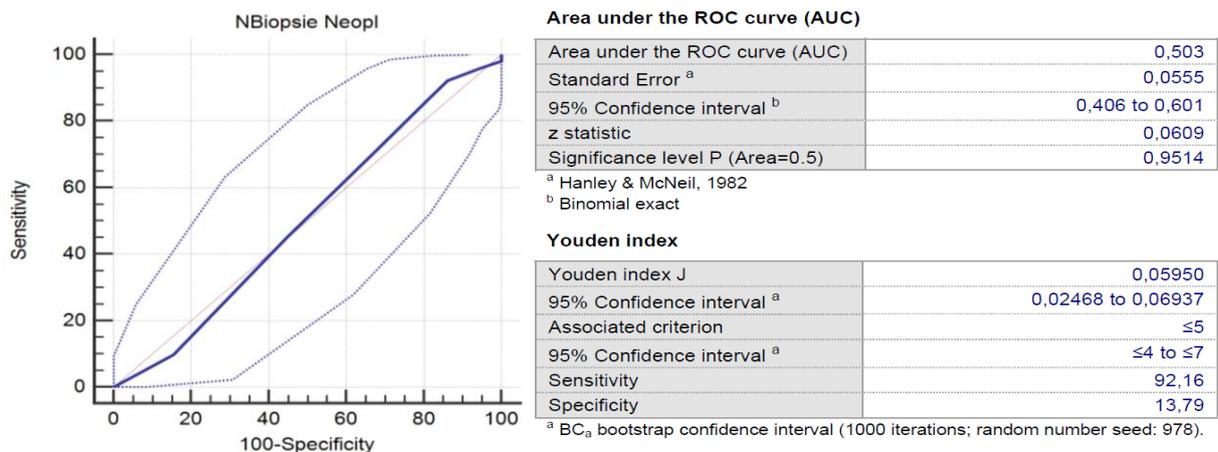
Classificazione Istologica	Sensibilità	Specificità	Accuratezza	VPP	VPN	VP	FP	FN	VN	Totale
GL WD	91%	79%	84%	75%	93%	39	13	4	50	106
GL PD	72%	86%	80%	78%	82%	31	9	12	54	106
MMC	100%	99%	99%	75%	100%	3	1	0	102	106
IMC	100%	99%	99%	80%	100%	4	1	0	101	106
DAC	100%	99%	99%	75%	100%	3	1	0	102	106
Classe di rischio	Sensibilità	Specificità	Accuratezza	VPP	VPN	VP	FP	FN	VN	Totale
LR	89%	76%	82%	75%	90%	42	14	5	45	106
HR	76%	89%	82%	90%	75%	45	5	14	42	106

Tabella 8. Legenda – VPP: valore predittivo positivo; VPN: valore predittivo negativo; VP: veri positivi; FP: falsi positivi; FN: falsi negativi; VN: veri negativi.

Valutazione della numerosità del set biptico in relazione a classificazione istologica e attribuzione della classe di rischio.

L'analisi mediante ROC curve ha evidenziato che un numero di almeno 5 biopsie comprendenti neoplasia invasiva (e pertanto informative), è necessario per la corretta classificazione istologica e attribuzione della classe di rischio dei EA/EGJA su campioni biptici pre-intervento (intervallo di confidenza 95% compreso tra 4 e 7, sensibilità del 92%). Tale analisi non ha comunque raggiunto la significatività statistica (Fig 11).

Figura 11. Analisi mediante ROC curve del numero di biopsie comprendenti neoplasia invasiva necessario per la corretta classificazione e categorizzazione del rischio.



DISCUSSIONE

Una recente pubblicazione dal Gruppo Europeo di Studio dell'Adenocarcinoma dell'Esophago e della Giunzione Esofago-Gastrica (EACSGE) ha dimostrato che la sottoclassificazione istologica degli adenocarcinomi dell'esofago e della giunzione esofago gastrica (EA-EGJA) e la dicotomizzazione degli stessi in forme a minor e maggior rischio ha un significativo valore prognostico. Poiché questo non solo è utile per stabilire in modo più dettagliato la prognosi ma può costituire un elemento essenziale nella scelta della terapia personalizzata, diventa rilevante comprendere se tale sottoclassificazione degli EA-EGJA sia applicabile sui campioni biotici pre-intervento e se le informazioni derivate dal materiale biotico siano affidabili. Infatti, mentre il campione chirurgico rende disponibile per la valutazione istologica abbondante materiale neoplastico, il campionamento biotico è quantitativamente limitato e da informazioni sulla morfologia della componente più superficiale della neoplasia. Inoltre i EA/EGJA presentano una marcata eterogeneità morfologica intratumorale e tale aspetto può condizionare l'effettiva capacità dei campioni biotici di fornire informazioni affidabili sul sottotipo istologico e corrispondente classe di rischio della neoplasia.

