

## CATEGORII MORFOLOGICE ȘI ASPECTE REACTIV INFLAMATORII ÎN SECVENȚA ADENOM – CARCINOM. CRITERII DE DIAGNOSTIC ȘI MANAGEMENT ÎN TUMORILE COLORECTALE

Camelia Croitoru<sup>1,2</sup>, Daniela Jitaru<sup>2</sup>, Simona Eliza Giuscă<sup>3</sup>,  
Irina-Draga Cărunțu<sup>4</sup>, E. Carasevici<sup>1,2</sup>.

1. Disciplina de Imunologie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr.T. Popa” Iași
2. Laboratorul de Imunologie și Genetică, Spitalul Clinic Județean de Urgențe Sf. Spiridon, Iași
3. Disciplina Sănătate Publică și Management, Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu
4. Disciplina de Histologie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr.T. Popa” Iași

**MORPHOLOGIC CATEGORIES AND REACTIVE INFLAMMATORY ASPECTS OF ADENOMA-CARCINOMA SEQUENCE. DIAGNOSTIC AND MANAGEMENT CRITERIA IN COLORECTAL TUMORS. (Abstract):** In most cases colorectal carcinomas originates in adenomas, glandular paraneoplastic, noninvasive lesions. The adenoma – carcinoma sequence is already well characterized as an event of risk for developing overt neoplasia. Adenoma management stages after endoscopic resection are: morphologic confirmation or infirmation of a possible adenocarcinoma, determining invasion depth, adjusting histologic grade, evaluation of angiolymphatic invasion, estimation of security margins, conditions that could eventually be followed by completion of endoscopic resection. Morphologic diagnostic criteria of these lesion types can be correlated with particular aspects of inflammatory microenvironment succeeding the development of adenoma – carcinoma sequence. We follow the evolution of inflammatory infiltrate in 21 cases of adenomas by evaluating the cells stained for common leukocyte antigen (CD45) in relation with the proliferation of epithelial tumor cells stained with Topoisomerase II $\alpha$ . Particular aspects of this survey could offer some suggestion for later management of colorectal tumoral injury.

KEY WORDS: COLORECTAL ADENOMAS, TOPOISOMERASE IIA, INFLAMMATORY INFILTRATE, COMMON LEUKOCYTE ANTIGEN (CD45)

Corespondență: Prof. dr. Carasevici Eugen, Laboratorul de Imunologie și Genetică, Spitalul Clinic Județean de Urgențe Sf. Spiridon, Bd Independentei 1, 700111 Iași, kara@iasi.mednet.ro\*.

### INTRODUCERE

Este general acceptat că majoritatea cancerelor de colon se dezvoltă din adenoame (tumori glandulare) noninvazive precursorare. Secvența adenom – carcinom este bine caracterizată. Riscul conferit de adenoame este recunoscut, iar screeningul și îndepărtarea lor chirurgicală este o practică medicală curentă în prevenția cancerelor colorectale.

Statusul marginilor polipului rezecat ca indice de prognostic este controversat. Practic, opinia endoscopistului în această apreciere este mult mai importantă. În situația adenomului cu aspecte de carcinom, anatomopatologul poate aduce

---

\* received date: 11.09.2010

accepted date: 08.10.2010

eventual, două observații pertinente în acest sens: fie precizează că leziunea este aparent complet rezecată, fie poate afirma că o eventuală lipsă de completitudine a rezecției nu poate fi apreciată histopatologic.

Cu excepția situațiilor în care se consemnează invazia în submucoasa peretelui intestinal subadiacent, a exciziilor incomplete, a diferențierii slabe, sau invaziei angiolimfatice leziunile pediculate de acest tip sunt tratate în mod adecvat numai cu rezecție endoscopică.

Scopul acestui studiu a fost de a corela morfologia leziunilor adenomatoase și neoplazice coloretale cu aspectele particulare ale micromediului inflamator generat în ambianța acestora în timpul derulării secvenței adenom-carcinom. Observațiile particulare aduse de aceste evaluări pot oferi sugestii pentru managementul ulterior al leziunilor descrise.

