



**Revista Portuguesa
de**

irurgia

II Série • N.º 1 • Junho 2007

ISSN 1646-6918

Órgão Oficial da Sociedade Portuguesa de Cirurgia

O papel da anatomia patológica no diagnóstico e prognóstico dos GISTs

Implicações das características morfológicas e moleculares no diagnóstico e manuseamento de tumores estromais gastro-intestinais (GISTs)

José Manuel Lopes, MD, PhD, António Gouveia, MD, Amadeu Pimenta, MD, PhD

Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Hospital de S. João e IPATIMUP

(Comunicação apresentada na Reunião da Sociedade Portuguesa de Cirurgia “Um dia, um tema” – Abordagem actual dos tumores do estroma gastrointestinal (GIST), realizada no Centro Hospitalar de Lisboa - Zona Central, Hospital de Santo António dos Capuchos, Serviço de Cirurgia 6, Setembro de 2006)

Os tumores estromais gastro-intestinais (Gastro-Intestinal Stromal Tumours – GISTs) são os tumores mesenquimatosos primários, relativamente raros (estima-se uma incidência populacional de cerca de 20/1000000/ano), mais frequentes do tubo digestivo. São tumores geralmente esporádicos do adulto, 95% dos casos com idades superiores a 40 anos (mediana: 60-69 anos, com ligeiro predomínio do género masculino) e localizam-se, por ordem de frequência, no estômago (60%), intestino delgado (30%), cólon/recto (5%) e outras topografias (ex.: esófago, mesentério e peritoneu, 5%). Alguns casos ocorrem em síndromas (ex.: doença de von Reclinghausen – NF1 e tríade de Carney), designadamente casos pediátricos (6-14 anos) indolentes, múltiplos, preferencialmente localizados no intestino delgado e no cólon, em adultos jovens (15-24 anos), e raramente são familiares hereditários (autossómicos dominantes, geralmente múltiplos e multifocais, associados com urticária pigmentosa, nevos melânicos, melanomas, acalásia ou hiperplasia neuronal do plexo mioentérico).

Os GISTs podem apresentar-se como tumores sólidos heterogéneos, geralmente bem limitados por pseudo-cápsula (Fig 1A), parcialmente cavitários, com

áreas necro-hemorrágicas e dimensões variáveis (mediana: 4,6-7cm), desde menos de 1cm (geralmente achados incidentais assintomáticos, por exemplo em autópsias) até 35cm (geralmente sintomáticos, podendo ser palpáveis).

Histologicamente, os GISTs são constituídos por uma população de células tumorais geralmente monótonas, raramente pleomórficas, de citoplasma eosinófilico ou claro, com morfologia fusiforme- Fig 1B (70%), epitelióide-Fig 1C (20%) ou mista (10%) e estroma variavelmente colagenoso/hialino ou mixóide.

Desde a sua controversa individualização, constata-se que os GISTs apresentam uma considerável variabilidade no seu espectro de diferenciação celular. Actualmente, aceita-se que os GISTs representam a contrapartida tumoral das células intersticiais de Cajal (CIC- células *pacemaker*, que regulam o peristaltismo do tubo digestivo) ou das suas precursoras, podendo exibir graus variáveis de fenótipo (histológico, ultra-estrutural e imunocitoquímico) mióide, neural, ganglionar autónomo, misto ou indiferenciado.

As células dos GISTs caracterizam-se pela expressão de CD117 (Fig 1D), que identifica uma proteína receptor de membrana (c-KIT), com actividade tiro-



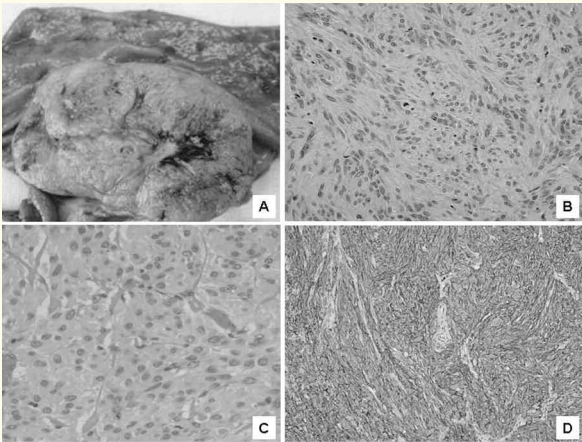


Fig. 1 – Aspecto macroscópico (A), células tumorais fusiformes (B) e epitelióides (C), com expressão de CD 117 (D)