I risultati di questo lavoro dimostrano che la sottoclassificazione istologica degli EA/EGJA sulle biopsie pre-intervento chirurgico è possibile ed efficace nella maggior parte dei casi, con un coefficiente di correlazione rho pari a 0.754 nel riconoscimento dei sottotipi istologici e 0.653 nella corretta attribuzione della classe di rischio, ed entrambi i valori sono risultati statisticamente significativi. Nella casistica in studio la maggior parte dei casi analizzati corrispondeva a carcinomi ghiandolari ben differenziati e poco differenziati. In tale contesto i campioni biotici hanno consentito una diagnosi corretta dell'istotipo nell'81% dei casi complessivamente. Pochi carcinomi GL WD sono stati sovrgraduati a GL PD, mentre una quota più significativa (12 casi, 28%) sono stati sottograduati sul materiale biotico da forme GL PD a forme GL WD. La principale ragione di questo risultato dipende dal fatto che le biopsie sono rappresentative

della porzione più superficiale della neoplasia, che può essere anche la componente meglio differenziata. Infatti più spesso si assiste ad un progressivo sdifferenziamento della neoplasia negli strati di infiltrazione più profondi della parete, che non sono rappresentati sui campioni bioptici.

I sottotipi rari rappresentano il 19% dell'intera casistica per un totale di soli 20 casi distribuiti tra 5 diversi sottotipi rari (MMC, MIC, DDC, DAC e forme miste). La scarsa numerosità dei campioni rende difficile ottenere dati di correlazione sufficientemente robusti. Nonostante tale limite i sottotipi mucinosi (3 MMC e 4 MIC) sono stati riconosciuti sul materiale bioptico con elevata efficienza (100% dei casi) mentre gli altri sottotipi non sono correttamente diagnosticati sul materiale bioptico. Questo è maggiormente evidente per i 9 carcinomi di tipo misto, nessuno dei quali è stato riconosciuto su materiale bioptico. Ciò è dovuto essenzialmente al fatto che il materiale bioptico ha reso possibile diagnosticare solo una delle due componenti dei carcinomi di tipo misto (la componente ghiandolare/mucinoso, comunque a cellule coese, in 7 casi e la componente a cellule poco coese in 2 casi), il che è correlato ad un difetto della rappresentatività del campionamento bioptico rispetto al campione chirurgico. Nella maggior parte di questi casi comunque è stata attribuita la corretta classe di rischio (7 HR), mentre nei due casi in cui il carcinoma di tipo misto era costituito da una componente ghiandolare differenziata o mucinosa mucondulare, la classe di rischio è stata sotto-graduata essendo presente sul materiale bioptico esclusivamente la componente a minor rischio.

Nonostante queste considerazioni nel complesso il riconoscimento del sottotipo istologico sui campioni bioptici è affidabile, con una sensibilità compresa tra il 72% e il 100%, una specificità compresa tra il 79% e il 99% e una accuratezza $\geq 80\%$.

Per quanto riguarda la categorizzazione del rischio si è stata osservata una buona sensibilità e specificità della categorizzazione del rischio su biopsie con valori rispettivi dell'89% e 76% per le forme LR e del 76% e 89% per le forme HR con una accuratezza complessiva dell'82%. Tali risultati dipendono in maggior misura dalla corretta attribuzione del grado di differenziazione ai

carcinomi a morfologia ghiandolare che consente di distinguere tra forme ben differenziate e poco differenziate; come già sottolineato il maggior problema di rappresentatività delle biopsie endoscopiche è che prelevando i campioni esclusivamente nella parte superficiale della neoplasia, la componente poco differenziata, che più spesso si osserva negli starti di infiltrazione neoplastica più profondi della parete, non sono rappresentati.

L'eterogenità tumorale degli EA/EGJA e la variabile rappresentatività delle biopsie costituiscono pertanto i due maggiori elementi da tenere in considerazione e che possono limitare parzialmente la corretta attribuzione del sottotipo istologico e categorizzazione del rischio sul campione bioptico. È verosimile che tanto maggiore sia il numero di biopsie effettuate tanto maggiore sia la possibilità di classificare correttamente gli EA/EGJA. Pur con i limiti della non significatività statistica, un numero di biopsie ≥ 5 sembra offrire la miglior sensibilità (pur a fronte di una bassa specificità) nella corretta sottoclassificazione e categorizzazione del rischio. Tale dato è in accordo con diverse altre osservazioni: un numero di almeno 5-6 biopsie neoplastiche è infatti necessario per la corretta valutazione dello stato di HER-2 su campioni bioptici di carcinomi gastrici ed esofagei⁷⁵ e più di recente è stato osservato che almeno 6 biopsie sono necessarie anche per la corretta valutazione di PD-L1 e Claudina 18.2^{76,77}

Tale studio presenta alcuni limiti che vanno tenuti in considerazione nella interpretazione dei risultati:

- 1) La casistica ha una bassa numerosità (106 casi): ciò è stato dovuto alla difficoltà nel reperire negli archivi casi di cui fossero contemporaneamente presenti i set bioptici ed il successivo campione chirurgico di EC/EGJC non sottoposti a terapia neoadiuvante.
- 2) I carcinomi a morfologia ghiandolare sono i più rappresentati nella casistica; gli altri sottotipi, come è noto, sono molto più rari e pertanto la loro rappresentatività in questa casistica è bassa. Questo rappresenta un limite nella interpretazione dei risultati per quanto riguarda questo subset di EC/EGJC.

