



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

**“TUMORES ESTROMALES GASTROINTESTINALES:
PARÁMETROS MORFOLÓGICOS E HISTOGENÉTICOS
DE VALOR PRONÓSTICO”**

**Trabajo de Tesis para optar al Título de
Doctor en Medicina y Cirugía**

Ismael Bernardo Fonseca

Córdoba, Argentina, Año 2009

Comisión de Seguimiento de Tesis

Director:

Prof. Dr. Luis Santos Spitale

Integrantes:

Prof. Dr. Adolfo F. Gavelli

Prof. Dr. Luis Gramática

Artículo N° 30 del Reglamento de la Carrera
de Doctorado en Medicina y Cirugía:

**“LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS NO SE HACE SOLIDARIA
CON LAS OPINIONES DE ESTA TESIS”**

Cuando el hombre ha entrado en el último cuarto de la vida y siente ese molesto rechinar de piezas desgastadas por el uso y aún por el abuso; cuando los sentidos pierden aquella admirable precisión y congruencia que tuvieron en la edad juvenil, convirtiéndose en averiados instrumentos de física...gusta saborear el recuerdo de los tiempos plácidos y luminosos de la juventud; de aquella dichosa edad en que la máquina, pulida y rozagante como recién salida de la fábrica, podía funcionar a todo vapor, derrochando entusiasmo y energías, al parecer inagotables. ¡Época feliz en que la naturaleza se nos ofrecía cual brillante espectáculo cuajado de bellezas, en que la ciencia se nos aparecía como espléndida antorcha capaz de disipar todos los enigmas del Cosmos, y la filosofía como el verbo infalible de la tradición y la experiencia, destinado a mostrarnos, para consuelo y tranquilidad de la existencia, los gloriosos títulos de nuestra prosapia y la grandeza de nuestro destino.-

“ RECUERDOS DE MI VIDA”.

SANTIAGO RAMÓN Y CAJAL, Madrid Junio de 1917.

Agradecimientos:

Al Prof. Dr. Luis S. Spitale, mi Director de Tesis, por el apoyo y constante estímulo a la progresión de esta tarea.

A los miembros de la Comisión de Tesis Prof. Dr. Luis Gramática y Prof. Dr. Hugo Cejas, por su asesoramiento y colaboración

A la Dras. Graciela Ghirardi, Inés Strelzick y Mabel Dimarco por la colaboración brindada a través de los casos aportados

A la Dra. Mónica Moya por el asesoramiento en el tratamiento estadístico de los resultados

Al Prof. Dr. Daniel J. Piccinni por su colaboración y aporte iconográfico en esta Tesis.

A las técnicas de Laboratorio Sra. Alba Borchert y Elsa Oyola por su asistencia profesional.

A mis compañeros de la II Cátedra de Patología que colaboraron de alguna forma en esta labor.

ÍNDICE

1. CAPÍTULO I – INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. EVOLUCIÓN CONCEPTUAL.....	6
1.2. CÉLULAS INTERSTICIALES DE CAJAL.....	11
1.2.1. CIC EN INTESTINO FETAL	15
1.2.2. CIC: TOPOGRAFÍA.....	22
1.3. GEN c.Kit.....	23
1.3.1. c.Kit: MUTACIONES.....	25
1.4. CLASIFICACIÓN DE TUMORES ESTROMALES GASTRICOS.....	26
1.5. OBJETIVOS.....	29
1.5.1. GENERAL.....	29
1.5.2. ESPECÍFICOS.....	29
2. CAPÍTULO II – MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
2.1. MATERIALES.....	31
2.1.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN.....	31
2.2. MÉTODOS.....	32
2.2.1. TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS.....	38
2.2.2. PERFIL INMUNOHISTOQUÍMICO DE LOS GISTs.....	41
2.2.3. INFRAESTRUCTURA.....	47
2.2.3. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.....	48
2.2.4 . TABLA CARACTERISTICAS CLINICAS.....	49
2.2.5. TABLA CARACTERISTICAS ANATOMOPATOLOGICAS.....	50
2.2.6. FICHA PARA REGISTRO DE LOS GISTs.....	51
3. CAPÍTULO III- RESULTADOS.....	52
3.1. DISTRIBUCIÓN ETARIA.....	53
3.1.1. CLÍNICA Y PATOLOGÍA EN GRUPO 30 A 39 AÑOS.....	54
3.1.2. CLÍNICA Y PATOLOGÍA EN GRUPO 40 A 49 AÑOS.....	57
3.1.3. CLÍNICA Y PATOLOGÍA EN GRUPO 50 A 59 AÑOS.....	60
3.1.4. CLÍNICA Y PATOLOGÍA EN GRUPO 60 A 69 AÑOS.....	63
3.1.5. CLÍNICA Y PATOLOGÍA EN GRUPO DE 70 O.....	65
3.2. PERFIL INMUNOHISTOQUÍMICO DE GISTs ESTUDIADOS.....	68
4. CAPÍTULO IV – DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	72

