

Focos de criptas aberrantes El comienzo de la historia...

Verónica León M.⁽¹⁾ y Roque Sáenz F.⁽¹⁾

ABERRANT CRYPTS FOCI, THE BEGINING OF THE TALE...

Aberrant crypts foci (ACF) are lesions characterized morphologically by abnormal crypts on the surface of the colonic mucosa and since its first description in rats, there has been several lines of evidence that suggest that ACF could be a precursor of colorectal cancer. The prevalence of ACF has been estimated in 53,6% in normal people older than 50 years, 90% in patients with adenomas and 100% in patients with colorectal cancer. ACF are detected most commonly in distal colon and rectum, and these lesions have variable histological findings. There are several genetic abnormalities identified in ACF, and the earliest is the mutation of the gene K-ras. The ACF can be identified in vivo with magnificated endoscopy, methylene blue staining and chromoendoscopy, which allow their use as a marker for colorectal carcinogenesis and even predict the population risks, the individuals that are susceptible to receive chemoprevention and to establish surveillance strategies in colorectal cancer.

Key words: aberrant crypt foci, colorectal cancer.

Introducción

El cáncer colorectal (CCR) actualmente representa una de las mayores causas de muerte en países desarrollados.

El proceso de carcinogénesis colorectal es largo, muchas veces tarda años en alcanzar el estadio avanzado, invasivo. Es el resultado de la interacción del ambiente, alteraciones genéticas y de la respuesta adaptativa del huésped.

Uno de los eventos más tempranos en carcinogénesis colorectal, es la alteración del patrón proliferativo de las células epiteliales en las criptas colónicas, asociado a un trastorno en el control de muerte celular programada (apoptosis) en el epitelio colónico. Esto resulta en la formación de pólipos y es conocido que los pólipos adenomatosos son precursores del CCR (Secuencia adenoma-carcinoma)¹.

Se ha reconocido últimamente, que un paso aún más precoz en el proceso de carcinogénesis sería el desarrollo de criptas morfológicamente anormales en la superficie de la mucosa colónica, lo que se ha denominado "focos de criptas aberrantes" (FCA) y podría constituir un precursor del CCR y por lo tanto, ser usado como marcador de carcinogénesis en individuos con un riesgo aumentado².

Definición

La primera descripción de FCA fue en 1987 por Bird, quien observó bajo microscopía criptas aberrantes en mucosa colónica (teñida con azul de metileno) de ratas tratadas con un agente carcinogénico (azoxymetano)³.

Los FCA fueron identificados y definidos

⁽¹⁾ The Latin American OMGE and OMED Advanced Gastrointestinal Endoscopy Training Center. Clínica Alemana. Santiago.

Recibido: 8/6/2007
Aceptado: 20/8/2007

por su apariencia microscópica en la mucosa colónica, en que las criptas presentan las siguientes características^{4,5}:

- 1) Son más alargadas que lo normal.
- 2) Tienen espacio pericriptico aumentado que las separa de las criptas normales.
- 3) Tienen una capa más gruesa de células epiteliales, que a menudo se tiñen más oscuras.
- 4) Generalmente tienen un lumen oval más que circular.
- 5) Frecuentemente se aprecian elevadas sobre la mucosa, pero también pueden ser deprimidas.

Pueden ser observadas como criptas únicas alteradas o como un grupo de criptas alteradas que se denominan "foco".

Se consideran lesiones FCA, si por lo menos reúnen 4 de estos 5 criterios. Es importante enfatizar que sólo lesiones que son identificadas microscópicamente en la mucosa intacta y que reúnen los criterios anteriores son consideradas FCA.

En estudios colonoscópicos, los FCA han sido definidos como leve depresión con tinción de azul de metileno⁶. En humanos, los FCA fueron descritos por primera vez por Roncucci en 1991¹, teniendo características muy similares a las criptas aberrantes vistas en roedores (Figuras 1 y 2).