CONCLUSIONI

Questo studio rappresenta il primo tentativo di verificare se la recente proposta di sottoclassificazione morfologica degli EA/EGJA proposta da EACSGE e conseguente categorizzazione del rischio, che ha dimostrato avere su campione chirurgico un importante e robusto valore prognostico, sia applicabile sui campioni biotici diagnostici pre-intervento.

I risultati sono promettenti e, pur con i limiti legati ad una possibile scarsa rappresentatività delle biopsie ed alla elevata eterogeneità tumorale, dimostrano che l'applicazione della sottoclassificazione istologica è possibile sui campioni biotici e presenta una buona/elevata concordanza con i campioni chirurgici. Pertanto l'applicazione di tale sottoclassificazione può fornire importanti informazioni prognostiche e guidare la scelta terapeutica prima che le più importanti scelte per una terapia personalizzata (chirurgia +/- terapia adiuvante vs terapia neoadiuvante + chirurgia) vengano prese. Nell'utilizzo di tale sottoclassificazione e categorizzazione del rischio bisogna tener conto che una certa quota di casi può essere sotto o sopra graduata, e ciò vale in particolare per i carcinomi GL PD che in circa un quarto dei casi possono essere sottograduati a forme GL WD.

Successivi studi di validazione di tali risultati, su casistiche più ampie di EA/EGJA di cui siano disponibili biopsie e campioni chirurgici appaiati, e che comprendano un maggior numero di sottotipi rari, sono necessari. Uno studio prospettico internazionale multicentrico, con un campione biotico standard con elevato numero di biopsie, potrebbe fornire ulteriori importanti elementi utili a standardizzare le procedure diagnostiche e a valutare l'effettivo impatto della sottoclassificazione istologica e categorizzazione del rischio nella scelta terapeutica e nell'outcome dei pazienti con EA/EGJA.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R. L.; Laversanne, M.; Soerjomataram, I.; Jemal, A.; Bray, F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA A Cancer J Clin* **2021**, *71* (3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.
- (2) Beretta, G.; Cinieri, S.; Ionta, M. T.; Ascierto, A. P.; Bernardo, G.; et al. I Numeri del Cancro in Italia **2020**. Disponibile su <https://www.aiom.it/i-numeri-del-cancro-in-italia/>.
- (3) Grillo, F.; Mastracci, L.; Saragoni, L.; Vanoli, A.; Limarzi, F.; Gullo, I.; Ferro, J.; Paudice, M.; Parente, P.; Fassan, M. Neoplastic and Pre-Neoplastic Lesions of the Oesophagus and Gastro-Oesophageal Junction. *Pathologica* **2020**, *112* (3), 138–152. <https://doi.org/10.32074/1591-951X-164>.
- (4) Curtius, K.; Rubenstein, J. H.; Chak, A.; Inadomi, J. M. Computational Modelling Suggests That Barrett's Oesophagus May Be the Precursor of All Oesophageal Adenocarcinomas. *Gut* **2021**, *70* (8), 1435–1440. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-321598>.
- (5) Pennathur, A.; Gibson, M. K.; Jobe, B. A.; Luketich, J. D. Oesophageal Carcinoma. *The Lancet* **2013**, *381* (9864), 400–412. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60643-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60643-6).
- (6) Cen, P.; Banki, F.; Cheng, L.; Khalil, K.; Du, X. L.; Fallon, M.; Amato, R. J.; Kaiser, L. R. Changes in Age, Stage Distribution, and Survival of Patients with Esophageal Adenocarcinoma over Three Decades in the United States. *Ann Surg Oncol* **2012**, *19* (5), 1685–1691. <https://doi.org/10.1245/s10434-011-2141-1>.
- (7) Armstrong, B. K. Cancer Epidemiology and Prevention. *International Journal of Epidemiology* **2018**, *47* (6), 2097–2098. <https://doi.org/10.1093/ije/dyy166>.
- (8) McCormack, V. A.; Menya, D.; Munishi, M. O.; Dzamalala, C.; Gasmelseed, N.; et al. Informing Etiologic Research Priorities for Squamous Cell Esophageal Cancer in Africa: A Review of Setting-Specific Exposures to Known and Putative Risk Factors: Esophageal Cancer in Africa. *Int. J. Cancer* **2017**, *140* (2), 259–271. <https://doi.org/10.1002/ijc.30292>.
- (9) Wani, S.; Williams, J. L.; Falk, G. W.; Komanduri, S.; Muthusamy, V. R.; Shaheen, N. J. An Analysis of the GIQuIC Nationwide Quality Registry Reveals Unnecessary Surveillance Endoscopies in Patients With Normal and Irregular Z-Lines. *Am J Gastroenterol* **2020**, *115* (11), 1869–1878. <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000000960>.
- (10) Arnold, M.; Laversanne, M.; Brown, L. M.; Devesa, S. S.; Bray, F. Predicting the future burden of esophageal cancer by histological subtype: international trends in incidence up to 2030. *Am J Gastroenterol* **2017**, *112*:1247-1255.
- (11) Ajani, J. A.; D'Amico, T. A.; Almhanna, K.; Bentrem, D. J.; Besh, S.; et al. Esophageal and Esophagogastric Junction Cancers, Version 1.2015. *J Natl Compr Canc Netw* **2015**, *13* (2), 194–227. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2015.0028>.
- (12) Siewert, J. R.; Ott, K. Are Squamous and Adenocarcinomas of the Esophagus the Same Disease? *Seminars in Radiation Oncology* **2007**, *17* (1), 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2006.09.007>.
- (13) O'Sullivan, B.; Mason, M.; Asamura, H.; Lee, A.; Van Eyken, E.; Denny, L.; Amin, M.B.; Gupta, S. Esophagus and Esophago-gastric Junction. In *UICC TNM Classification of Malignant Tumors*, 8th ed.;