### MATERIAL SI METODĂ

Lotul de studiu cuprinde 21 cazuri de adenoame, unele excizate endoscopic, iar altele descoperite incidental în timpul colectomiilor efectuate la pacienți internați în Spitalul Județean Piatra Neamț în perioada decembrie 2007 - septembrie 2009. Diagnosticul a fost stabilit în urma examenului histopatologic. Au fost luate în considerare din punct de vedere morfologic, coroborând aspectele macroscopice cu cele microscopice, 7 categorii de adenoame, categorii în care s-a respectat clasificarea neoplaziilor gastrointestinale Viena, modificată, păstrând detaliile morfologice utile din vechea clasificare Western [12-15]:

1. Adenom tubular pediculat, displazie de grad scăzut;
2. Adenom tubular sesil, displazie de grad scăzut;
3. Adenom tubulovilos sesil, displazie de grad scăzut;
4. Adenom tubulovilos pediculat, displazie de grad înalt (displazie severă);
5. Adenom tubulovilos sesil, displazie de grad înalt;
6. Adenom tubulovilos pediculat, aspecte de malignizare (carcinom in situ);
7. Adenom vilos sesil, aspecte de malignizare (carcinoma invaziv, extins în submucoasă).

Fragmentele tisulare fixate în formol 10% timp de 24 de ore au fost incluse în parafină și secționare (4-6 microni), colorate cu hematoxilină/eozină și tricrom Van Gieson. Imunocolorarea s-a efectuat în Laboratorul de Imunologie și Genetica a Spitalului Clinic „Sf. Spiridon” din Iași. Protocolul urmat a fost următorul: deparafinarea, hidratarea secțiunilor, renaturare (retrieval - S1669, Sol Dakocytomation, concentrația de 10X, diluție 1/10, timpul pentru retrieval 20 de minute, cu optimizarea temperaturii la 96 de grade).

Anticorpilor folosiți pentru imunomarcaj, de proveniență Dako și Santa Cruz Biotechnology, diluați cu soluție ADBR (SB022) au fost: **TOPOIZOMERAZĂ II ALFA** - clona SWT3D1, cod M3532, DAKO diluția 1/500; **CD 45 (LCA)** - clona 2B 11 αδ, PD7/26, Ref N 1514, Lot 025045; diluția 1/2. Incubarea cu anticorpul primar s-a efectuat peste noapte, în frigider, la temperatura de 4°C. Blocarea peroxidazelor s-a făcut cu apă oxigenată 3%, timp de 15 minute. Cu anticorpul secundar biotinitat - Biotinylated – Link, K 0675, timpul de incubare a fost de 60 – 90 minute la temperatura camerei. Depunerea și incubarea enzimei Streptavidină HRP, K0675 s-a efectuat la temperatura camerei, timp de 30 de minute. Developarea reacției s-a realizat cu cromogen 3-3'- DAB diluat (20μl cromogen la 1000μl DAB) timpul de developare fiind de 5-10 minute, examinându-se secțiunea la microscop în timp real pentru sesizarea imunomarcajului.

Contracolorarea s-a efectuat cu hematoxilină Meyer, timp de 30-60 de secunde până la 2 minute.

S-a evaluat morfologia și micromediul, ambianța în care se dezvoltă neoplazia colorectală, urmărită în evoluția ei progresivă, în secvența adenom/carcinom colorectal și s-au urmărit aspectele histopatologice particulare ale leziunilor cu intenția de a le corela cu evaluarea expresiei, respectiv intensității și distribuției anticorpilor utilizați.

