

”spindle cell”, melanoame, angiosarcoame, sarcomul Kaposi. Diagnosticul diferențial cu tumorile desmoide sau liposarcoamele care invadează tractul gastrointestinal este uneori necesar.

Diagnosticul diferențial histopatologic pentru tumorile gastrointestinale stromale de tip epitelioid se realizează cu carcinomul primar sau metastatic, limfomul cu celule mari, melanomul, paragangliomul, tumora glomică și intraoperator este necesar a fi deosebite de alte tumori epitelioides intraabdominale cum ar fi PEC-oma (Perivascular epithelioid cell neoplasms – Neoplasm perivascular cu celule epitelioides) sau angiosarcomul epitelioid (90).

### **4.3. DIAGNOSTIC IMUNOHISTOCHIMIC**

Diagnosticul de certitudine și implicit diagnosticul diferențial cu alte sarcoame este asigurat de efectuarea examenului imunohistochimic, examen devenit obligatoriu. Acesta testează imunomarkeri specifici în GIST și anume CD117 (c-KIT) care este pozitiv în aproximativ 95% din cazuri, restul de 5% dintre GIST-uri necesitând testarea altor markeri specifici precum: CD34, DOG1, SMA, Proteina S100, Desmina, Ki67, PKC-θ.

#### **4.3.1 CD117**

La baza oncogenezei GIST stau mutațiile protooncogenelor KIT (tyrosine-protein kinase – receptor pentru tirozin-kinază) sau PDGFRA (platelet derived growth factor receptor alpha - alfa receptorul pentru factorul de creștere derivat din trombocite), ambele codifică un receptor transmembranar tirozin-kinazic - c-KIT, cunoscut și sub denumirea anticorpului care îl marchează și anume CD117.

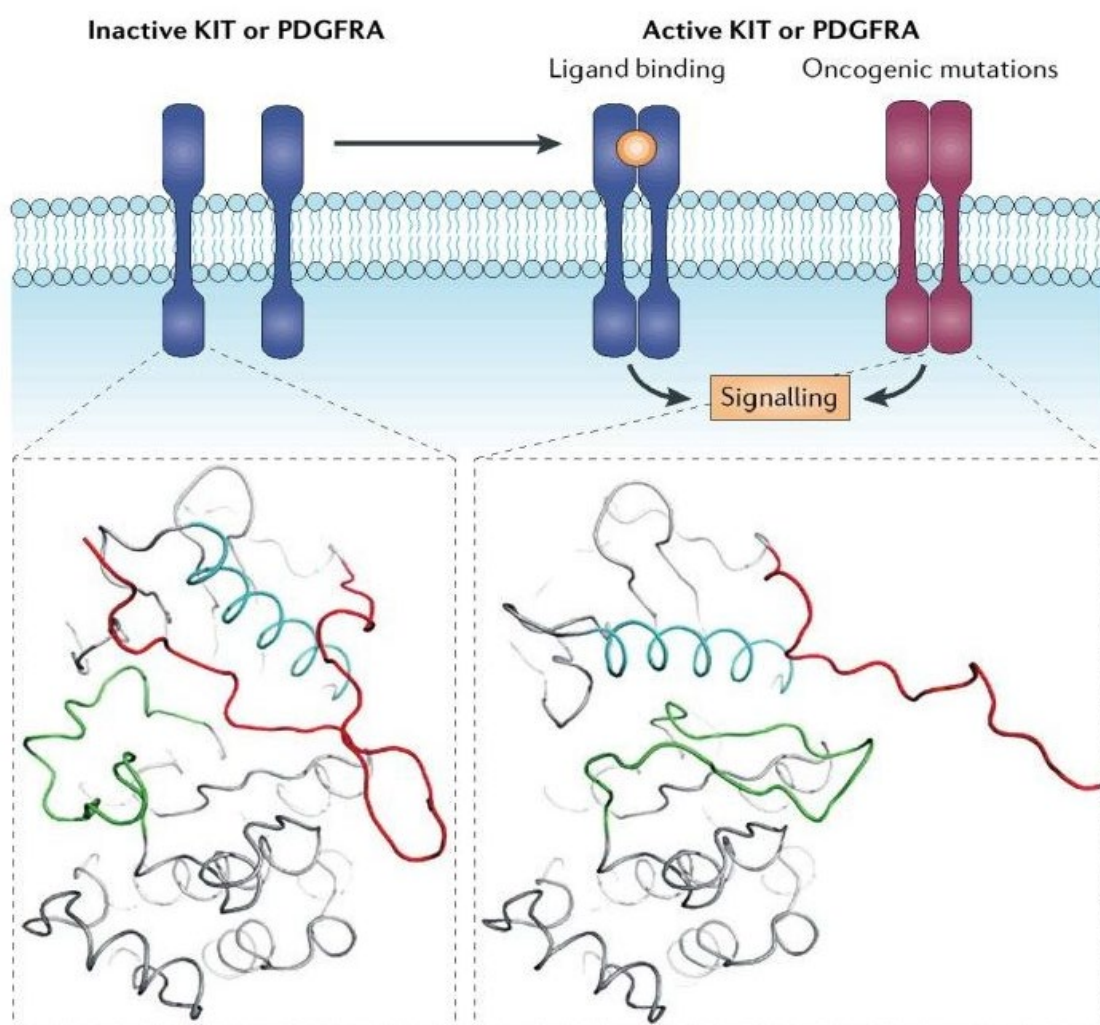
Proteina c-KIT este un receptor transmembranar glicozilat cu greutatea moleculară de 145 kDa și activitate tirozin-kinazică, ligandul său specific este factorul de creștere al celulelor stem (SCF) și este compus din 4 regiuni:

- Domeniul extracelular (EC) cu 5 domenii ligand-like;
- Domeniul transmembranar (TM);
- Domeniul juxtamembranar (JM);
- Domeniul intracelular (IC) sau domeniul tirozin-kinazic intracitoplasmatic.

Proteina PDGFRA (platelet derived growth factor receptor alpha - alfa receptorul pentru factorul de creștere derivat din trombocite) este tot un receptor transmembranar glicozilat cu activitate tirozin-kinazică, având o greutatea moleculară de 122 kDa. Structura sa este alcătuită din aceleași domenii ca și proteina c-KIT, ligandul său specific fiind PDGFA (factorul de creștere derivat din trombocite – platelet derived growth factor).

Interacțiunea dintre receptorii c-KIT și PDGFRA și liganzii specifici determină dimerizarea proteinei care va iniția fosforilarea și va determina activarea domeniului tirozin-kinazic intracitoplasmatic, drept urmare vor fi fosforilate toate proteinele intracelulare care asigură transmiterea semnalului.

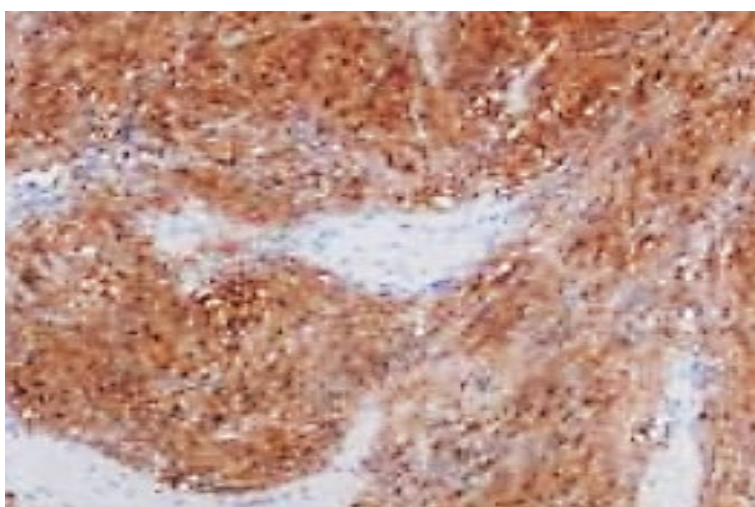
Genele KIT și PDGFRA codifică proteine tirozin-kinazice tip III omoloage, cu rol de receptor, care au fost denumite în mod similar. Ambele gene sunt localizate la nivelul brațului lung al cromozomului 4 (q11-q12) și au evoluat probabil ca o dedublare a unei gene ancestrale (26). Mutațiile de la nivelul acestora permit fosforilarea receptorului tirozin-kinazic cu perpetuarea semnalului inițiat de receptor, fenomen care provoacă activarea efectorilor din aval. Rezultatul final al acestei activări este creșterea proliferării celulare și scăderea apoptozei, ceea ce conduce în cele din urmă la neoplazie (125, 126) (vezi Figura 4.4). Mutațiile KIT și PDGFRA sunt reciproc exclusive, GIST-urile care prezintă mutații PDGFRA tind să fie slab pozitive sau complet negative pentru KIT (124).