Brierley, J.D., Gospodarowicz, M.K., Wittekind, C., Eds.; Wiley Blackwell: Hoboken, NJ, USA, **2017**; pp. 54–61.

(14) Short, M. W.; Burgers, K. G.; Fry, V. T. Esophageal Cancer. *Am Fam Physician*. **2017**, *95*:22-28.

(15) Luporini, A. G.; Asti, E.; Bidoli, P.; Bonavina, L.; Bozzetti, F.; et al. Linee Guida AIOM Tumori dell'Esophago, Edizione **2018**. Disponibile su <https://www.aiom.it/linee-guida-aiom-2018-tumori-dellesofago/>.

(16) Zargar, S. A.; Khuroo, M. S.; Jan, G. M.; Mahajan, R.; Shah, P. Prospective Comparison of the Value of Brushings before and after Biopsy in the Endoscopic Diagnosis of Gastroesophageal Malignancy. *Acta Cytol*. **1991**, *35*:549-52.

(17) van Vliet, E. P. M.; Heijenbrok-Kal, M. H.; Hunink, M. G. M.; Kuipers, E. J.; Siersema, P. D. Staging Investigations for Oesophageal Cancer: A Meta-Analysis. *Br J Cancer* **2008**, *98* (3), 547–557. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604200>.

(18) Puli, S. R.; Reddy, J. B.; Bechtold, M. L.; Antillon, D.; Ibdah, J. A.; Antillon, M. R. Staging Accuracy of Esophageal Cancer by Endoscopic Ultrasound: A Meta-Analysis and Systematic Review. *WJG* **2008**, *14* (10), 1479. <https://doi.org/10.3748/wjg.14.1479>.

(19) Sandha, G.S.; Severin, D.; Postema, E.; McEwan, A.; Stewart K. Is Positron Emission Tomography Useful in Locoregional Staging of Esophageal Cancer? Results of a Multidisciplinary Initiative Comparing CT, positron Emission Tomography, and EUS. *Gastrointest Endosc*. **2008**, *67*:402-9. [https://doi:10.1016/j.gie.2007.09.006](https://doi.org/10.1016/j.gie.2007.09.006).

(20) Faigel, D.O. Am Soc Clin Oncol Annual Meeting. **2007**. Educational Book.

(21) Kole, A.; Plukker, J.; Nieweg, O.; Vaalburg, W. Positron Emission Tomography for Staging of Oesophageal and Gastroesophageal Malignancy. *Br J Cancer* **1998**, *78* (4), 521–527. <https://doi.org/10.1038/bjc.1998.526>.

(22) van Westreenen, H. L.; Westerterp, M.; Sloof, G. W.; Groen, H.; Bossuyt, P. M. M.; et al. Limited Additional Value of Positron Emission Tomography in Staging Oesophageal Cancer. *British Journal of Surgery* **2007**, *94* (12), 1515–1520. <https://doi.org/10.1002/bjs.5708>.

(23) Odze, R. D. Diagnosis and Grading of Dysplasia in Barrett's Oesophagus. *Journal of Clinical Pathology* **2006**, *59* (10), 1029–1038. <https://doi.org/10.1136/jcp.2005.035337>.

(24) Voltaggio, L.; Montgomery, E. A.; Lam-Himlin, D. A Clinical and Histopathologic Focus on Barrett Esophagus and Barrett-Related Dysplasia. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* **2011**, *135* (10), 1249–1260. <https://doi.org/10.5858/arpa.2011-0019-RA>.