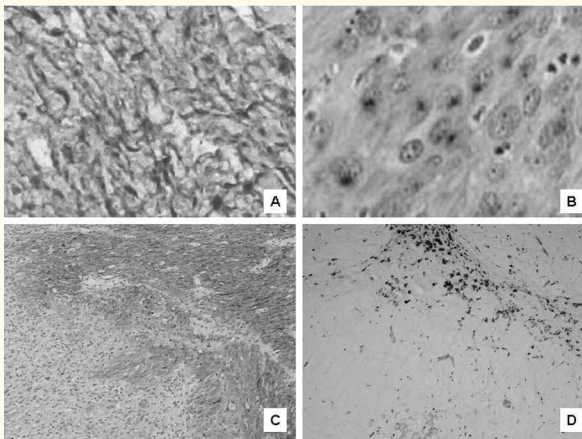


Fig. 2 – CISTs com expressão membranar (A) paranuclear “dot” (B) e focal de CD 117 (C); reessão com aspecto paucicelular, estroma esclero-hialino e sinais de hemorragia de GIST pós-mesilato de imatinib (D)

sina cinásica, também expressa nas CIC; a expressão de c-KIT observada nos GISTs traduz ganho-de-função da proteína c-KIT (ativação constitutiva) em resultado de mutação do gene c-KIT (que funciona, neste contexto, como um oncogene), sendo a expressão de CD117 nas CIC um fenótipo normal (isto é, sem mutação do gene).

Imunocitoquimicamente, os GISTs para além da expressão de CD117 (até 95%, consoante as séries), expressam CD34 (70%), actina do músculo liso (40%), proteína S100 (5%) e desmina (células dispersas, 2%). A expressão de CD117 pode ser membranar-Fig 2A e/ou citoplasmática, por vezes pontual

paranuclear (“dot”)-Fig 2B, focal (Fig 2C) ou difusa, dependendo da amostra, das condições de fixação e da metodologia usada no estudo imunocitoquímico. Cerca de 5-10% de GISTs não expressam CD117.

Salienta-se, que a presença de expressão de CD117 num tumor (GIST ou outro) não indica necessariamente que há mutação do gene c-KIT e, inversamente, pode ocorrer mutação do gene c-KIT na ausência de expressão imunocitoquímica de CD117.

Nestes casos CD117 negativos, pode ser útil o estudo da expressão de DOG1 (Discovered On GIST) – uma proteína transmembranar de função desconhecida raramente expressa noutros tumores mesenquimatosos – no diagnóstico diferencial; a proteína cinase C (PKC teta) é altamente expressa e fosforilada constitucionalmente na maioria dos GISTs, podendo também ser útil na identificação de casos CD117 negativos; a maioria dos GISTs expressa ras p21, que é um dos mediadores a jusante da sinalização KIT.

O diagnóstico diferencial de GIST com outras neoplasias/lesões neoplásiformes do tubo digestivo (ex.: tumores neurogénicos, musculares lisos, fibromatose, tumor fibroso solitário, melanoma metastático, lipossarcoma desdiferenciado, tumor miofibroblástico inflamatório, sarcoma de células reticulares dendríticas, carcinoma de células fusiformes) deve basear-se na aplicação, por ordem de sequência, em critérios clínicos, morfológicos, imunocitoquímicos e moleculares, de acordo com cada caso individual.

O comportamento clínico e biológico dos GISTs não é previsível de forma segura, sendo, actualmente, consensual o uso da classificação em grupos de risco (tabela) baseada na maior dimensão (cm) e no índice mitótico (nº de mitoses/50 campos de grande ampliação-CGA-400x) dos tumores; isto significa que todos os GISTs têm potencial maligno, com a possível excepção dos tumores de reduzidas dimensões (<1cm), pondo em causa a dicotomia benigno *versus* maligno usada classicamente em oncologia. Alguns autores têm proposto uma classificação alternativa de categorias de avaliação de risco dos GISTs considerando, para além dos dois parâmetros indicados (dimensão maior e índice mitótico), a localização (gástrica *versus* entérica) do tumor.



A taxa de recidiva/persistência e de metástases (geralmente para o peritoneu, epiploon/mesentério e fígado) dos GISTs, o intervalo livre de doença e a sobrevida global, correlacionam-se significativamente com os grupos de risco atrás referidos, com a forma de apresentação inicial (localizada *versus* avançada) e com a qualidade das margens de ressecção (R0, R1 e R2).