**Figura 4.4** - Activarea KIT/PDGFR prin dimerizarea receptorilor ligand-dependentă sau ligand-independentă (mutație KIT/PDGFR) (127)

– reprodus după [https://www.medscape.com/viewarticle/754503\\_2](https://www.medscape.com/viewarticle/754503_2) –

Majoritatea tumorilor gastro-intestinale stromale, aproximativ 95%, exprimă CD117 (c-Kit) (4, 8, 9, 11, 128), aceasta fiind cea mai bine definită trăsătură a tumorilor stromale gastrointestinale, diferențiindu-le de tumorile cu originea în mușchiul neted (leiomioame, leiomiosarcoame) și de tumorile derivate din creasta neurală (schwanoame, neurofibroame, inclusiv tumorile dezvoltate din celulele sistemului nervos autonom al tractului digestiv). CD117 (c-KIT) nu este însă specific pentru GIST, acesta este afișat și la suprafața celulelor stem și are rol în hematopoieză, melanogeneză, gametogeneză, precum și în creșterea și diferențierea normală a mastocitelor și a celulelor interstițiale Cajal, dar este absent în tumorile provenite din celulele musculare netede sau din creasta neurală.



**Figura 4.5** – CD117 intens pozitiv într-un GIST de intestin subțire (colorație CD117, HEx100)

Imunofenotiparea pentru CD117 este insuficientă pentru diagnosticul de GIST, astfel încât pentru a îmbunătăți acuratețea diagnosticului în GIST-uri și în mod special în cele KIT-negative, în afară de mutațiile receptorului tirozin-kinazei au fost studiați și alți imunomarkeri.

#### **4.3.2. CD34**

CD34 este o proteină glicozilată transmembranară cu greutate moleculară de aproximativ 110 kDa, specifică pentru celula precursoră hematopoietică, exprimată, de asemenea, de celulele endoteliale, anumite fibroblaste și multe neoplasme legate de aceste tipuri de celule (12). Rolul acesteia nu este pe deplin înțeles. (125) Aproximativ 80%-85% din tumorile stromale gastrointestinale gastrice, 50% din cele ale intestinului subțire sunt pozitive pentru CD34, tumorile stromale gastrointestinale ale esofagului și rectului fiind aproape constant CD34- pozitive (95% -100%). Expresia CD34 nu s-a dovedit a fi un factor de prognostic semnificativ în GIST (129).

#### 4.3.3. SMA (Smooth Muscle Actin)

SMA sau Actina este o proteină specifică celulelor musculare netede, implicată în contractilitate și mișcarea celulară. Cu toate că a fost inițial considerată a fi specifică pentru celulele care prezintă o diferențiere a musculaturii netede, SMA este exprimată și de miofibroblaști și celulele mioepiteliale. Cea mai importantă utilizare este în diagnosticul diferențial al GIST-urilor cu celule fusiforme spindle-cell și leiomiosarcom. Până la 47% din GIST-urile intestinului subțire și 10-13% din GIST-urile rectale și esofagiene sunt pozitive pentru SMA. SMA pozitivă fost raportată în 63% până la 100% din leiomiosarcoame, dar acestea sunt negative pentru c-kit, CD34, S100, sau  $\beta$ -catenin (130). Pozitivitatea SMA variază de la focală la extinsă și poate fi la fel de proeminentă ca pozitivitatea Kit în aceste tumori. Prezența SMA este asociată cu un prognostic favorabil semnificativ statistic în tumorile gastrointestinale stromale de intestin subțire și stomac (26).

#### 4.3.4. DESMINA

Desmina, proteină de tip filamentar cu greutate moleculară de 53-kDa, se găsește în mod caracteristic în celulele musculare netede cardiace și în celulele musculare striate. Clonele D-33, DER-11, și DEB-5 sunt anticorpii monoclonali cei mai folosiți pentru desmină (130). Este rar întâlnită în tumorile stromale gastrointestinale, în aproximativ 5-10% din cazuri, fiind mai frecventă în tumorile de esofag și stomac și foarte rar în GIST-urile intestinale. Desmina pozitivă este mai frecventă în tumorile epiteloide gastrice și este de obicei focală. Biopsiile secvențiale au sugerat faptul că tratamentul cu IMATINIB poate induce exprimarea desminei în unele tumori.