## REZULTATE

În cele 21 de adenoame colorectale am preferat selectarea formelor diverse macroscopic, fie pediculate, fie forme sesile, cu bază largă de implantare cu dimensiuni frecvent peste 1 cm. Adenoamele, indiferent de tipul lor, sunt ocupate de un epiteliu similar adenomatos. Paternul lor de creștere permite clasificarea acestora în formele tubulare, cu peste 80 % componentă tubuloasă, cele vilozitate, cu peste 80 % componentă viloglandulară și cele cu aspect mixt, frecvente, tubulovilozitate, în care componenta vilozitate ocupă 20-79% din suprafața tumorală. Formele tubulare de adenom prezintă o proliferare a epitelului adenomatos configurată sub formă de glande sau tubuli. Acești tubuli sunt separați unul de altul printr-o lamina propria de aspect normal. Formele vilozitate prezintă un patern de creștere mai exuberant, cu proiecții epiteliale papilare, vilozitate, aparent perpendiculare pe musculara mucoasei. Adenoamele prezintă grade variate de displazie. Aprecierea gradului de displazie este importantă pentru prognosticul, monitorizarea ulterioară a leziunilor polipoase (Fig. 1).

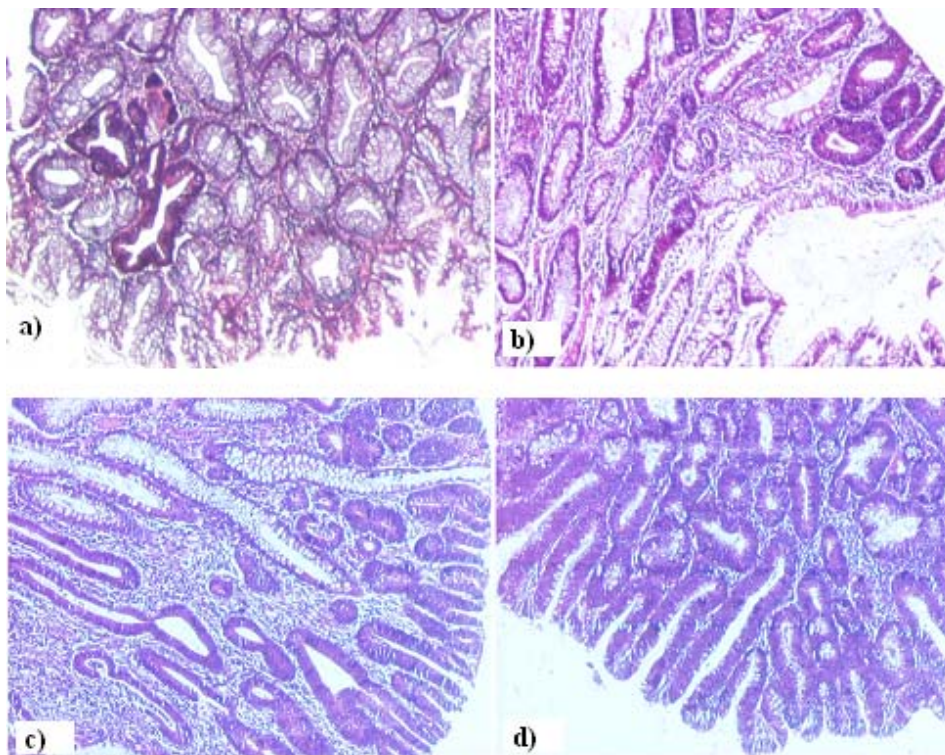
Displazia de grad scăzut (ușoară, medie) prezintă în **categoriile 1, 2 și 3** de adenom presupune persistența mucosecreției celulare în epitelul glandular, celulele cilindrice cu nucleu ovalar nu depășesc 2/3 din înălțimea epitelului glandular, pleiomorfismul nuclear fiind puțin marcat.

În formele de adenom cu displazie de grad înalt, **categoriile 4, 5 și 6** se pierde aspectul mucosecretant celular, stratificarea nuclear/celulară ocupă întreaga înălțime a epitelului glandular, pleiomorfismul nuclear fiind marcat. Riscul acestor ultime forme de adenom de a se transforma malign a fost dovedit de secvența adenom/carcinom. În **categoria 6** de adenom s-a preferat vechea clasificare în descriere și anume aceea de adenom cu aspecte de carcinom "in situ". Aspectele de malignizare se referă la glandele strâns grupate, adesea cu patern cribriform, frecvent lipsite de mucină, cu atipii nucleare, mitoze frecvente, aspecte de necroză cu acumulări de polimorfonucleare în lumenul acestora.