4.1. DISCUSIÓN.....	73
4.2. CONCLUSIONES.....	102
5. CAPÍTULO V – BIBLIOGRAFÍA.....	105

ANEXOS.....	139
ABREVIATURAS.....	140
GLOSARIO.....	143
CERTIFICACIONES.....	148
PUBLICACIONES.....	151
PRESENTACIONES.....	161

RESUMEN

Introducción: Los tumores estromales gastrointestinales (**GISTs**) constituyen la categoría más amplia de neoplasias no epiteliales primarias del tracto gastrointestinal. Son más frecuentes en estómago y en intestino delgado, pero también pueden comprometer esófago, colon, recto y ano. Han sido encontrados, además, en mesenterio, retroperitoneo, omento y tejidos blandos (EGIST- Tumor estromal extragastrointestinal).

Martin los reconoció como entidad clínico – patológica y Stout los denominó *leiomioblastomas*.

Mazur y Clark acuñaron el término **tumor estromal gastrointestinal** y sugirieron que podían originarse del sistema nervioso mioentérico.

Hubo, además, algunos casos con evidencias de diferenciación neural, y fue introducido el término "tumor autonómico gastrointestinal" (GANT). Kindblom y col., sugirieron que estas neoplasias presentan un inmunofenotipo similar a **células intersticiales de Cajal** (células marcapasos del tracto gastrointestinal).

Objetivos:

- Correlacionar tamaño tumoral, patrón microscopico e inmunofenotipo con el comportamiento biológico.
- Determinar formas macro y microscopicas y analizar la forma de presentación clínica.
- Relacionar topografía, tamaño y grado con la agresividad tumoral.
- Confirmar el valor del protooncogen (CD-117) como marcador de CIC y de GISTs.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 30 casos de GISTs en un análisis prospectivo y retrospectivo, en el período comprendido entre los años 1987 y 2007. Para el material retrospectivo se estudiaron bloques de tejidos en parafina.

El material pertinente para estudio se fijó en formol al 10%, luego se incluyó en parafina, realizando las tinciones habituales con H-E, técnicas histoquímicas (P.A.S, tricrómico de Masson) y, entre otros, el siguiente panel inmunohistoquímico: Vimentina, CD-34 y CD-117.

Resultados: Con el fin de estudiar características anatomopatológicas y clínicas de los GISTs, se observó su comportamiento teniendo en cuenta diferentes variables, las cuales se presentaron en forma secuencial y en módulos.

La edad mas frecuente de presentación se ubicó, al igual que en la literatura consultada, entre los 50 a 69 años. Con respecto al género, se observó, una diferencia estadísticamente significativa del sexo femenino (73,73 %) con respecto al sexo masculino (27,27 %) ($p < 0.001$). Histológicamente el 20 % de los casos reveló una proliferación fusocelular, 20 % de tipo epitelioides y el 60 % restante mixto. El órgano mas frecuentemente comprometido, en los grupos de mayor incidencia etaria fue, el estómago (54,54 %). De los otros tumores resecados, el 18,18 % se localizaron en yeyuno, el 9,09 en ileon y el 9,09 en retroperitoneo. Estos resultados demuestran una diferencia estadísticamente significativa a predominio de estómago comparados con la localización intestinal ($p < 0,001$), estos resultados observados en relación a la ubicación en la pared del tubo digestivo coinciden con otros estudios similares publicados. Con respecto a las técnicas inmunohistoquímicas implementadas la vimentina fue positiva en el 100 % de los casos, mientras que CD-34 y CD-117 fueron positivos en aproximadamente el 90 %.