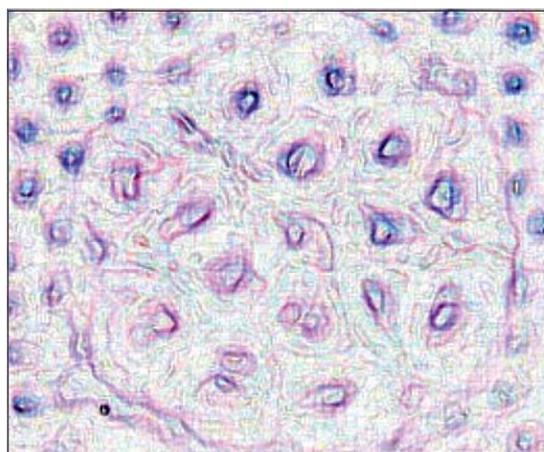


Figura 1. Foco de criptas aberrantes con menos de 20 criptas rodeadas por criptas normales en mucosa colónica humana bajo microscopía.

Prevalencia de focos de criptas aberrantes.

Las diferencias en la prevalencia y densidad han sido evaluadas por Takayama y col⁷ entre grupos de sujetos normales y pacientes con adenoma y cáncer colorectal. En sujetos normales, la prevalencia y el número de FCA en menores de 40 años es baja, aumentando su prevalencia hasta un 53,6% en sujetos mayores de 50 años. Para pacientes con adenoma, la prevalencia es de 75% en menores de 40 años, alcanzando el 90,2% a los 60 años. En pacientes con cáncer colorectal, la prevalencia de FCA es de 100%⁷.

La frecuencia de FCA es mayor en pacientes de áreas geográficas con una alta incidencia de cáncer de colon comparada con pacientes de áreas de baja frecuencia⁸.

No existen datos que avalen diferencias anatómicas o en relación a densidad de ACF entre ambos sexos⁹.

Fenotipo de FCA en humanos

Los FCA son variables en tamaño, desde una única cripta a grandes áreas con cientos de criptas y ambos tipos de alteraciones pueden estar en el mismo paciente. Mientras muchas FCA son microscópicamente evidentes y elevadas, macroscópicamente aparecen planas, no pudiendo ser identificados como pólipos o lesiones sin magnificación y tinción.

En general, en forma arbitraria se excluyen

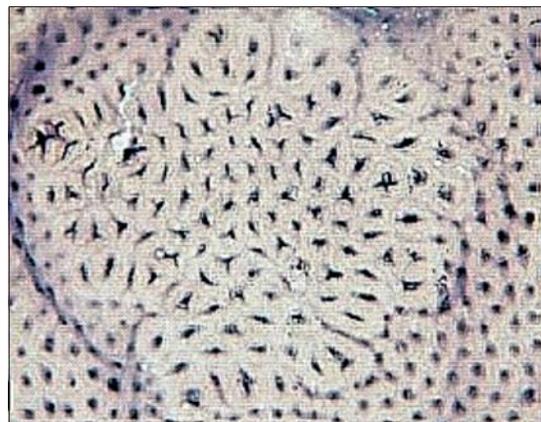


Figura 2. Aspecto a la microscopía de un FCA grande, con lúmenes elongados, aserrados e irregulares.

las lesiones que ocupan un área de 9 mm² o más, ya que se asume que este tipo de lesiones han progresado más allá del estado de FCA⁴.

Los FCA son más comúnmente detectados en el colon distal y recto y sólo un 35% están en el colon proximal. La densidad promedio de FCA también ha sido más alta en colon izquierdo, comparada con colon proximal^{9,10}.