Membrana bazală fiind respectată cazurile se încadrează în formele limitate la mucoasă. Ultima formă, **categoria 7** de adenoame prezintă cazurile în care aspectele menționate anterior se extind infiltrativ, dincolo de membrane bazală, în submucoasă, la orice nivel al pediculului sau dincolo de acesta, frecvent în formele sesile, în structura submucoasei peretelui colic propriu-zis.

În adenoame colorectale examinate, atât în formele cu grad scăzut de displazie cât și în cele cu grad înalt, infiltratul inflamator care ocupă aceste formațiuni în diferitele lor compartimente, epitelial sau stromal, este de departe vizibil, abundent, format mai ales din limfocite, plasmocite, eozinofile și mai puțin macrofage. Glandele sunt adesea destinate de un conținut abundent de polimorfonucleare neutrofile intergre și dezintegrate, de eozinofile, abundența acestui infiltrat conferind glandei pe alocuri un aspect chistic. Se consemnează frecvent, mai ales în formele avansate de adenom, forme vilozitate, cu displazii de grad înalt (**categoriile 4-7**) cu prezența porilor glandulari [5].

Aceste defecte glandulare, vizibile adesea în apropierea muscularei mucoasei, apar în glande dilatate, cu conținut abundent de mucină, celule inflamatoare și material necrotic.



**Fig. 1 Examen histopatologic al leziunilor polipoase**

**a)** adenom tubular sesil, grup glandular displazic, aspecte de înmugurire, ramificare tubulară. col. HE, ob.4X **b)** adenom tubular sesil, displazie de grad scăzut în glandele de pe suprafața polipului. col. HE, ob.4X **c)** adenom tubular sesil, displazie de grad înalt, glande dispazice cu pori, conținut glandular eliberat în lamina propria. col. HE, ob.4X **d)** adenom tubulovilos sesil, displazie de grad înalt col. HE, ob.4X.

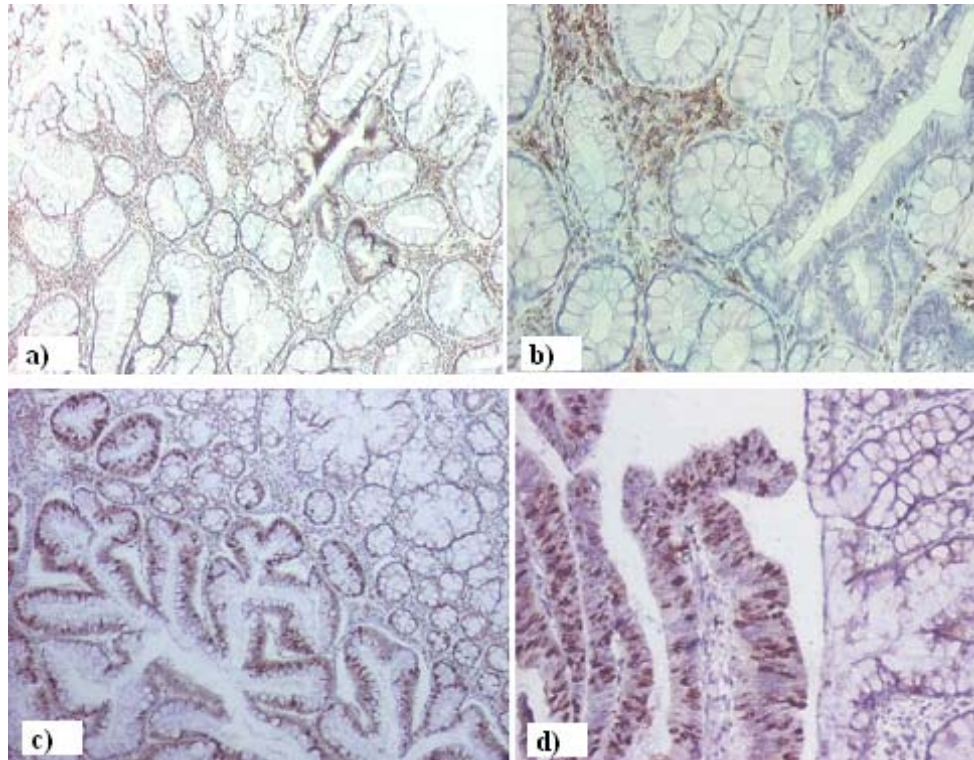
Se consideră că acest produs de secreție eliberat prin porii glandulari contribuie la destabilizarea matricei extracelulare fiind unul din mecanismele care ar putea facilita pătrunderea celulelor neoplazice în lamina propria, respectiv invazia tumorală (Fig.2).