Discusión: Los parámetros morfológicos de malignidad en los GISTs, incluyen, entre otros, tamaño tumoral (mayor de 5 cm.), necrosis, hemorragia, hiperplasia, atipia nuclear y actividad mitótica. Teniendo en cuenta los criterios de Amin, basados en tamaño tumoral e índice mitótico, 10 (33,33%) fueron considerados como benignos, 18 (60%) de tipo borderline y 2 (6,66 %) reunían criterios morfológicos indicativos de malignidad.

Conclusiones: Se determinó que las variables topografía, grado y tamaño tumoral están directamente relacionadas con la conducta biológica.

De los 30 casos analizados 46,7 % se localizó en estómago, 33,3 % en intestino delgado y 20 % en retroperitoneo y en relación al grado, 25 fueron de bajo grado y 5 de alto grado.

La forma macroscópica más frecuente fue el tumor gástrico, submucoso, exofítico y ulcerado y la microscópica el patrón mixto (fusocelular y epitelioides). Inmunohistoquímicamente el CD 34 y el CD 117 fueron positivos en un 95 % de los casos.

La tendencia de estos tumores a seguir un curso clínico indolente con riesgo de recidiva tardía, hace recomendable el seguimiento del paciente regularmente y por un período indefinido.

Palabras claves: tumor estromal gastrointestinal – leiomioblastoma - Inmunohistoquímica - células intersticiales de Cajal – fibras eskenoides - c-Kit –CD 34 – rol del patólogo.

SUMMARY

Introduction: Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) constitute the largest category of primary nonepithelial neoplasms of the stomach and small bowel. They represent about 1-2% from all neoplasm of the digestive tract. They occur most commonly in the stomach and small bowel, but small series of comparable tumors have also been reported in all the other parts of the tubular gastrointestinal tract, including esophagus, colon, rectum and anus. They can also involve omentum, mesentery, retroperitoneum and soft tissues (EGIST).

Originally recognized in 1960 by Martin et. al. as a distinctive type of stromal neoplasm of the bowel, they were subsequently reported by Stout, who introduced the term leiomyoblastoma. In 1983, Mazur and Clark coined the term gastrointestinal stromal tumor. Some studies have reported evidence of neuronal cell differentiation in a proportion of GISTs and the term “gastrointestinal autonomic nerve tumor (GANT) has been introduced. Kindblom et al are providing cogent arguments to suggest that GISTs show differentiation toward interstitial Cajal cells (ICC).

Materials and Methods: We studied 30 cases of gastrointestinal stromal tumors in a retrospective and prospective analysis, in the period between 1987 and 2007. For retrospective material was studied in paraffin tissue blocks.

Relevant material for study was fixed in 10% formalin and then included in paraffin, performing routine staining with HE and histochemical techniques (PAS, Masson's trichrome). Was conducted, among other markers, the following immunohistochemical panel: vimentin, CD-34 and CD-117.

Results: To study the histopathological characteristics in relation to clinical symptoms of GISTs, their behavior was observed taking into account different variables, which were presented in sequence and in modules according to different parameters selected for design studied.

The most common age of presentation was located, as in the literature, between 50 to 69 years. With regard to gender, was observed in these groups, a statistically significant difference between female (73.73%) compared to males (27.27%) ($p < 0.001$). Histologically 20% of cases showed a proliferation fusocellular, 20% were of epithelioid type and the remaining 60% mixed.