(25) Rugge, M.; Correa, P.; Dixon, M. F.; et al. Gastric Dysplasia. The Padova International Classification. *Am J Surg Pathol*. **2000**, *24*:167- 76. <https://doi.org/10.1097/00000478-200002000-00001>.

(26) Anaparthi, R.; Sharma, P. Progression of Barrett Oesophagus: Role of Endoscopic and Histological Predictors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **2014**, *11* (9), 525–534. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.69>.

(27) Singh, S.; Manickam, P.; Amin, A. V.; et al. Incidence of esophageal adenocarcinoma in Barrett's esophagus with low-grade dysplasia: a systematic review and meta-analysis. *Gastrointest Endosc*. **2014**, *79*:897-909. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2014.01.009>.

- (28) Rastogi, A.; Puli, S.; El-Serag, H.B.; et al. Incidence of esophageal adenocarcinoma in patients with Barrett's esophagus and high-grade dysplasia: a meta-analysis. *Gastrointest Endosc.* **2008**, *67*:394-8. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2007.07.019>.
- (29) Anaparthi, R.; Gaddam, S.; Kanakadandi, V.; Alsop, B. R.; Gupta, N.; et al. Association Between Length of Barrett's Esophagus and Risk of High-Grade Dysplasia or Adenocarcinoma in Patients Without Dysplasia. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* **2013**, *11* (11), 1430–1436. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2013.05.007>.
- (30) Vaughan, T. L.; Fitzgerald, R. C. Precision Prevention of Oesophageal Adenocarcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **2015**, *12* (4), 243–248. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.24>.
- (31) Wani, S.; Qumseya, B.; Sultan, S.; Agrawal, D.; Chandrasekhara, V.; et al. Endoscopic Eradication Therapy for Patients with Barrett's Esophagus–Associated Dysplasia and Intramucosal Cancer. *Gastrointestinal Endoscopy* **2018**, *87* (4), 907-931.e9. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2017.10.011>.
- (32) Sawas, T.; Killcoyne, S.; Iyer, P. G.; Wang, K. K.; Smyrk, T. C.; et al. Identification of Prognostic Phenotypes of Esophageal Adenocarcinoma in 2 Independent Cohorts. *Gastroenterology* **2018**, *155* (6), 1720-1728.e4. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.08.036>.
- (33) Taylor, J. B.; Rubenstein, J. H. Meta-Analyses of the Effect of Symptoms of Gastroesophageal Reflux on the Risk of Barrett's Esophagus. *American Journal of Gastroenterology* **2010**, *105* (8), 1730–1737. <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.194>.
- (34) Kroep, S.; Lansdorp-Vogelaar, I.; Rubenstein, J. H.; de Koning, H. J.; Meester, R.; et al. An Accurate Cancer Incidence in Barrett's Esophagus: A Best Estimate Using Published Data and Modeling. *Gastroenterology* **2015**, *149* (3), 577-585.e4. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.04.045>.
- (35) Sharma, P.; Katzka, D. A.; Gupta, N.; Ajani, J.; Buttar, N.; et al. Quality Indicators for the Management of Barrett's Esophagus, Dysplasia, and Esophageal Adenocarcinoma: International Consensus Recommendations from the American Gastroenterological Association Symposium. *Gastroenterology* **2015**, *149* (6), 1599–1606. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.08.007>.
- (36) Odze, R.D.; Lam, A.K.; Ochiai, A.; Washington, M.K. Tumours of the Esophagus in Digestive System Tumours. In *WHO Classification of Tumours Editorial Board*, 5th ed.; WHO Classification of Digestive System Tumours, IARC: Lyon, France, **2019**; pp. 23–58.
- (37) Hutter, C.; Zenklusen, J. C. The Cancer Genome Atlas: Creating Lasting Value beyond Its Data. *Cell* **2018**, *173* (2), 283–285. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.042>.
- (38) The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive Molecular Characterization of Gastric Adenocarcinoma. *Nature* **2014**, *513* (7517), 202–209. <https://doi.org/10.1038/nature13480>.
- (39) Nakamura, Y.; Kawazoe, A.; Lordick, F.; Janjigian, Y. Y.; Shitara, K. Biomarker-Targeted Therapies for Advanced-Stage Gastric and Gastro-Oesophageal Junction Cancers: An Emerging Paradigm. *Nat Rev Clin Oncol* **2021**, *18* (8), 473–487. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00492-2>.
- (40) Koh, J.; Ock, C.-Y.; Kim, J. W.; Nam, S. K.; Kwak, Y.; et al. Clinicopathologic Implications of Immune Classification by PD-L1 Expression and CD8-Positive Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Stage II and III Gastric Cancer Patients. *Oncotarget* **2017**, *8* (16), 26356–26367. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15465>.
- (41) Kawazoe, A.; Kuwata, T.; Kuboki, Y.; Shitara, K.; Nagatsuma, A. K.; et al. Clinicopathological Features of Programmed Death Ligand 1 Expression with Tumor-Infiltrating Lymphocyte, Mismatch Repair, and

Epstein–Barr Virus Status in a Large Cohort of Gastric Cancer Patients. *Gastric Cancer* **2017**, *20* (3), 407–415. <https://doi.org/10.1007/s10120-016-0631-3>.