În lamina propria adenoamele sunt dens infiltrate mai ales de limfocite, plasmocite, eozinofile, mai puține macrofage. Axul conjunctivo-vascular al formațiunilor polipoase, cu un grad variabil de vascularizare, prezintă un infiltrat inflamator mixt, relativ modest, localizat perivascular în situația unei hiperemii vasculare sau dispersat difuz în acest compartiment (Fig.3).

Se sesizează, în unele formațiuni polipoase, aglomerarea focală a acestui infiltrat, la baza epiteliului glandular, uneori cu formare clară de structuri limfoide foliculare, pe alocuri cu tendința la coalescență.

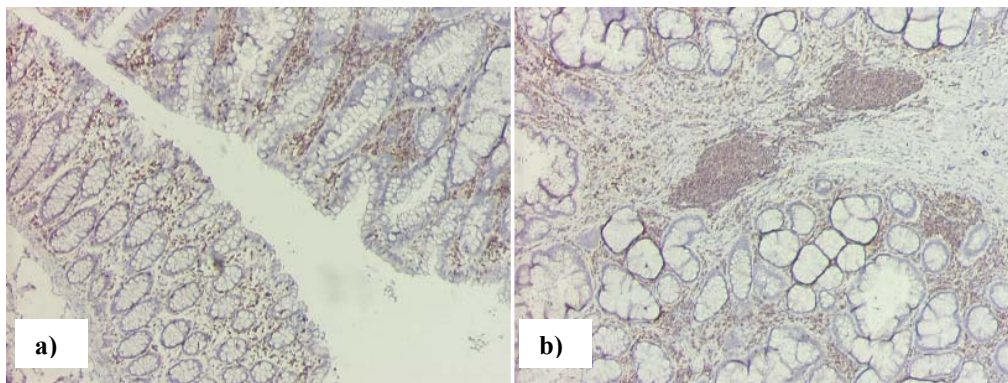
Mucoasele colonului pe care se dezvoltă formațiunile polipoase prezintă un infiltrat inflamator relativ abundent în lamina propria, cu caracter mixt, adesea dominat de plasmocite și mai puțin de limfocite, eozinofile, macrofage. Sunt consemnate elemente inflamatorii cu dispoziție variabilă în structura submucoasei colonului, fie dispersate fie aglomerate în structuri foliculare coalescente de tip Crohn-like - o reacție limfoidă

pronunțată la prezența formațiunii polipoase, compusă din foliculi limfoizi cu centri clari germinativi care nu se asociază cu mucoasa (situația originii diverticulare) sau nu sunt noduli limfoizi preexistenți. Sunt necesare două sau mai multe agregate limfoide într-o secțiune pentru consemnarea prezenței acestui tip de infiltrat.



**Fig. 2 Examen imunohistochimic**

**a)** adenom tubular sesil, grup glandular displazic; anti-CD45RO, ob. 4X. **b)** adenom tubular sesil, grup glandular displazic; anti-CD45RO, ob. 4X. **c)** adenoma tubular sesil, dispazie de grad scăzut, glande tubulare ramificate; anti-TOPO, ob. 4X. **d)** adenom vilos sesil, cu aspecte de malignizare; anti-TOPO, ob. 4X.