The organ most frequently involved, in the age groups with the highest incidence was the stomach (54.54%). Of the other tumors resected, the 18.18% were located in the jejunum, ileum and 9.09 in 9.09 in the retroperitoneum. These results show a statistically significant difference in prevalence compared with the stomach intestinal ($p < 0001$), these findings in relation to the location on the wall of the gastrointestinal tract consistent with similar studies published.

With respect to immunohistochemical techniques implemented vimentin was positive in 100% of the cases, whereas CD-34 CD-117 and were positive in approximately 90%.

Discussion : The morphological parameters of malignancy in GISTs, including, among others, tumor size (larger than 5 cm.), necrosis, hemorrhage, hypercellularity, nuclear atypia and mitotic activity. Taking into account the criteria of Amin, based on tumor size and mitotic index, 10 (33.33%) were considered as benign, 18 (60%) and borderline type 2 (6.66%) met morphological criteria indicative of malignancy.

Conclusions: We found that the variable topography, grade and tumor size are directly related biological behavior. Of the 30 cases analyzed, 46.7% were found in stomach, small intestine in 33.3% and 20% in the retroperitoneum and in relation to grade, 25 were low grade and 5 high grade.

The most frequent form was the macroscopic tumor gastric submucosal, exophytic and ulcerated and the microscopic pattern mixed (epithelioid and fusocellular). Immunohistochemistry CD 34 and CD 117 were positive in 95% of cases.

The tendency of these tumors to be an indolent clinical course with the risk of late relapse, we recommend monitoring the patient regularly and for an indefinite period.

Key words: gastrointestinal stromal tumors – leiomyoblastoma – Immunohistochemistry – Interstitial cell of Cajal - skenoids fibers - c-Kit –CD 34 - role of the pathologist.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

Los tumores estromales gastrointestinales (GastroIntestinal Stromal Tumors-GISTs) constituyen la categoría más amplia de neoplasias no epiteliales primarias del tracto gastrointestinal (172, 231). Representan aproximadamente el 1-2% de todas las neoplasias del tubo digestivo y el 5% de todos los sarcomas de tejidos blandos (117, 177). Se originan de células localizadas en la pared gastrointestinal y muestran una gran variación en su nivel de diferenciación, lo cual ha traído aparejado confusión, que se ha exacerbado en publicaciones recientes (23, 35, 44, 88, 111).

Se considera que la incidencia es de 10-20 casos/millón de personas (99), de los que del 20-30 % de los casos son malignos (116, 176). En relación a la edad de presentación, son más frecuentes en mayores de 40 años, con una media de 55-65 años. Son raros en menores de 40 años y excepcionales en los niños. Su incidencia es igual en ambos sexos (138).

Los GISTs presentan características histológicas, inmunofenotípicas, genéticas y moleculares que los ubican aparte de los típicos tumores de músculo liso y de los schwannomas; sin embargo, por tradición, han sido clasificados como tumores de músculo liso gastrointestinales, o tumores del estroma / músculo liso (135).

Los GISTs, también denominados tumores mesenquimales gastrointestinales, (Gastro-Intestinal Mesenchymal Tumors-GIMT) (199), ocurren más frecuentemente en el estómago (60-70%), seguidos del intestino delgado (30%), pero también pueden estar presentes en otros sitios del tracto gastrointestinal tubular, incluyendo el esófago, colon, recto (3^{er} sitio más común de localización) (130) y el ano (233). En el recto representan aproximadamente el 5% de todos los GISTs (130).

Desde las primeras descripciones de Golden y Stout (64) este grupo de lesiones mesenquimales se consideraron de origen muscular y recibieron nombres como leiomioma, leiomioma celular, leiomioma epitelioides, leiomioblastoma, leiomioma bizarro y leiomiosarcoma.

En relación a los tumores estromales de la pared gástrica, inicialmente se pensaba que se originaban del músculo liso, dado que a menudo se presentaban en una

localización intramural y en íntima asociación con el músculo liso normal presentando histológicamente un componente prominente de células fusadas (54).