Características histopatológicas

En general, los FCA se clasifican histológicamente en:

- **FCA sin displasia:** Con mucosa normal, carecen de modificaciones importantes en el epitelio de las criptas. Se caracterizan por ser criptas más alargadas (al menos 1,5 veces más largas que lo normal), con mínimos cambios en los núcleos, sin estratificación, con lumen redondo u oval⁶.
- **FCA con hiperplasia:** Se presentan con un aspecto similar a los pólipos hiperplásticos del colon. Las criptas son más grandes que lo normal, con irregularidad y elongación de los ductos, con un lumen aserrado o dendrítico, las células caliciformes presentan disminución parcial de la mucina. Los núcleos son alargados, sin estratificación^{6,11}.
- **FCA con displasia (microadenoma):** En este caso, tanto las criptas como las células tienen diferentes grados de anormalidades, con núcleos grandes, alargados, hiper cromáticos, algunas veces estratificados y con pérdida de la polaridad. El número de células caliciformes está disminuido al igual que la producción de mucina⁶.

La displasia en las células epiteliales del colon ha sido referida como un marcador histológico de riesgo aumentado para progresión a cáncer y se ha visto un mayor grado de displasia en FCA de pacientes con poliposis adenomatosa familiar (entre 75-100%), mientras que la frecuencia de displasia en FCA esporádicos ha sido reportada entre un 5-54%^{1,4}.

En este sentido se ha visto que hasta el 44% de FCA con displasia poseen “up-regulation” de receptor para el factor de crecimiento epidérmico (EGFR), lo que probablemente contribuye al estado hiperproliferativo de FCA displásico¹².

Alteraciones genéticas de FCA

El cáncer de colon es el resultado de la acumulación de múltiples defectos genéticos en la misma célula. La hipótesis de trabajo sería que, si los FCA son lesiones precursoras de estos cánceres, deberían presentar algunas de estas alteraciones.

La primera alteración genética identificada en FCA en humanos fue la aparición de mutaciones en el gen K-RAS, la que se observa en un 73%, con un rango entre un 13 a 95%¹³, y se sabe que ocurre durante la formación de los FCA, siendo muy rara en la poliposis adenomatosa familiar⁴.

La mutación del gene APC es frecuente en los pólipos, pero en contraste a la mutación K-RAS es mucho más difícil de identificar y se produce en el momento en que los FCA llegan a ser adenomas. En general, se ha encontrado una baja frecuencia (entre 4,6-6%) de mutaciones APC somáticas en FCA de pacientes sin poliposis adenomatosa familiar^{5,14}.

Respecto a las mutaciones en el gene p53, se piensa que es un evento tardío en el proceso de carcinogénesis, por lo que no ha sido detectado en lesiones FCA⁴.

Estudios recientes han encontrado mutaciones BRAF en 2% de FCA¹⁵.

Varios estudios histoquímicos adicionales en FCA humanos demuestran que la expresión de oncogenes y genes supresores de tumor juegan un rol en la tumorigénesis. En este sentido, la Beta-catenina que normalmente es expresada en las membranas celulares y no detectada en el citoplasma o núcleo de las células del epitelio colónico, muestra en los FCA con displasia expresión citoplasmática en el 54%, con aumento de expresión nuclear y disminución de la expresión en la membrana¹⁶.

Se ha postulado que la inestabilidad microsatélite o cromosómica, definida como anomalía molecular, que se identifica en el 30% de los FCA de pacientes con cáncer colorectal podría ser un marcador de riesgo para la progresión de la lesión¹⁷.

Además de las alteraciones genéticas mencionadas, hay varios estudios que muestran un rol en la metilación de DNA muy temprano en la tumorigénesis colorectal. Se ha demostrado metilación del gen p16, MGMT, hMMH1,

MINT31, MINT2 y MINT1 en 54% de los FCA esporádico y en el 11% de los ACF de pacientes con poliposis adenomatosa familiar⁴.

Según las aproximaciones anteriores, hay múltiples razones para concluir que FCA son los precursores más tempranos de cáncer colorectal y muchos están de acuerdo en que los FCA con avanzada o severa displasia son precursores de esta neoplasia.