(42) Oki, E.; Oda, S.; Maehara, Y.; Sugimachi, K. Mutated Gene-Specific Phenotypes of Dinucleotide Repeat Instability in Human Colorectal Carcinoma Cell Lines Deficient in DNA Mismatch Repair. No. 4.

(43) Vilar, E.; Gruber, S. B. Microsatellite Instability in Colorectal Cancer—the Stable Evidence. *Nat Rev Clin Oncol* **2010**, *7* (3), 153–162. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2009.237>.

(44) Latham, A.; Srinivasan, P.; Kemel, Y.; Shia, J.; Bandlamudi, C.; et al. Microsatellite Instability Is Associated With the Presence of Lynch Syndrome Pan-Cancer. *JCO* **2019**, *37* (4), 286–295. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.00283>.

(45) Liu, Y.; Sethi, N. S.; Hinoue, T.; Schneider, B. G.; Cherniack, A. D.; et al. Comparative Molecular Analysis of Gastrointestinal Adenocarcinomas. *Cancer Cell* **2018**, *33* (4), 721–735.e8. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.010>.

(46) Cho, S. Y.; Park, J. W.; Liu, Y.; Park, Y. S.; Kim, J. H.; et al. Sporadic Early-Onset Diffuse Gastric Cancers Have High Frequency of Somatic CDH1 Alterations, but Low Frequency of Somatic RHOA Mutations Compared With Late-Onset Cancers. *Gastroenterology* **2017**, *153* (2), 536–549.e26. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.05.012>.

(47) Rice, T. W.; Patil, D. T.; Blackstone, E. H. 8th Edition AJCC/UICC Staging of Cancers of the Esophagus and Esophagogastric Junction: Application to Clinical Practice. *Ann. Cardiothorac. Surg.* **2017**, *6* (2), 119–130. <https://doi.org/10.21037/acs.2017.03.14>.

(48) Siewert, J. R.; Stein, H. J. Carcinoma of the Gastroesophageal Junction - Classification, Pathology and Extent of Resection. *Diseases of the Esophagus* **1996**. <https://doi.org/10.1093/dote/9.3.173>.

(49) Lauren, P. The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.* 1965, *64*, 31–49.

(50) on behalf of the AGAMENON study group; Jiménez Fonseca, P.; Carmona-Bayonas, A.; Hernández, R.; Custodio, A.; Cano, J. M.; et al. Lauren Subtypes of Advanced Gastric Cancer Influence Survival and Response to Chemotherapy: Real-World Data from the AGAMENON National Cancer Registry. *Br J Cancer* **2017**, *117* (6), 775–782. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.245>.

(51) Van der Kaaij, R.T.; Snaebjornsson, P.; Voncken, F.E.; van Dieren, J.M.; Jansen, E.P.; Sikorska, K.; Cats, A.; van Sandick, J.W. The Prognostic and Potentially Predictive Value of the Laurén Classification in Oesophageal Adenocarcinoma. *Eur. J. Cancer.* **2017**, *76*, 27–35.

(52) Ming, S.-C. Gastric Carcinoma: A Pathobiological Classification. *Cancer* **1977**, *39* (6), 2475–2485. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197706\)39:6<2475::AID-CNCR2820390626>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197706)39:6<2475::AID-CNCR2820390626>3.0.CO;2-L).

(53) Lopci, E.; Kauppi, J.; Lugaresi, M.; Mattioli, B.; Daddi, N.; et al. Siewert Type I and II Oesophageal Adenocarcinoma: Sensitivity/Specificity of Computed Tomography, Positron Emission Tomography and Endoscopic Ultrasound for Assessment of Lymph Node Metastases in Groups of Thoracic and Abdominal Lymph Node Stations. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* **2019**, *28* (4), 518–525. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivy314>.

(54) Grotenhuis, B. A.; Wijnhoven, B. P. L.; Poley, J. W.; Hermans, J. J.; Biermann, K.; et al. Preoperative Assessment of Tumor Location and Station-Specific Lymph Node Status in Patients with Adenocarcinoma of the Gastroesophageal Junction. *World J Surg* **2013**, *37* (1), 147–155. <https://doi.org/10.1007/s00268-012-1804-9>.