A pesar de estas presunciones, estas neoplasias mostraban características al microscopio óptico (M.O.) y microscopio electrónico (M.E) que no eran comúnmente observadas en los leiomiomas y leiomiosarcomas originados en otros sitios (127).

Debido a dichas diferencias morfológicas, algunos autores sugirieron que los tumores estromales gástricos podrían originarse de otras células mesenquimáticas (139).

Aunque generalmente era posible separar a estos tumores en categorías benignas y malignas (6, 170, 199), los investigadores encontraron que los mismos tendían a tener un comportamiento biológico menos predecible en base, por ejemplo, a la actividad mitótica, que los tumores uterinos de músculo liso (4, 5, 170)

Esta circunstancia clínica sugirió que los tumores estromales representaban un grupo único y distintivo de neoplasias que debían ser separadas de leiomiomas y leiomiosarcomas (52).

Las células epitelioides y la apariencia de los núcleos, observadas en estos tumores, son características compartidas con las neoplasias de tipo neural. Appelman y Helwig (5) en un estudio de leiomiomas gástricos celulares, comentaron la posibilidad que estos tumores podían tener un origen neural, y citaron un ejemplo de leiomioma de células fusadas, que estaba íntimamente asociado con un nervio periférico.

Las investigaciones realizadas por Mazur y Clark (125) en una revisión de 28 tumores de la pared gástrica, clasificados al M.O como leiomiomas y leiomiosarcomas permitieron, además, establecer que si bien la célula muscular lisa no parecía ser la

célula progenitora de estos tumores, los verdaderos precursores mesenquimáticos eran difíciles de definir. Así nueve neoplasias pertenecientes a esta serie fueron ultraestructuralmente indiferenciadas, 2 tenían características de músculo liso y una tenía apariencia de schwannoma. Además, la presencia de proteína S-100 (una proteína ácida soluble que constituye un marcador de elección para células de origen neuroectodérmico), sugirió un origen en vaina nerviosa en algunos casos (26, 41, 145, 204, 206).

Welsh y Meyer (237) sugirieron una posible relación con las células de Schwann mientras que Mackay y colab. (119) encontraron características ultraestructurales de músculo liso en menos de un tercio de 50 GISTs estudiados, mientras que 4 tenían una apariencia neural. Las células epitelioides en 16 de estos tumores no mostraron evidencias de diferenciación muscular lisa.

Los GISTs fueron originariamente reconocidos en 1960 por Martin y col. (122) como una entidad clínico-patológica y un tipo distintivo de neoplasia estromal gástrica. Dos años más tarde Arthur Purdy Stout (207), acuñó el término *leiomioblastoma*, interpretando al mismo como una variante peculiar o bizarra de tumor del músculo liso. Aparentemente, en un intento de designar a estos tumores en una forma no comprometida o evasiva, Stout (207) evitó otorgarles una connotación totalmente benigna o maligna y propuso tal designación.

Martín (122) y Stout (207) sospecharon , entonces, que estos tumores eran de origen miogénico. Posteriormente, en la clasificación de tumores de partes blandas, propuesta por la OMS, se los incluyó bajo la denominación de leiomiomas epitelioides (43).

Si bien el sitio primario de la mayoría de los casos reportados en la literatura, hasta ese entonces, era el estómago, posteriormente estos tumores fueron encontrados

en sitios tales como intestino delgado, retroperitoneo, útero, omento, mesocolon y tejidos blandos (103).

Salazar y Totten (188) describieron los cambios ultraestructurales de 3 *leiomioblastomas* gástricos y demostraron que la vacuolización que suele observarse en este tipo de tumores es, probablemente, un artefacto debido a la fijación del espécimen con el formol, ya que esta desaparece en los cortes por congelación o cuando el tumor es fijado en glutaraldehído bufferado.

Morson y Dawson (146), establecieron que los tumores del músculo liso constituían aproximadamente el 20% de todos los tumores benignos del intestino delgado, siendo difícil precisar su frecuencia, debido a que la mayoría de ellos son asintomáticos y pueden ser encontrados incidentalmente en especímenes quirúrgicos o en necropsias; asimismo, enfatizaron la dificultad en separar los tumores benignos de los malignos, en base a su patrón histológico, dado que tumores con fenotipo benigno pueden producir eventualmente metástasis, mientras que tumores histológicamente indiferenciados, pueden permanecer localizados y no metastatizar.