Identificación de FCA

Los FCA pueden ser identificados *in vivo*, usando endoscopia con magnificación con la ayuda de tinción de azul de metileno^{5,7}. Para esto, es necesario utilizar un endoscopio con magnificación y realizar una colonoscopia completa.

La mucosa colorectal debe ser lavada con agua, y se recomienda utilizar una proteasa como N-acetylcisteína para remover el mucus en la mucosa. Luego se debe aplicar a toda la superficie azul de metileno al 0,25% por cerca de 2 minutos y lavar otra vez con agua.

Los FCA aparecen endoscópicamente como lesiones en que las criptas son teñidas más intensamente con azul de metileno, comparado con criptas normales y tienen un mayor diámetro, a menudo con lúmenes ovoides y un epitelio más engrosado¹⁸.

Por otro lado, además del colonoscopia con magnificación (que en muchos centros no está disponible) y el uso de azul de metileno, es posible utilizar como tinción para cromoscopia colónica una solución de indigo carmina, que involucra una tinción que contrasta azul, que acentúa los contornos de la lesión y así provee de una vista detallada de sus bordes y formas sin tener que usar el colonoscopia con magnificación^{19,20}.

Con este método los FCA son definidas como lesiones en que 2 o más criptas están dilatadas, a menudo con lumen oval, que se ven levemente sollevadas sobre la mucosa.

Expresión de marcadores en FCA

La expresión alterada de muchas proteínas en los FCA humanos es similar a aquellas vistas en cánceres de colon y pólipos, sugiriendo que los FCA son precursores de lesiones más avanzadas.

Una de las alteraciones más frecuentes es la expresión aumentada de antígeno carcinoembrionario (CEA) detectado en el 93% de FCA⁴. La expresión de CEA no ha sido asociada con el grado de displasia, pero aumenta en función del tamaño de FCA.

La E-caderina es responsable de la adhesión celular en criptas colónicas, pero la P-caderina puede jugar este rol en algunas circunstancias aunque no se expresa en epitelio colónico normal, sin embargo, se ha visto en el 65% de FCA, siendo su expresión independiente del grado de displasia⁴.

La expresión de hexosaminidasa y actividad de la alfa-naftil-butirato esterasa está aumentada en FCA humanos comparado con mucosa normal adyacente, sin embargo, la alteración de estas 2 enzimas es menos frecuente comparado con roedores⁴.

La actividad telomerasa es detectada en muchos cánceres humanos y se postula como uno de los mecanismos que contribuye a la inmortalidad de las células tumorales. Hay una relación directa entre la actividad telomerasa y la expresión de proteína telomerasa (hTERT). Se ha visto una expresión aumentada de esta proteína en el 38% de FCA y parece ser independiente del grado de displasia y del número de criptas en los FCA. El 65% de los pólipos y todos los carcinomas muestran sobreexpresión de hTERT, sugiriendo que la actividad aumentada de telomerasa tiene un rol en la progresión de FCA a cáncer⁴.

La expresión de óxido nítrico sintetasa (iNOS) en los FCA humanos está disminuida en un 50%, al igual que en carcinomas de colon, lo que difiere de la condición normal, en que hay una importante expresión de iNOS en la mucosa colónica²¹.

Análisis de los FCA en pacientes normales, pacientes con adenoma y pacientes con cáncer

Para clarificar la importancia de los FCA en carcinogénesis colónica humana, es importante analizar los FCA en sujetos normales, en pacientes con adenoma y con cáncer usando endoscopia con magnificación.