**Fig. 3 Examen imunohistochimic**

**a)** aspectul infiltratului în mucoasa polipului și cea a colonului gazdă; anti-CD45RO, ob. 4X. **b)** aspectul infiltratului inflamator cu aranjament folicular în axul conjunctivo-vascular al formațiunii polipoase. anti-CD45RO, ob. 4X.

Trebuie menționat că în zonele rectosigmoidiene se identifică în mod excepțional forme de adenom festonat, sesile sau pediculate, asemănătoare polipilor hiperplazici, însă cu caractere morfologice asemănătoare adenoamelor în care se consemnează pierderea diferențierii, prezența atipiilor citologice, forme cu risc de transformare malignă în cancere colorectale cu fenotip MSI (instabilitate microsatelită). Această formă rară de adenom nu a fost identificată în lotul de studiu.

## DISCUȚII

Adenoamele sunt neoplasme definite printr-o expansiune a compartimentului proliferativ și lipsa de diferențiere a celulelor epiteliale care migrează către suprafața luminală criptică. În felul acesta, corelația strictă între fenotipul celular și poziția celulei de-a lungul axului vertical este perturbată în adenom. Există dovezi certe că diferențierea celulei de-a lungul axului longitudinal este de asemenea perturbată în polipii adenomatoși.

Leziunea timpurie, recunoscută ca adenomatoasă, este adenomul de unică criptă sau focarul criptic displazic. Celulele care formează adenomul de criptă unică sunt reprezentate de celulele epiteliale proprii colonului, de origine monoclonală, indicând că originea lor este o celulă stem mutant neoplazică, sau celula precursoră. Adenoamele de acest tip, inițial se extind prin fisiune criptică, un proces de multiplicare criptică care se produce prin înmugurire și elongație pentru a forma două cripte separate.

După creșterea inițială prin fisiune criptică, tumora în dezvoltare se extinde prin creșterea excesivă a criptelor normale adiacente. În aceste cripte exuberante celulele adenomatoase infiltrează criptele de la vârf, în timp ce celulele normal diferențiate, cu origine în celulele stem reziduale nonmutante de la baza criptei se extind și ocupă această zonă bazală. Celulele din unele adenoame mari își pierd progresiv diferențierea, sunt capabile să se dezvolte, să se extindă prin membrana bazală în *lamina propria*. În cele din urmă, aceste tumori se extind în straturile musculare subadiacente *laminei propria* și devin carcinoame invazive [6].

În contrast cu convenția conform căreia adenoamele se dezvoltă de la nivelul celulelor stem localizate la baza criptelor normale printr-un proces de jos în sus (*bottom-up*) [7,8], există argumente care indică că procesul displazic urmează un sens invers, de sus în jos (*top-down*). În acest tip de morfogeneză precursorii celulelor displazice ar fi localizați în zonele intercriptale, mai curând la suprafața mucoasei, decât la baza criptelor și ar sugera faptul că zona intercriptală ar fi depozitul de celule stem care repopulează colonul după denudarea epitelială [9].

Studii interesante au găsit analogii între paternul invaziei și reconstrucției în adenocarcinoamele de colon, corespunzător tranziției, invaziei și rearanjamentului celular din timpul primei faze de gastrulație (embriogeneza intestinului primitiv) precum și între paternul ramificării tubulare observate în adenoame și adenocarcinoame, asemănător invaginației endodermice care se produce în timpul celei de a doua faze [10].