Por esa razón, prefirieron el término "tumor leiomiomatoso" o "tumor de músculo liso", sobre el de leiomioma o leiomiosarcoma. Así las cosas, establecieron como criterios útiles para efectuar la distinción entre tumores benignos y malignos, a los siguientes parámetros:

- ✓ Tamaño tumoral
- ✓ Número de figuras mitóticas
- ✓ Infiltración de los tejidos circundantes

Durante años, los tumores estromales gastrointestinales estuvieron básicamente considerados como de origen exclusivamente muscular y designados como leiomiomas y leiomiosarcomas, cuando estaban compuestos de células fusadas y como

leiomioblastomas benignos o malignos (o leiomiomas epitelioides y leiomiosarcomas respectivamente), cuando estaban compuestos de células epitelioides (176).

Reconociendo las dificultades planteadas en predecir con seguridad el comportamiento biológico de estas neoplasias, el término "tumor de músculo liso de potencial maligno incierto" (Smooth Muscle Tumor of Uncertain Malignant Potential - SMT-UMP) fue introducido para los tumores borderline que exhiben características sospechosas de malignidad (4, 70).

Como lo señalaron Starr and Dockerty (202) en el año 1955 “La predicción del comportamiento de una lesión miomatosa basado en sus características morfológicas es reconocidamente dificultosa, pero no existe justificación para no intentar hacerlo” (sic).

En la década del 80 y a principios de los 90 (Figura 1), los estudios inmunohistoquímicos y ultraestructurales, revelaron que la histogénesis y las líneas de diferenciación de estos tumores es más compleja que las reconocidas previamente (23).