- (55) Reeh, M.; Mina, S.; Bockhorn, M.; Kutup, A.; Nentwich, M. F.; et al. Staging and Outcome Depending on Surgical Treatment in Adenocarcinomas of the Oesophagogastric Junction. *British Journal of Surgery* **2012**, *99* (10), 1406–1414. <https://doi.org/10.1002/bjs.8884>.
- (56) Haverkamp, L.; Seesing, M. F. J.; Ruurda, J. P.; Boone, J.; Hillegersberg, R. V. Worldwide Trends in Surgical Techniques in the Treatment of Esophageal and Gastroesophageal Junction Cancer: Treatment of Esophageal and Gastroesophageal Junction Cancer. *Diseases of the Esophagus* **2016**, n/a-n/a. <https://doi.org/10.1111/dote.12480>.
- (57) Piazzuelo, M. B.; Haque, S.; Delgado, A.; Du, J. X.; Rodriguez, F.; Correa, P. Phenotypic Differences between Esophageal and Gastric Intestinal Metaplasia. *Modern Pathology* **2004**, *17* (1), 62–74. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800016>.
- (58) Ruffato, A.; Mattioli, S.; Perrone, O.; Lugaresi, M.; Di Simone, M. P.; et al. Esophagogastric Metaplasia Relates to Nodal Metastases in Adenocarcinoma of Esophagus and Cardia. *The Annals of Thoracic Surgery* **2013**, *95* (4), 1147–1153. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2012.12.040>.
- (59) The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated Genomic Characterization of Oesophageal Carcinoma. *Nature* **2017**, *541* (7636), 169–175. <https://doi.org/10.1038/nature20805>.
- (60) Bornschein, J.; Wernisch, L.; Secrier, M.; Miremadi, A.; Perner, J.; et al. Transcriptomic Profiling Reveals Three Molecular Phenotypes of Adenocarcinoma at the Gastroesophageal Junction. *Int. J. Cancer* **2019**, *145* (12), 3389–3401. <https://doi.org/10.1002/ijc.32384>.
- (61) Compton, C. C.; Fielding, L. P.; Burgart, L. J.; Conley, B.; Cooper, H. S.; et al. Prognostic Factors in Colorectal Cancer. *Arch Pathol Lab Med* **2000**, *124*.
- (62) Solcia, E.; Luinetti, O.; Tava, F.; Klersy, C.; Grillo, F.; Pandolfo, N.; Fiocca, R. Identification of a Lower Grade Muconodular Subtype of Gastric Mucinous Cancer. *Virchows Arch* **2004**, *445* (6), 572–579. <https://doi.org/10.1007/s00428-004-1130-1>.
- (63) Fiocca, R.; Mastracci, L.; Lugaresi, M.; Grillo, F.; D’Errico, A.; Malvi, D.; Spaggiari, P.; Tomezzoli, A.; Albarello, L.; Ristimäki, A.; Bottiglieri, L.; Bonora, E.; Krishnadath, K. K.; Rauli, G. D.; Rosati, R.; Fumagalli Romario, U.; De Manzoni, G.; Räsänen, J.; Mattioli, S. The Prognostic Impact of Histology in Esophageal and Esophago-Gastric Junction Adenocarcinoma. *Cancers* **2021**, *13* (20), 5211. <https://doi.org/10.3390/cancers13205211>.
- (64) European Chapter of International Gastric Cancer Association; Mariette, C.; Carneiro, F.; Grabsch, H. I.; van der Post, R. S.; Allum, W.; de Manzoni, G. Consensus on the Pathological Definition and Classification of Poorly Cohesive Gastric Carcinoma. *Gastric Cancer* **2019**, *22* (1), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s10120-018-0868-0>.
- (65) Chiaravalli, A. M. Histotype-Based Prognostic Classification of Gastric Cancer. *WJG* **2012**, *18* (9), 896. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i9.896>.
- (66) Fukayama, M.; Rugge, M.; Washington, M.K. Tumours of the Stomach in Digestive System Tumours. In *WHO Classification of Tumours Editorial Board*, 5th ed.; WHO Classification of Digestive System Tumours, IARC: Lyon, France, **2019**; pp. 59–109.
- (67) Chiaravalli, A. M.; Klersy, C.; Tava, F.; Manca, R.; Fiocca, R.; et al. Lower- and Higher-Grade Subtypes of Diffuse Gastric Cancer. *Human Pathology* **2009**, *40* (11), 1591–1599. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2009.04.004>.
- (68) Arnal, M. J. D. Esophageal Cancer: Risk Factors, Screening and Endoscopic Treatment in Western and Eastern Countries. *WJG* **2015**, *21* (26), 7933. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i26.7933>.

