

Ανοσοϊστοχημική έκφραση επιθηλιακών δεικτών σε γαστρεντερικούς στρωματικούς όγκους (GIST). Μια σοβαρή διαγνωστική παγίδα.

Α. Τσαβαρή¹, Κ. Κούλια¹, Δ. Μυωτέρη¹, Ε. Αρκουμάνη¹, Ε. Μούστου¹, Ε. Σκαφίδα¹, Κ. Μανωλουδάκη¹, Δ. Ζήσης², Θ. Βασιλακάκη¹.

¹ Παθολογοανατομικό Εργαστήριο και Γαστρεντερολογικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Πειραιά «Τζάνειο»

(Επιστημονικά Χρονικά 2012;17(3): 158-161)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Οι γαστρεντερικοί στρωματικοί όγκοι (GIST) είναι τα συχνότερα μεσεγχυματικά νεοπλάσματα του πεπτικού σωλήνα. Λίγες αναφορές υπάρχουν ως προς την έκφραση κυττοκερατινών σ' αυτούς τους όγκους στη διεθνή βιβλιογραφία.

Σκοπός: Η διερεύνηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης διαφόρων επιθηλιακών δεικτών στους GISTs και η σχέση τους με διάφορες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους.

Υλικό και μέθοδοι: Το υλικό μας αποτέλεσαν 36 περιπτώσεις γαστρεντερικών στρωματικών όγκων. Από κάθε περίπτωση ελήφθησαν τομές πάχους 4μm από κύβους παραφίνης στις οποίες έγιναν ανοσοϊστοχημικές χρώσεις για τους δείκτες CKAE1,CKAE3,34βE12,CK5/6,CK7 και CK20. Πληροφορίες που αφορούσαν το φύλο, την ηλικία, το μέγεθος και την εντόπιση του όγκου, τη διηθητική ανάπτυξη, τη μιτωτική δραστηριότητα, το δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού ki67 και τη βιολογική του συμπεριφορά καταγράφηκαν από όλους τους ασθενείς. Όλες οι περιπτώσεις ταξινομήθηκαν σε τέσσερις ομάδες ανάλογα με το βαθμό έκφρασης (score) του κάθε δείκτη: 0:αρνητικό, 1:<10% , 2:10-50% , 3:>50%. Η ανοσοϊστοχημική έκφραση των δεικτών συσχετίστηκε στατιστικά με τις ανωτέρω κλινικοπαθολογικές παραμέτρους.

Αποτελέσματα: Δεν παρατηρήθηκε έκφραση των δεικτών CKAE1,34βE12,CK5/6 και CK20 σε καμία από τις 36 περιπτώσεις. Έκφραση της CK7 παρατηρήθηκε σε 2 (5,5%) περιπτώσεις και της CKAE3 σε 3 (8,3%).Το ποσοστό έκφρασης ήταν <10% σε όλες τις περιπτώσεις. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική σχέση της έκφρασης των κερατινών CK7 και CKAE3 με όλες τις ανωτέρω παραμέτρους.

Συμπεράσματα: Οι επιθηλιακοί δείκτες αν και εκφράζονται σπάνια στους γαστρεντερικούς στρωματικούς όγκους πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη στη διαφορική διάγνωση από καρκινώματα ή νευροενδοκρινικούς όγκους ειδικά στους GISTs με επιθηλιοειδή μορφολογία.

Λέξεις ευρετηρίου: γαστρεντερικοί στρωματικοί όγκοι, επιθηλιακοί δείκτες.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι γαστρεντερικοί όγκοι ήταν το αίτιο σοβαρών διαγνωστικών διλημάτων επί δεκαετίες. Τα τελευταία χρόνια με την βοήθεια της γενετικής και της ανοσοϊστοχημείας έγινε εφικτή η διάκριση των όγκων GIST από τους όγκους των λείων μυϊκών ινών και τους νευρογενείς όγκους. Σήμερα οι όγκοι GIST θεωρούνται ότι προέρχονται από τα ενδιάμεσα κύτταρα του Cajal ή από αρχέγονα εντερικά κύτταρα. Τα κύτταρα του Cajal εντοπίζονται στην υποβλεννογόνια και την εν τω βάθει μυϊκή στοιβάδα του γαστρεντερικού