En este sentido, Takayama⁷, encontró que el número de FCA, en particular FCA displá-

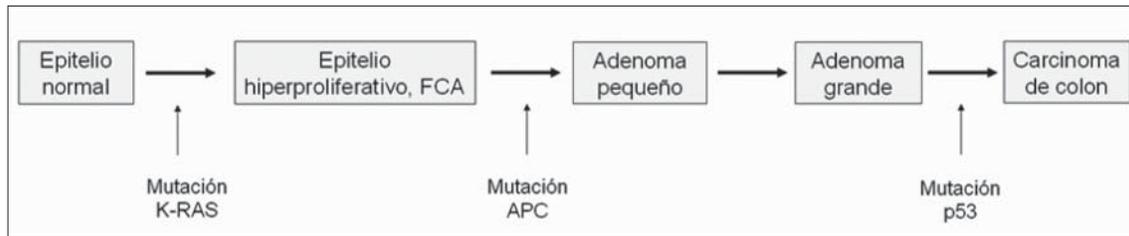


Figura 3. Historia natural del cáncer colorectal.

sico, aumenta progresivamente desde sujetos normales a pacientes con adenoma hasta llegar al cáncer. Encontró también una importante correlación entre el número de FCA y el número de adenomas, además de una correlación entre el tamaño de los FCA (dado por el número de criptas) y el número de adenomas.

Los resultados anteriores sugieren fuertemente que los FCA, particularmente los FCA displásico, serían lesiones precursoras de adenomas y cánceres (Figura 3).

Es aún controversial si los FCA no displásicos preceden a los FCA displásicos o no. Sin embargo, hay reportes en el sentido que algunos FCA contienen características displásicos y no displásicas en la misma lesión¹¹.

Aplicaciones clínicas de la pesquisa de FCA

Una aplicación clínica evidente del conocimiento sobre los FCA es su utilización como biomarcador de carcinógenesis colorectal y como predictor de la población o individuos en riesgo de CCR. En efecto, en el estudio de Takayama⁷ se observó que los pacientes con adenoma y cáncer tienen un mayor número de FCA, y que éstos son de mayor tamaño (más de 20 criptas), comparado con sujetos normales. De manera, que los pacientes que tienen FCA grandes y displásicos tienen un riesgo más alto para desarrollar adenoma y cáncer.

Tal vez, la aplicación clínica más importante de los FCA sería como lesión blanco ("target") para quimiopreención⁵.

Hasta ahora, la lesión susceptible de quimiopreención ha sido el pólipo, que tiene como inconveniente el hecho de que son lesiones grandes para ser erradicadas completamente y además la evaluación de los efectos quimio-

preventivos requiere de un período largo de tiempo. En este contexto, los FCA podrían constituir las lesiones más apropiadas para actuar en forma profiláctica debido a que son las lesiones detectables más pequeñas en forma precoz, con una alteración genética simple (mutación K-RAS)⁵.

Se ha demostrado que el tratamiento quimiopreventivo con sulindaco por 2 meses, reduce en forma importante el número de FCA, al igual que el uso de aspirina en bajas dosis por período de un año reduce en un 52% la densidad de FCA displásico en pacientes con cáncer de colon²².

En un estudio con ratas, se vio que la incorporación de polietilenglicol al 5% en la dieta por un periodo de 2 meses, reduce en un 43% el número y tamaño de los FCA, aunque los mecanismos para este fenómeno son desconocidos²³.

Recomendaciones para la práctica clínica

Si asumimos a la secuencia adenoma-carcinoma como una de las principales rutas patogénicas en el cáncer colorectal, particularmente para lesiones de hemicolon izquierdo, entonces la aplicabilidad clínica de FCA es obvia.

De esta manera, se justifica la vigilancia periódica colonoscópica (cada 3-5 años) para pacientes que muestran una alta prevalencia de FCA, mayores de 40 años (que constituye un factor de riesgo para crecimiento de FCA)²⁴. Estos pacientes pueden ser considerados como de alto riesgo para desarrollar adenoma o de progresar a CCR. Por lo tanto, la aspirina profiláctica o la terapia con sulindaco como quimiopreventivo en este grupo puede ser beneficioso.

Conclusiones

Existe evidencia de que los FCA, especialmente los FCA displásicos representan un cambio morfológico temprano en la mucosa colorectal dentro del proceso de carcinogénesis y ha sido ampliamente aceptado como lesión precursora de cáncer de colon desde un punto de vista morfológico, histológico, biológico y genético.