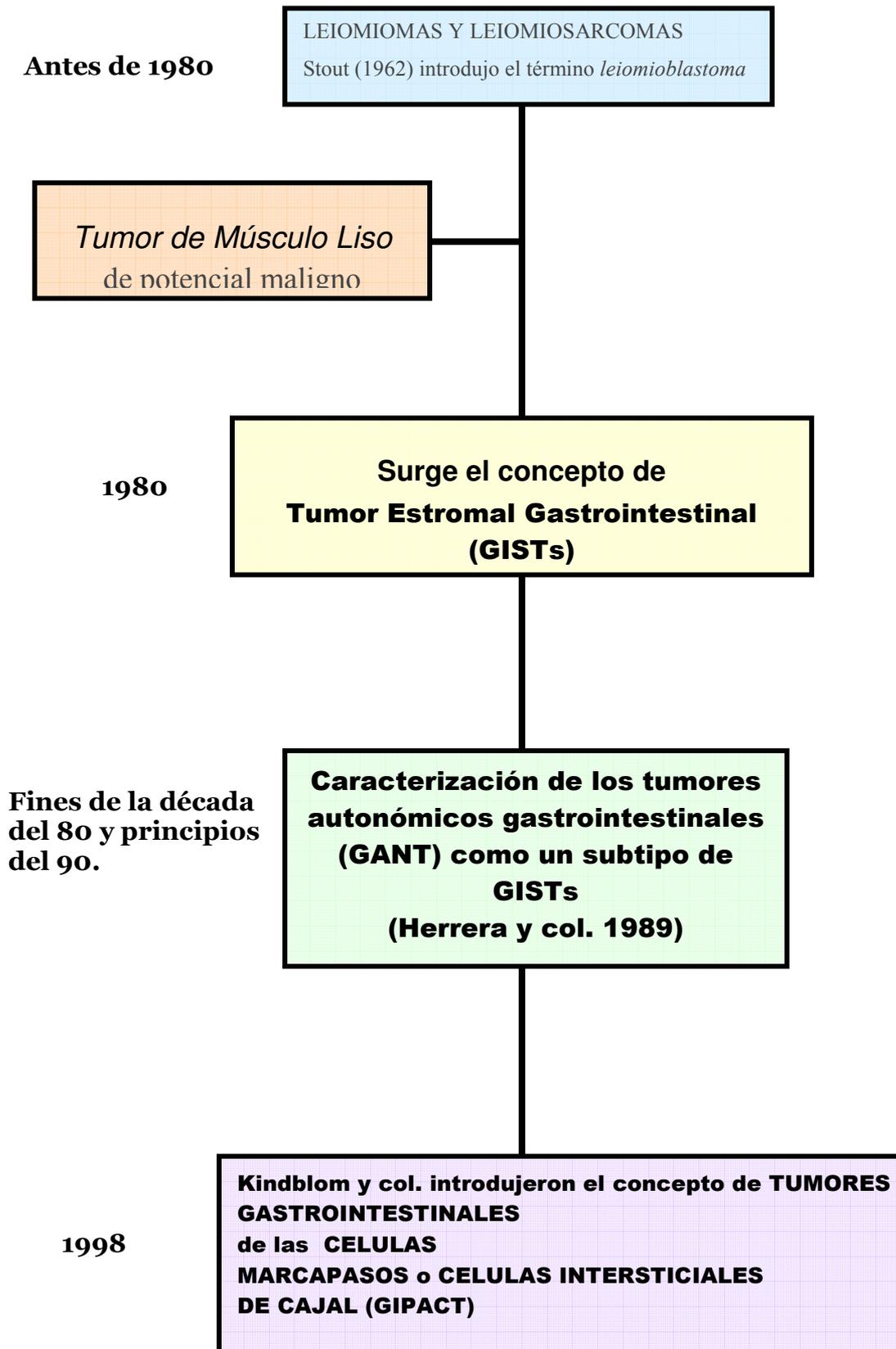


Figura 1: Evolución del concepto de tumores del estroma gastrointestinal (23).

CARACTERISTICAS PRINCIPALES DE LOS TUMORES MESENQUIMATICOS GASTROINTESTINALES (23)

- No puede evaluarse con seguridad el comportamiento por su aspecto morfológico
- Se tienen en cuenta localización en el tracto GI, invasión y otros parámetros histológicos
- Amplio espectro morfológico:
ej. células fusadas, epitelioides (leiomioblastoma), cambios mixoides, etc.
- Inmunofenotipo: c-Kit + y vimentina +
- CD-34 a menudo +, actina variable, desmina -, S-100 -, Enolasa neuronal específica variable.
- Características ultraestructurales variables en la mayoría de las células, pero algunas pueden mostrar características de CIC o diferenciación incompleta hacia músculo liso.

Asimismo, otras entidades muestran el siguiente inmunofenotipo:

- Schwannoma, neurofibroma y tumores malignos del sistema nervioso periférico exhiben inmunoreactividad difusa intensa para S-100. El c-Kit negativo y CD-34 variable.

En cuanto a los tumores de músculo liso:

Leiomioma y leiomiosarcoma:

- poco frecuentes, excepto en esófago y recto
- los tumores pequeños se originan de la muscularis mucosae-
- inmunoreactividad para actina y desmina
- c-Kit y CD-34 negativos.

Otros tumores mesenquimáticos específicos. Ej. tumor de células granulosas, tumor glómico, angiosarcoma

Es así que en el año 1983, Mazur y Clark (125) acuñaron el término **tumor estromal gastrointestinal (GastroIntestinal Stromal Tumors - GISTs)** y sugirieron que estas lesiones podían originarse del sistema nervioso mioentérico.

El término tumor estromal gastrointestinal ha ganado amplia aceptación en la literatura, enfatizando su origen enigmático, dado que la mayoría de estas lesiones no muestra una diferenciación muscular o neuronal convincente (4, 124, 128), revelando un perfil inmunofenotípico variable (2, 207). Es así que en la actualidad, la designación de GISTs excluiría a los leiomiomas y leiomiosarcomas clásicos, como así también a schwannomas y neurofibromas.