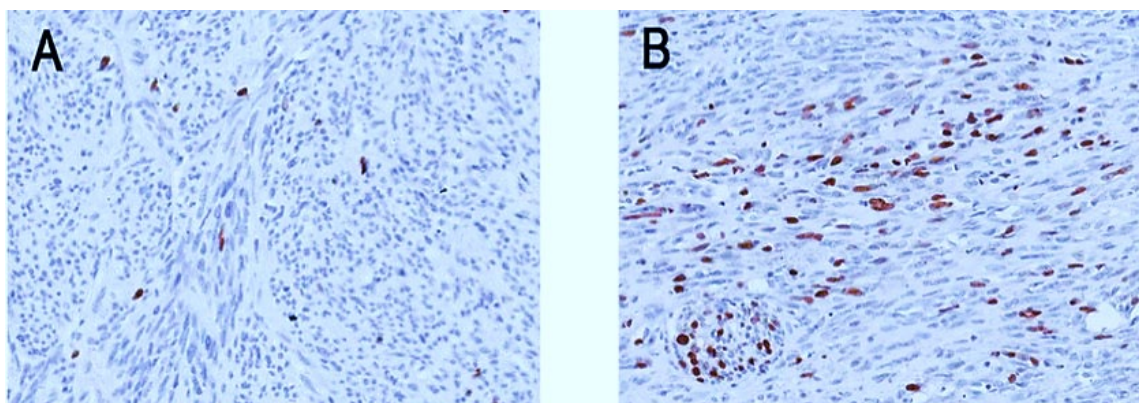
#### 4.3.5. PROTEINA S100

Proteina S100, proteină care leagă calciul, a fost descoperită în celulele gliale din extracte de creier. Numele său derivă din faptul că este solubil în soluție de sulfat de amoniu 100%. Deși a fost izolat inițial din extracte de creier, multe țesuturi exprimă proteina S100, inclusiv melanocite, condrocite, celule Schwann, histiocite Langerhans și diferite epitelii cum ar fi cele din sân, glande salivare și tractul reproductiv feminin. Utilitatea expresiei proteinei S100 în neoplasmele cu celule fusiforme ale tractului gastro-intestinal este capacitatea sa de a identifica schwanoamele, care sunt pozitive pentru S100 în 100% din cazuri (130, 131). Multe studii au demonstrat lipsa de exprimare a proteinei S100 în GIST, dar unii autori au raportat pozitivarea S100 la nivel citoplasmatic și nuclear în 5-10% din GIST. În plus, Miettinen și colaboratorii au constatat că expresia proteinei S100 în GIST este în general pozitivă la nivelul intestinului subțire, în timp ce tumorile stromale gastrointestinale derivate din părți de-a lungul tractului gastro-intestinal sunt de obicei S100-negative (26, 130, 132). Un studiu publicat de Perez

D. și colaboratorii în 2007 a găsit o tendință crescută la recidivă și o supraviețuire semnificativ mai mică la pacienții cu proteina S100 pozitivă la examenul imunohistochimic (133).

#### 4.3.6. Indexul Ki67

Imunomarkerul Ki67, cunoscut și sub denumirea MK167, este o proteină nucleară prezentă în celulele normale în faza de diviziune celulară și, de asemenea; marker al proliferării celulare identificată la nivelul celulelor neoplazice cu multiplicare intensă. Expresia Ki67 este cuantificată prin indexul de proliferare care corespunde procentului de nuclei marcați cu anticorpii anti Ki67, existând o corelație strânsă între indexul de proliferare Ki67 și indexul mitotic. Este utilă în evaluarea prognosticului, mai ales în cazul tumorilor cu index mitotic de graniță (5 mitoze / 50 HPF) și în monitorizarea tumorilor stromale gastro-intestinale (134, 135). Există autori care propun utilizarea indexului de proliferare Ki67 drept alternativă la numărătoarea mitozelor, dar în prezent este utilizat doar în asociere cu factorii cunoscuți de evaluare a prognosticului.



**Figura 4.6** – Ki67 pozitiv (colorație Ki67, HEx40) A - index de proliferare Ki67 – 3%  
B – index de proliferare Ki67 – 20%

#### 4.3.7. DOG1 - Chloride channel protein denominated - Discovered on GIST – 1

DOG1 – Chloride channel protein denominated - Discovered on GIST – 1 (Proteina canalului de clor - descoperită în tumori gastrointestinale stromale), canal de calciu compus din 8 domenii transmembranare este un marker care s-a dovedit a fi puternic exprimat în GIST. Deși ANO1 (cunoscută și sub numele TMEM161A și FLJ10261) este simbolul aprobat al genei, DOG1 este numele cel mai frecvent utilizat în literatura de specialitate.

Studii recente au demonstrat că sensibilitatea generală a colorării DOG1 în GIST variază între 75% și 100%, în funcție de tipul de anticorpi folosiți, depășind chiar