El desarrollo de métodos como la endoscopia con magnificación y la cromoendoscopia han permitido examinar “*in vivo*” los FCA, lo que hace posible evaluar individuos de alto riesgo en los estados más precoces del proceso de tumorigénesis.

De manera que el sistema FCA puede ser utilizado como un biomarcador temprano de susceptibilidad a cáncer de colon y de esta forma identificar poblaciones o individuos en riesgo, a los que se puede aplicar tratamientos de quimioprevención e incorporar en programas de vigilancia con el fin de reducir la incidencia de adenomas y por lo tanto, de carcinoma colorectal.

Resumen

Focos de criptas aberrantes (FCA) constituyen lesiones caracterizadas por criptas morfológicamente anormales en la superficie de la mucosa colónica y desde su primera descripción en ratas, ha habido varias líneas de evidencia que sugieren que FCA podrían constituir un precursor de cáncer colorectal (CCR). La prevalencia de FCA ha sido estimada en 53,6% en sujetos normales mayores de 50 años, 90% en pacientes con adenoma y 100% en pacientes con CCR. Los FCA son detectados más comúnmente en colon distal y recto, y desde el punto de vista histológico estas lesiones tienen hallazgos variables. Existen múltiples alteraciones genéticas identificadas en FCA, siendo la más precoz la mutación del gene K-RAS. Los FCA puede ser identificados *in vivo* con endoscopia con magnificación, tinción de azul de metileno y cromoendoscopia, lo que permite su utilización como marcador para carcinogénesis colorectal y así predecir la población o individuos en riesgo, los que pueden ser susceptibles de recibir quimioprevención y ser incorporados en programas de vigilancia de CCR.

Palabras claves: Criptas aberrantes, cáncer, colon.

Bibliografía

- 1.- Roncucci L, Pedroni M, Vaccina F, Bonatti P, Marzona L. Aberrant crypt foci in colorectal carcinogenesis. Cell and crypt dynamics. Cell Prolif 2000; 33: 1-18.
- 2.- Shpitz B MD, Hay K B Sc, Medline A MD, Bruce W R MD. Natutal history of Aberrant crypt foci: a surgical approach. Dis Colon Rectum 1996; 39: 763-767.
- 3.- Bird R P. Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. Cancer Lett 1987; 37: 147-151.
- 4.- Pretlow T P, Pretlow T G. Mutant K-RAS in aberrant crypt foci (ACF): Initiation of colorectal cancer?. Biochimica et Biophysica Acta 2005; 1756: 83-96.
- 5.- Takayama T, Miyanishi K, Hayashi T, Kukitsu T. Aberrant crypt foci: Detection, Gene abnormalities and clinical usefulness. Clinical Gastroenterology and Hepatology 2005; 3: S42-S45.
- 6.- Cheng L, Lai M-D. Aberrant crypt foci as microscopic precursors of colorectal cancer. World J Gastroenterol 2003; 9: 2642-2649.
- 7.- Takayama T MD, Katsuki S MD, Takahashi Y MD, Ohi M MD, Nojiri S MD. Aberrant crypt foci of the colon as precursors of adenoma and cancer. N Engl J Med 1998; 339: 1277-1284.
- 8.- Roncucci L, Modica S, Pedroni M, Tamassia M G, Ghidoni M, Losi L, Fante R, Di Gregorio C, Manenti A, Gafa L. Aberrant crypt foci in patients with colorectal cancer. Br J Cancer 1998; 77: 2343-2348.
- 9.- Hurlstone D P, Cross S S. Role of aberrant crypt foci detected using high-magnification-chromoscopic colonoscopy in human colorectal carcinogenesis. Journal of Gastroenterology and hepatology 2005; 2: 173-181.
- 10.- Nucci M R, Robinson C R, Longo P, Campbell P, Hamilton S R. Phenotypic and genotypic characteristics of aberrant crypt foci in human colorectal mucosa. Hum Pathol 1997; 28: 1396-1407.
- 11.- Otori K, Sugiyama K, Hasebe T, Fukushima S, Esumi H. Emergence of adenomatous aberrant crypt foci (ACF) from Hyperplastic ACF with Concomitant increase in cell proliferation. Cancer Research 1995; 55: 4743-4746.
- 12.- Cohen G, Mustafi R, Chumsangri A, Little N, Nathanson J, Cerda S. Epidermal Growth factor receptor signaling is up-regulated in human colonic aberrant crypt foci. Cancer Res 2006; 66: 5656-5664.
- 13.- Shivapurkar N, Huang L, Ruggeri B, Swalsky P A, Bakker A, Finkelstein S. K-RAS and p53 mutations in aberrant crypt foci and colonic tumors from colon cancer patients. Cancer Letters 1997; 115: 39-46.
- 14.- Alrawi S J, Schiff M, Carroll R E, Dayton M, Gibbs J F, Kulavlat M, Tan D, Berman K, Stoler D