Adenoamele rezecate endoscopic au o probabilitate de aproximativ 5% în a conține focare de adenocarcinom depistate în timpul examenului histopatologic. Literatura de specialitate conține numeroase referințe la adenoamele vilozice, considerate ca tipuri histologice cu un potențial de malignizare cu mult mai frecvent decât adenoamele tubulare. Un principiu dominant în patologia gastrointestinală susține că adenoamele vilozice, diferit de cele tubulare, găzduiesc adesea focare de adenocarcinom [11]. Totuși, afirmația că descoperirea unui adenom vilos indică un potențial crescut al existenței simultane a unui carcinom într-o altă localizare în colon nu s-a confirmat. Gradului de displazie și arhitecturii vilozice se pare că le lipsește

reproductibilitatea ca factori de prognostic [12]. Dimensiunile în exces – peste un centimetru și multiplicitatea adenoamelor sunt singurii factori, care au întrunit consensul de factori predictivi. Bazându-se pe aceste date, nici gradarea de rutină a adenoamelor de colon, nici clasificarea acestora ca forme tubulare sau vilozitate nu este susținută de variata literatură existentă în domeniu.

Pașii care ar trebui parcurși în managementul unui adenom rezecat endoscopic sunt următorii: confirmarea unui eventual diagnostic de adenocarcinom, determinarea profunzimii invaziei, acordarea gradului histologic și aprecierea invaziei angiolimfatică, completarea endoscopică a rezecției funcție de statusul marginilor polipectomiei. Evaluarea tuturor acestor microstadii poate permite estimarea unui risc de metastazare.

Primul și cel mai important pas în diagnosticul leziunilor rezecate endoscopic este diagnosticul corect de carcinom invaziv. Invazia de tip pseudocarcinomat, aspectul de poziționare defectuoasă (herniere) a epiteliului mucos în submucoasă sau mai profund fiind un fenomen destul de frecvent întâlnit în adenoamele de colon [13].

Cele mai utile aspecte histologice în aceste situații sunt: 1) aspectul rotunjit al glandelor la obiectivele cu magnitudine mică în situațiile benigne versus aspectul neregulat, angulat, infiltrativ al acestora în carcinoamele invazive și 2) prezența *laminei propriae* în jurul glandelor displazice în situația favorabilă versus aspectul desmoplazic caracteristic al stromei dezvoltat ca răspuns al extinderii carcinomului în submucoasă. Hernierea epiteliului în submucoasă poate fi însoțită, mai ales în formele exuberante, pediculate de adenoame, de depozite de hemosiderină, fibroză, acumularea unor colecții acelulare de mucină.

Probabilitatea existenței metastazelor limfonodulare în situațiile extinderii invaziei carcinoatoase în submucoasă la orice nivel al pediculului adenomului este extrem de rară, sub 1% [14]. Această probabilitate devine semnificativă în momentul depistării extinderii în submucoasa peretelui colic propriu-zis, aspecte frecvente în formele sesile de polipi, sau în situația invaziei dincolo de pedicul în formele pediculate.

Leziunile cu diferențiere histologică de grad înalt, puțin diferențiate, precum și cele cu aspecte de invazie angiolimfatică sunt mult mai predispușe să prezinte metastaze limfonodulare [15].

Persoanele cu risc crescut de a dezvolta mai multe adenoame prezintă frecvent adenoame cu grad înalt de displazie, aspecte morfologice vilozitate, dimensiuni de peste 1 cm ale adenomului, toate aceste date descriptive încadrându-se în aspectul de "asa zis" adenom avansat". Cu un număr de 3 sau mai multe adenoame recomandarea este de urmărire colonoscopică la 2 ani.

Persoanele cu risc scăzut prezintă 1 sau 2 adenoame tubulare, cu displazie de grad scăzut, dimensiuni sub 1 cm, necesitând o monitorizare spațiată la 5-10 ani.

Riscul mediu este rezervat polipilor glandulari hiperplazici, evaluarea colonoscopică este recomandată la un interval de 10 ani.

Supravegherea colonoscopică a pacienților cu risc ar putea fi completată pe viitor de evaluarea expresiei imunohistochemice a AMACR ( $\alpha$ -metylacyl CoA racemazei, biomarker utilizat în diagnosticul diferențial al carcinomului de prostată) în diferitele forme de adenoame [16].