Como já referido, os GISTs caracterizam-se por mutações do gene KIT (exão 11:66,9%; exão 9: 9,8%; exões 13 e 17: ≈ 2%) ou por mutações do gene PDGFRA (exões 12 e 14: 1,4%; exão 18: 6,1%) em tumores predominantemente epitelióides – esquema 1. Estas mutações são mutuamente exclusivas e ocorrem mesmo em tumores <1cm, sugerindo que se trata de evento inicial nos GISTs. Ambos os genes têm localização na mesma região cromossômica (4q12) e pertencem ao grupo de receptores membranares tirosinocinásicos (RTK) tipo III : contêm 5 domínios de tipo imunoglobulina na região extracelular de interacção com o ligando, um domínio transmembranar, e um domínio citoplasmático tirosinocinásico interrompido por uma grande inserção cinásica.

Não se detecta quaisquer das mutações atrás referidas em 13,8% de GISTs (“wild-type”). Os GISTs familiares e os pediátricos caracterizam-se por mutações germinativas de KIT ou PDGFRA, podendo os casos pediátricos esporádicos ser “wild-type”, com sobre-expressão de fosfatase cinase alfa-1, e os associados às síndromas NF1 e à tríada de Carney (85% dos casos em mulheres com paraganglioma e cordoma pulmonar) por ausência de mutações de ambos os genes. É, assim, evidente que do ponto de vista molecular os GISTs são tumores heterogéneos.

Para além da importância fundamental da cirurgia, actualmente é possível o controlo da progressão de GIST com recurso a terapêuticas/alvo dirigidas por via oral: o mesilato de imatinib foi a primeira droga usada na inibição (bloqueio da fosforilação tirosinocinásica) da activação constitucional de c-KIT e PDGFRA implicada na patogénese da maioria dos GISTs, com eficiência comprovada, dependendo do tipo de alteração molecular presente, na regressão/estabilização da maioria dos tumores (Fig. 2D).

GIST: CLASSIFICAÇÃO DE RISCO

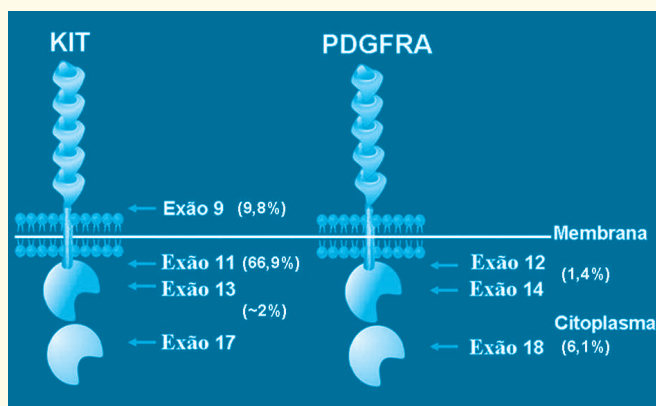
	Dimensão	Índice Mitótico
Risco muito baixo	< 2 cm	< 5 /50 CGA
Risco baixo	2 - 5 cm	< 5 /50 CGA
Risco intermédio	< 5 cm	5 - 10 /50 CGA
	5 - 10 cm	< 5 /50 CGA
Risco elevado	> 5 cm	5 - 10 /50 CGA
	> 10 cm	Qualquer
	Qualquer	> 10 /50 CGA

As mutações no exão 11 do KIT (domínio justamembranar) localizam-se entre os codões 556 e 560, com deleções e inserções predominando nos codões 557-559 e mutações pontuais nos codões 559 e 560; os casos com mutação no exão 11 apresentam boa resposta ao imatinib; aparentemente as deleções associam-se a um comportamento mais agressivo do que as inserções e mutações pontuais.

As mutações no exão 9 do KIT (domínio extracelular) ocorrem principalmente nos codões 501-502, sendo duplicações-inserções; associam-se a GISTs entéricos e comportamento agressivo; a resposta ao imatinib é, nestes casos, intermédia.