- (69) Steyerberg, E. W.; Neville, B. A.; Koppert, L. B.; Lemmens, V. E. P. P.; Tilanus, H. W.; et al. Surgical Mortality in Patients With Esophageal Cancer: Development and Validation of a Simple Risk Score. *JCO* **2006**, *24* (26), 4277–4284. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.05.0658>.
- (70) Kirby, J. D. Quality of Life after Oesophagectomy: The Patients' Perspective *. *Diseases of the Esophagus* **1999**, *12* (3), 168–171. <https://doi.org/10.1046/j.1442-2050.1999.00040.x>.
- (71) Wang, D.-B.; Zhang, X.; Han, H.-L.; Xu, Y.-J.; Sun, D.-Q.; Shi, Z.-L. Neoadjuvant Chemoradiotherapy Could Improve Survival Outcomes for Esophageal Carcinoma: A Meta-Analysis. *Dig Dis Sci* **2012**, *57* (12), 3226–3233. <https://doi.org/10.1007/s10620-012-2263-8>.
- (72) van Hagen, P.; Hulshof, M. C. C. M.; van Lanschot, J. J. B.; Steyerberg, E. W.; Henegouwen, M. I. van B.; et al. Preoperative Chemoradiotherapy for Esophageal or Junctional Cancer. *N Engl J Med* **2012**, *366* (22), 2074–2084. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1112088>.
- (73) Berger, B.; Belka, C. Evidence-Based Radiation Oncology: oesophagus. *Radiother Oncol.* 2009, *92*:276-90.
- (74) Rice, T. W.; Adelstein, D. J.; Chidel, M. A.; Rybicki, L. A.; DeCamp, M. M.; Murthy, S. C.; Blackstone, E. H. Benefit of Postoperative Adjuvant Chemoradiotherapy in Locoregionally Advanced Esophageal Carcinoma. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* **2003**, *126* (5), 1590–1596. [https://doi.org/10.1016/S0022-5223\(03\)01025-0](https://doi.org/10.1016/S0022-5223(03)01025-0).
- (75) Gullo, I.; Grillo, F.; Rugge, M.; Fiocca, R.; Mastracci, L.; et al. Minimum Biopsy Set for HER2 Evaluation in Gastric and Gastro-Esophageal Junction Cancer. *EIO* **2015**, *03* (02), E165–E170. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1391359>.
- (76) Pellino, A.; Brignola, S.; Riello, E.; Niero, M.; Murgioni, S.; et al. Association of CLDN18 Protein Expression with Clinicopathological Features and Prognosis in Advanced Gastric and Gastroesophageal Junction Adenocarcinomas. *JPM* **2021**, *11* (11), 1095. <https://doi.org/10.3390/jpm11111095>.
- (77) Angerilli, V.; Fassan, M.; Parente, P.; Grillo, F.; Mastracci, L.; et al. A Practical Approach for PD-L1 Evaluation in Gastroesophageal Cancer. *Pathologica* **2022**, 1–14. <https://doi.org/10.32074/1591-951X-836>.

RINGRAZIAMENTI

Volevo ringraziare innanzitutto il mio relatore, il professor Luca Mastracci, per la sua disponibilità e per il suo costante aiuto nella realizzazione di questa tesi.

Un immenso grazie va ai miei genitori. Grazie per tutto l'amore che mi date, grazie per il sostegno nei momenti difficili, grazie per regalarmi il sorriso nei momenti tristi, grazie per motivarmi sempre ad essere la miglior versione di me stesso, grazie per aver sempre creduto in me anche più di quanto io non faccia, e grazie per i tanti sacrifici fatti per me, senza di voi non ce l'avrei fatta.

Vi voglio bene.

Grazie ad Ale, per i festeggiamenti dopo gli esami andati bene, per le risate dopo quelli andati male, per le serate a giocare all'XBOX durante il secondo covid senza il quale sarei impazzito, per le mille avventure. Grazie per tutto.

Grazie ad Andre, Fede e Samu che ormai sono dei fratelli, con cui posso parlare di tutto e per cui mi butterei nel fuoco. Spero di non perdere mai quest'amicizia e sogno di sorseggiare un bel brandy con voi sul mio terrazzo tra 50 anni. Non cambiate mai.

E grazie a Matte, con cui mi ero perso per molti anni ma ora che ho recuperato la sua amicizia farò in modo di non perderla più.

Grazie a Kai e Prek, per tutti i momenti felici dentro e fuori il campo da basket.

Grazie a Biagio, Prezio, Giovanni, Jacopo con la J, Boris, Dedde (il mio collega preferito), Simo, Andre White, Crose, Poltro, Varrons e a tutti gli altri miei amici e a tutti i miei vecchi e nuovi compagni di squadra, per aver contribuito a rendere fantastica la mia vita in questi anni.

Grazie ad Alice e Laura per essere state i miei "angeli custodi" universitari, grazie davvero.

E infine grazie ad Ilaria. Questo ultimo anno è stato durissimo dal punto di vista mentale, soprattutto nelle fasi finali di questo percorso, ma averti vicino è stata la cosa migliore che mi potesse capitare. Gli ultimi due anni sono stati felicissimi per me e gran parte del merito è tuo, che mi fai ridere, cerchi sempre di capirmi, non mi giudichi mai e mi fai sentire sempre apprezzato. Grazie di tutto.

Ti amo.