- L, Anderson G R. Aberrant crypt foci. *Anticancer Res* 2006; 26: 107-119.
- 15.- Beach R, Chan A O, Wu T T, White J A, Morris J S, Lunagomez S, Broaddus R R, Issa J P, Hamilton S R, Rashid A. BRAF mutations in aberrant crypt foci and hyperplastic polyposis. *Am J Pathol* 2005; 166: 1069-1075.
 - 16.- Hao X P, Pretlow T G, Rao J S, Pretlow T P. Beta-catenin expression is altered in human colonic aberrant crypt foci. *Cancer Res* 2001; 61: 8085-8088.
 - 17.- Greenspan E J, Cyr J L, Pleau D C, Levine J. Microsatellite instability in aberrant crypt foci from patients without concurrent colon cancer. *Carcinogenesis* 2007; 28: 769-776.
 - 18.- Adler D G, Gostout C J, Sorbi D, Burgart L J, Wang L. Endoscopic identification and quantification of aberrant crypt foci in the human colon. *Gastrointestinal Endosc* 2002; 56: 657-662.
 - 19.- Seike K, Koda K, Oda K, Kosugi CH, Shimizu K, Nishimura M, Shioiri M, Takano S, Ishikura H, Miuzaki M. Assessment of rectal Aberrant crypt foci by standard chromoscopy and its predictive value for colonic advanced neoplasms. *Am J Gastroenterol*; 101: 1632-1639.
 - 20.- Hurlstone D P, Karajeh M, Sanders D S, Drew S K. Rectal aberrant crypt foci identified using High-magnification-chromoscopic colonoscopy: biomarkers for flat and depressed neoplasia. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1283-1289.
 - 21.- Hao X P, Pretlow T G, Rao J S, Pretlow T P. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) is expressed similarly in multiple aberrant crypt foci, colorectal tumors from the same patients. *Cancer Res* 2001; 61: 419-422.
 - 22.- Shpitz B, Klein E, Buklan G, Neufeld D, Nissan A, Freund H R, Grankin M, Bernheim J. Suppressive effect of aspirin on aberrant crypt foci in patients with colorectal cancer. *Gut* 2003; 52: 1598-1601.
 - 23.- Karlsson P C, Hughes R, Rafter J J, Bruce W R. Polyethylene glycol reduces inflammation and aberrant crypt foci in carcinogen-initiated rats. *Cancer Letters* 2005; 223: 203-209.
 - 24.- Rudolph R E, Dominitz J A, Lampe J W, Levy L, Qu P, Li S S, Lampe P D, Bronner M P, Potter J D. Risk factors for colorectal cancer in relation to number and size of aberrant crypt foci in humans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 605-608.

Correspondencia a:
 Dra. Verónica León M.
 E-mail: jolyanez@gmail.com