συστήματος και ρυθμίζουν την κινητικότητά του [1-3]. Τόσο τα κύτταρα Cajal όσο και τα κύτταρα των όγκων GIST εκφράζουν ανοσοϊστοχημικά την πρωτεΐνη c-kit που αποτελεί το πλέον ειδικό γνώρισμα της νόσου. Η c-kit πρωτεΐνη είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη, που το ενδοκυττάριο τμήμα της όταν ενεργοποιηθεί αποκτά δράση τυροσινικής κινάσης. Κωδικοποιείται από το πρωτο-ογκογονίδιο c-kit που βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 4(4q12) [4-6].

Τα αρχέγονα εντερικά κύτταρα διαφοροποιούνται

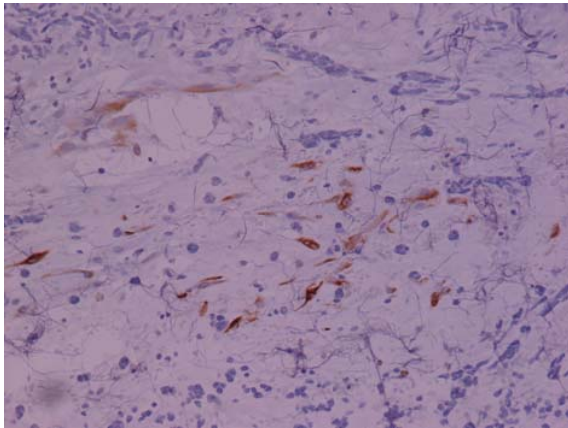
είτε σε κύτταρα Cajal είτε σε λεία μυϊκά κύτταρα. Η υπόθεση της προέλευσης των όγκων GIST από τα αρχέγονα αυτά κύτταρα μπορεί να ερμηνεύσει την εντόπιση των όγκων αυτών και σε άλλες θέσεις πέραν του γαστρεντερικού όπου δεν υπάρχουν κύτταρα Cajal καθώς και την ύπαρξη ορισμένων κοινών χαρακτηριστικών των όγκων GIST με τους όγκους εκ λείων μυϊκών ινών.

Αν και οι όγκοι GIST ταυτοποιούνται σχετικά εύκολα εν τούτοις υπάρχουν περιπτώσεις όπου τίθενται διαφοροδιαγνωστικά προβλήματα ειδικά όταν έχουν άτυπα χαρακτηριστικά ή επιθηλιοειδή μορφολογία.[1,7,8]

Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να διερευνηθεί η ανοσοϊστοχημική έκφραση διαφόρων επιθηλιακών δεικτών στους GISTs (διότι λίγες αναφορές για παρόμοιες μελέτες υπάρχουν στη διεθνή βιβλιογραφία) και να συσχετισθούν τα ευρήματα με διάφορες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

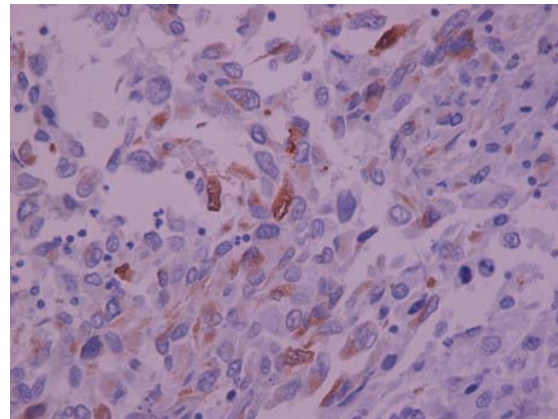
Το υλικό αποτέλεσαν 36 περιπτώσεις γαστρεντερικών στρωματικών όγκων. Πληροφορίες που αφορούσαν το φύλο, την ηλικία, το μέγεθος και την εντόπιση του όγκου, τη διηθητική ανάπτυξη, τη μιτωτική δραστηριότητα, το δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού κί67 και τη βιολογική του συμπεριφορά καταγράφηκαν από όλους τους ασθενείς.