## CONCLUZII

Evaluarea minuțioasă și încadrarea în grupe de risc a leziunilor polipoase colorectale permite un management ulterior corect al acestora. Formațiunile polipoase cu aspecte de malignizare prezintă un risc crescut de metastazare numai în situația extinderii

invazive în submucoasă. Formele intramucosale, "in situ", nu prezintă riscul afirmat, necesitând doar excizie locală.

Consemnarea unor aspecte histopatologice de carcinom invaziv în submucoasă la care se adaugă factori de risc cum sunt diferențierea redusă, invazia limfovaculară, aspectul sesil al leziunii cu interesarea submucoasei adiacente, reprezintă indicații clare de colectomie.

#### BIBLIOGRAFIE

1. Dixon MF. Gastrointestinal epithelial neoplasia: Vienna revisited. *Gut* 2000; 51(1): 130-131.
2. Stolte M. The new Vienna classification of epithelial neoplasia of the gastrointestinal tract: Advantages and disadvantages. *Virchows Arch* 2003, 442(2): 99-106.
3. Rubio CA, Nesi G, Messerini L, Zampi GC, Mandai K, Itabashi M, Takubo K. The Vienna Classification applied to colorectal adenomas. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21(11): 1697-1703.
4. Rubio CA. Possible mechanism pertinent to mucosal invasion in sporadic colonic adenomas. *Anticancer Res.* 2004; 24(3b): 2033-2036.
5. Lakis S, Papamitsou T, Panagiotopoulou C, Kotakidou R, Kotoula V. AMACR is associated with advanced pathologic risk factors in sporadic colorectal adenomas. *World J Gastroenterol* 2010; 16(20): 2476-2438.
6. van den Brink GR, Offerhaus GJ. The morphogenetic code and colon cancer development. *Cancer Cell* 2007; 11(2): 109-117.
7. Bach SP, Renehan AG, Potten CS. Stem cells: the intestinal stem cell as a paradigm. *Carcinogenesis* 2000; 21(3): 469-476.
8. Preston SL, Wong WM, Chan AO, Poulosom R, Jeffery R, Goodlad RA, Mandir N, Elia G, Novelli M, Bodmer WF, Tomlinson IP, Wright NA. Bottom-up histogenesis of colorectal adenomas: origin in the monocryptal adenoma and initial expansion by crypt fission. *Cancer Res* 2003; 63(13): 3819-3825.
9. Shih IM, Wang TL, Traverso G, Romans K, Hamilton SR, Ben-Sasson S, Kinzler KW, Vogelstein B. Top-down morphogenesis of colorectal tumors. *PNAS*, 2001, 98(5): 2640-2645.
10. Kirchner T, Brabletz T. Patterning and nuclear  $\beta$ -catenin expression in the colonic adenoma-carcinoma sequence. *Am J of Pathol* 2000; 157(4): 1113-1121.
11. Morson BC, Whiteway JE, Jones EA, Macrae FA, Williams CB. Histopathology and prognosis of malignant colorectal polyps treated by endoscopic polypectomy. *Gut* 1984; 25(4): 437-444.
12. Atkin WS, Morson BC, Cuzick J. Long-term risk of colorectal cancer after excision of rectosigmoid adenoma. *N. Engl. J. Med.* 1992; 326(10): 658-662.
13. Muto T, Bussey HJ, Morson BC. Pseudocarcinomatous invasion in adenomatous polyps of colon and rectum. *J Clin Pathol* 1973; 26: 25-31.
14. Volk EE, Goldblum JR, Petras RE, Carey WD, Fazio VW. Management and outcome of patients with invasive carcinoma arising in colorectal polyps. *Gastroenterology* 1995; 109(6): 1801-1807.
15. Minski B, Mies C. The clinical significance of vascular invasion in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1989; 32(9): 794-803.
16. Williams CB, Saunders BP, Talbot IC. Endoscopic management of polypoid early colon cancer. *World J Surg* 2000; 24(9): 1047-1051.