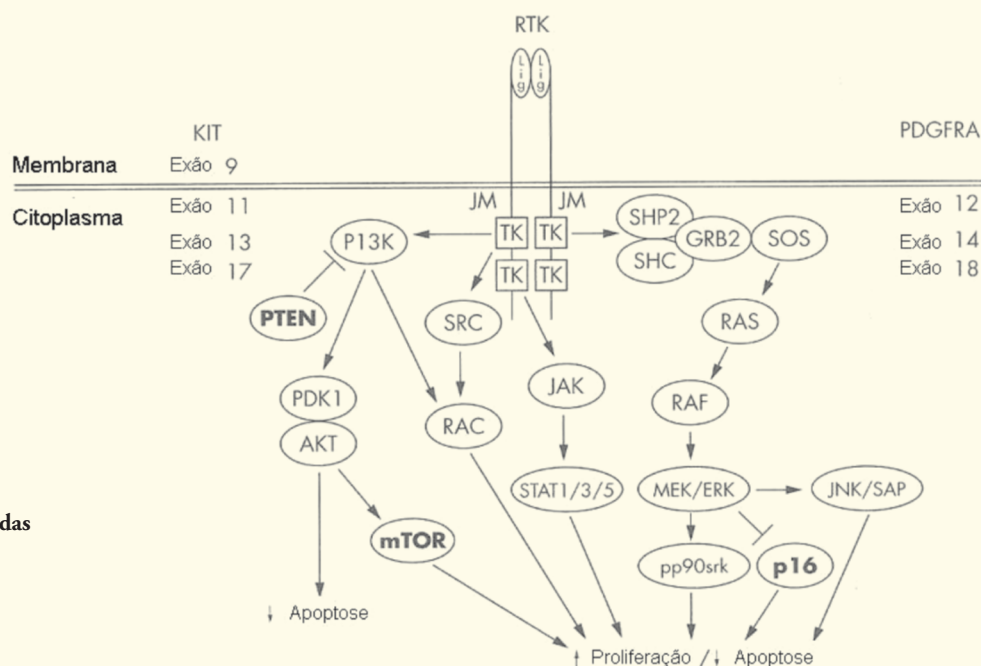
As mutações no exão 13 do KIT (domínio cinásico I) afectam o codão 642 e associam-se a resistência ao tratamento com imatinib.

As mutações no exão 17 do KIT (ansa de activação) afectam os codões 820 e 822 (mecanismo de activa-



Esquema 1 – GIST: mutações dos genes KIT e PDGFRA





Esquema 2 – Vias de sinalização activadas pelo KIT e PDGFRA

ção desconhecido); a resposta ao imatinib nestes casos é má; nunca se observou mutação no codão 817 do exão 17 do KIT (implicado na mastocitose e na leucemia mielóide aguda) em GISTs.

As mutações no exão 18 do PDGFRA (ansa de activação) ocorrem nos codões 842-849; algumas (D842V, RD841-842KI e DI842-843IM) mostraram resistência considerável ao tratamento com imatinib.

As mutações do exão 12 do PDGFRA (domínio justamembranar) ocorrem nos codões 561-571 e associam-se a boa resposta ao imatinib.

A única mutação descrita no exão 14 do PDGFRA (domínio cinásico I), N659K aparenta resposta ao imatinib.

Depois de confirmado o diagnóstico, o único tratamento que permite cura num caso de GIST é a ressecção cirúrgica. Para os casos localmente avançados, irressecáveis ou metastáticos, para além da cirurgia, é possível controlar a progressão da doença com recurso a terapêutica com inibidores de RTKs (ex.: mesilato de imatinib). A resposta ao imatinib (regressão completa ou parcial, com perda/diminuição da celularidade tumoral e esclerohialinização do tumor)

tem sido relacionada com o tipo de alteração molecular, farmacocinética, resistências primárias (ver atrás mutações sensíveis/resistentes) e secundárias (geralmente por aquisição de novas mutações nos genes implicados, resistentes à terapêutica, ou devido à selecção de vias alternativas de progressão tumoral) o que tem levado ao estudo das vias de sinalização intracelulares usadas pelos GISTs para definir terapêuticas com drogas combinadas ou isoladas inibidoras dos múltiplos mediadores de sinalização intracelular (ex.: tirosinocinasas – TKs) implicados na proliferação e apoptose das células tumorais (ver esquema 2).

Finalmente, dada a importância terapêutica que resulta do diagnóstico de GIST, em caso de dúvida, particularmente quando o tumor não expressa CD117, deverá considerar-se a necessidade de enviar o caso para um centro de referência com capacidade para realização de pesquisa molecular de mutações de C-KIT e PDGFRA. A inclusão dos casos numa base de dados de âmbito nacional é fundamental para o avanço desejável no esclarecimento clínico-patológico e terapêutico dos GISTs em Portugal.