Φωτογραφία 1: Στρωματικός όγκος CK7x200

Τα περιστατικά αφορούσαν 24 γυναίκες και 12 άνδρες ηλικίας από 52 έως 85 ετών. Τα 25 εντοπίζονταν στο στόμαχο, τα 9 στο λεπτό έντερο ενώ τα 2 ήταν εξωγαστρεντερικά. Από κάθε περίπτωση ελήφθησαν τομές πάχους 4μm από κύβους παραφίνης που περιέκλειαν ικανή ποσότητα νεοπλασματικής μάζας. Οι αντιοροί που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: α) CKAE1 της Diagnostic Biosystem σε φιαλίδιο του 0,5ml και αραιώση 1:50, β) CKAE3 της Diagnostic Biosystem σε φιαλίδιο του 0,5ml και αραιώση 1:50, γ) 34βΕ12 της DAKO σε φιαλίδιο του 1ml και αραιώση 1:50, δ) CK5/6 της DAKO σε φιαλίδιο του 1ml και αραιώση 1:40, ε) CK7 της Cell Marque σε φιαλίδιο του 1ml και σε αραιώση 1:100, στ) CK20 της Cell Marque σε φιαλίδιο του 1ml και σε αραιώση 1:100.

Για την εκτίμηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης αξιολογήθηκε η εκατοστιαία αναλογία των θετικών χρωσθέντων νεοπλασματικών κυττάρων κάθε περίπτωσης. Όλες οι περιπτώσεις ταξινομήθηκαν σε τέσσερις ομάδες ανάλογα με τον βαθμό έκφρασης (score) του κάθε δείκτη: 0:αρνητικό, 1:<10%, 2:10-50%, 3:>50%. Η έκφραση των δεικτών συσχετίστηκε στατιστικά με τις ακόλουθες παραμέτρους: φύλο, ηλικία, μέγεθος και εντόπιση του όγκου, διηθητική ανάπτυξη, μιτωτική δραστηριότητα, δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού κί67 και βιολογική συμπεριφορά. Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων μας χρησιμοποιήθηκε το test ανεξαρτησίας χ^2 .



Φωτογραφία 2: Στρωματικός όγκος CKAE3x400

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Δεν παρατηρήθηκε έκφραση των δεικτών CKAE1,34βΕ12,CK5/6, και CK20 σε καμία από τις 36 περιπτώσεις. Έκφραση της CK7 παρατηρήθηκε σε 2 (5,5%) περιπτώσεις και της CKAE3 σε 3 (8,3%) περιπτώσεις [Φώτο 1 και 2]. Το ποσοστό έκφρασης ήταν <10% σε όλες τις περιπτώσεις και η χρωστική αντίδραση ήταν ικανοποιητική.

Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της έκφρασης των κερατινών CK7 και CKAE3 ($p>0.05$) με όλες τις ανωτέρω παραμέτρους.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι όγκοι GIST παρουσιάζουν ιστολογικά ένα ευρύ μορφολογικό φάσμα και έτσι το πεδίο διαφορικής διάγνωσης είναι επίσης ευρύ. Σε αυτό συμπεριλαμβάνονται όγκοι εκ λείων μυϊκών ινών, όγκοι περιφερικών νεύρων, μονήρης ινώδης όγκος, συνοβιακό σάρκωμα, μεσοθηλίωμα, νευροενδοκρινικά νεοπλάσματα, μελανώματα, σαρκωματοειδή καρκινώματα και αγγειοσαρκώματα. Ανοσοϊστοχημική διερεύνηση απαιτείται για την διαφορική διάγνωση των ανωτέρω οντοτήτων [9-13]. Η έκφραση της c-kit πρωτεΐνης αποτελεί το πλέον ειδικό γνώρισμα των όγκων GISTs. Τα κύτταρα που εκφράζουν τη c-kit εντοπίζονται από το αντίσωμα CD117. Η χρώση παρατηρείται κυτταροπλασματικά και είναι συνήθως διάχυτη ή σπανιότερα στικτή. Πρέπει

όμως να τονισθεί ότι κάθε c-kit θετικός όγκος δεν σημαίνει ότι είναι και GIST διότι η c-kit πρωτεΐνη εκφράζεται και σε κύτταρα άλλων όγκων όπως μελάνωμα, σεμίνωμα, μαστοκύττωμα, αγγειοσάρκωμα κ.α., οπότε απαιτείται έλεγχος και άλλων δεικτών όπως CD34, βιμεντίνη, ακτίνη, δεσμίνη, S100p, dog1 και PDGFRA. Επίσης μικρό ποσοστό (5%) των όγκων GISTs δεν εκφράζουν την c-kit πρωτεΐνη. Αυτό παρατηρείται και στους όγκους GISTs μετά θεραπεία. Στις περιπτώσεις αυτές η ανοσοϊστοχημική έκφραση του PDGFRA που είναι ένα ογκογονίδιο-κινάση βοηθά στη διαφορική διάγνωση μεταξύ αρνητικών c-kit GISTs και άλλων μεσεγγυματικών όγκων που είναι αρνητικοί στον ανωτέρω δείκτη [14-16]. Σπάνια οι όγκοι GISTs φαίνεται ότι μπορεί να εκφράσουν και

κυττοκερατίνες αν και λίγες μελέτες υπάρχουν στη διεθνή βιβλιογραφία.

Όγκοι GISTs συνήθως με επιθηλιοειδή μορφολογία μπορεί να συνεκφράσουν CD117, CD34 και κερατίνες και να οδηγήσουν σε λανθασμένη διάγνωση καρκινώματος ή νευροενδοκρινικού όγκου [1,13,17]

Προσοχή λοιπόν απαιτείται στην ερμηνεία των θετικών στις κυττοκερατίνες όγκων του γαστρεντερικού συστήματος, ειδικά όταν και το βιοπτικό υλικό είναι περιορισμένο, προς αποφυγή διαγνωστικών λαθών έχοντας πάντα υπόψη ότι έκφραση οποιοδήποτε τύπου κερατίνης αν και σπάνια μπορεί να υπάρξει στους γαστρεντερικούς στρωματικούς όγκους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Enzinger and Weiss:Soft tissue tumors.Fifth edition,Mosby-Elsevier-Chapter 19 p.1203,2008
2. Steigen SE,Eide TJ:Trends in incidence and survival of mesenchymal neoplasm of the digestive tract within a defined population of northern Norway .APMIS 2006,11:192-200
3. Joensuu H.,Fletcher C.:Management of malignant gastrointestinal tumors.Lancet Oncol 2002,3:655-65
4. Miettinen M.,Sobin LH,Sarlomo-Rikala M.:Immunohistochemical spectrum of GISTs at different sites and their differential diagnosis with a reference to CD117 (KIT).Mod.Pathol 2000,13:1134-1142
5. Blay P.,Astudillo A.,Buesa JM et al:Protein kinase Ctheta is highly expressed in gastrointestinal stromal tumors but not in other mesenchymal neoplasias.Clin Cancer. Res 2004,10:4089-4095
6. Hornick JL,Fletcher CD.:The role of KIT in the management of patients with gastrointestinal stromal tumors.Hum Pathol 2007,38:679-687
7. Ferreira S.,Werutsky G.,Toneto MG,Alves JM et al:Synchronous gastrointestinal stromal tumors (GIST) and other primary cancers:Case series of a single institution experience.International Journal of Surgery,8(4):314-317,2010
8. Miettinen M.,Lacosta J.:Gastrointestinal stromal tumors:review on morphology,molecular pathology,prognosis and differential diagnosis.Arch.Pathol.Lab.Med. 2006,130:1466-78
9. Pauser U.,Schmedt out der Günne N.,Klöppel G.,Merz H.,Feller A.:p53 expresion is significantly correlated with high risk of malignancy and epitheliod differentiation in GISTs.An immunohistochemical study of 104 cases.BMC Cancer 2008,8:204
10. Özcan A.,Karslioglu Y.,Günel A.,Çermik H.,Kurt B.,Öngürü O.:Fascin expression and its potential significance in gastrointestinal stromal tumors.Turk.J Gastroenterol 2011,22(4):363-368
11. Tran T.,Davila J.,El-Serag HB:The epidemiology of malignant gastrointestinal stromal tumors:an analysis of 1458 cases from 1992 to 2000.Am J. Gastroenterol 2005,100:162-8
12. Özcan A.,Karslioglu Y.,Kurt B. et al:Quantitative evaluation of immunohistochemical staining in gastrointestinal stromal tumors.Anal Quant Cytol.Histol. 2007,29:159-65
13. Steiger SE,Bjerkenhagen B.,Haugland H.,Nordrum I.,Løberg EM,Isaksen V.,Eide TJ. Nielsen TO:Diagnostic and prognostic markers for gastrointestinal stromal tumors in Norway.Modern Pathology 2008,21:46-53
14. Tzen CY,Mau BL:Analysis of CD117-negative gastrointestinal stromal tumors.World J.Gastroenterol 2005,11:1052-5
15. Lasota J.,Miettinen M.:Clinical significance of oncogenic KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors.Histopathology 2008
16. Heinrich MC,Corless CL,Duensing A.,McGreevey L.,Chen CJ,Joseph N.,Singer S. et al:PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors.Science 2003,299:708-710
17. Lopes,Lisandro F.,Bacchi,Carlos E.:Cytokeratin Expression in Gastrointestinal Stromal tumor :A Clinicopathologic and immunohistochemical study of 687 cases.Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology 2012,20(1):8-12

ORIGINAL ARTICLE

Immunohistochemical Expression of epithelial markers in gastrointestinal stromal tumors (GIST).A serious diagnostic pitfall.

A.Tsavari , K.Koulia , D.Myoteri , E.Arkoumani , E.Moustou , E.Skafida , K.Manoloudaki, D.Zisis , Th.Vasilakaki.

Department of Pathology and Gastroenterology, Tzaneion General Hospital, Piraeus, Greece.

(Scientific Chronicles 2012;17(3): 158-161)

ABSTRACT

Background: Gastrointestinal stromal tumor (GIST) is the most common mesenchymal neoplasm of the gastrointestinal tract. The expression of the epithelial markers in gastrointestinal stromal tumor is not frequently reported in the literature. The aim of this study was to investigate the immunohistochemical expression of several types of cytokeratins in GISTs and to correlate these findings with various parameters.

Methods: Immunohistochemical staining for CKAE1, CKAE3, 34βE12, CK5/6, CK7 and CK20 was carried out on paraffin embedded tissue sections of 4μm thick from specimen of 36 patients. Data about sex, age, tumor location and size, mitotic count, depth of invasion, ki67 antigen, cell proliferation index and risk of aggressive behavior were obtained from all patients. Cases were classified in four group corresponding to the percentage of positive cells in each marker (score): 0:negative, 1:<10%, 2:10-50%, 3:>50%.

Results: All 36 cases revealed no expression of cytokeratins 5/6, 20, 34βE12 and CKAE1. The expression of CK7 was observed in 2 (5,5%) cases and 3 (8,3%) cases showed CKAE3 expression. The expression of the latest cytokeratins was less than 10% in all cases.

No significant statistical association was found between CKAE3 and CK7 immunoreactivity and several clinicopathologic parameters, including sex, age, tumor location and size, mitotic count, depth of invasion, ki67 antigen and risk of aggressive behavior.

Conclusion: Although rare GISTs may express CK immunomarkers, but caution is necessary to avoid an erroneous diagnosis of a carcinoma or a neuroendocrine tumor.

Keywords: epithelial markers, gastrointestinal stromal tumors