Kindblom y col. (88) sostienen que el vocablo GISTs representa un término reservado, evasivo y no comprometido, mientras que otros autores (117, 192, 214, 225) creen que una significativa proporción de estas neoplasias representan tumores de músculo liso.

A fines de la década del 80, algunos estudios han reportado evidencias de una diferenciación neural en algunos casos de GISTs, siendo introducido el término "tumor autonómico gastrointestinal" (Gastrointestinal Autonomic Nerve Tumours – GANT-), los cuales fueron previamente reconocidos por Herrera y col. (72) como "plexosarcomas" (82, 197). Walker y Dvorak (232) introdujeron el término "tumor del sistema nervioso autónomo gastrointestinal" (GANT) debido a determinados hallazgos al examen con microscopía electrónica, tales como, diferenciación axonal y presencia de gránulos electrodensos.

De tal forma, se denominan GANT a aquellas neoplasias gastrointestinales que ultraestructuralmente demuestran características de sistema nervioso autónomo, recapitulando la morfología de los plexos neurales entéricos (75, 82, 162, 232).

Erlanson y col. (44) realizaron un análisis ultraestructural de 56 casos de tumores mesenquimáticos gastrointestinales y determinaron que el 38 % de ellos exhibían características de GANT.

Diferentes marcadores neurales han sido, evaluados en los GISTs, tales como S-100, (26, 54, 103, 113, 168, 191, 207, 214, 216, 222, 226) enolasa neuronal específica (SNE) (152) y PGP 9,5 (Producto Proteico del gen 9,5) (215). Este último es un anticuerpo dirigido contra una proteína soluble de función desconocida originalmente

aislada del cerebro, y que constituye un excelente marcador de células nerviosas en el tracto gastrointestinal. Sin embargo, su especificidad como marcador neural en este tipo de tumores es cuestionable (87).

Posteriormente, se demostró que tales tumores se originan en el estómago y en el colon proximal pero el intestino delgado permanece como el sitio más común para esta forma agresiva de GIST (22, 100, 156).

Los GANTs son tumores relativamente grandes y pueden ser intramurales o predominantemente subserosos o pueden originarse del tejido mesentérico del intestino. Ellos presentan una superficie de corte uniforme, a menudo de color rosado o canela y aspecto quístico con áreas de hemorragia. Histológicamente están compuestos de nidos y sábanas de células fusadas o epitelioides frecuentemente dispuestas en un patrón fasciculado (102, 199).

Los GANTs se hallan bien vascularizados y también tienen linfocitos dispersos, a veces en pequeños agregados, a través de todo el tumor. El análisis con microscopía electrónica exhibe la presencia de estructuras dendríticas conteniendo gránulos de núcleo denso y vesículas endocitoplasmáticas (102, 124, 156).

Los hallazgos inmunohistoquímicos muestran evidencias de diferenciación neural. Ellos son frecuentemente positivos para vimentina y CD117 (c-Kit) (como la mayoría de los GISTs) pero también evidencian positividad para cromogranina, S-100, enolasa neurona-específica, sinaptofisina y PGP 9,5 (219).

CD 34 muestra tinción variable, mientras que la mayoría de los GISTs son positivas para este marcador, la negatividad para CD34 en los GANTs es una característica que parece prevalecer en los tumores más agresivos (202). Los GANTs son negativos para actina de músculo liso, desmina y citoqueratinas (102).

Los estudios, en relación a estos tumores, soportan la hipótesis que los mismos representan el extremo maligno en el espectro de todos los GISTs, debido a que, en general, presentan una elevada tasa mitótica, gran tamaño y propensión hacia la diseminación peritoneal y metastática (23, 99, 218).

La mayoría de los tumores, en ambos grupos, expresan además tinción positiva para CD 117, mientras que algunos GANTs exhiben, además, fibras eskenoides, un hallazgo característico de los GISTs, especialmente en el intestino delgado (154, 218).

Varios trabajos han indicado que establecer la distinción entre las variantes de GISTs, basado en su estirpe celular o línea de diferenciación, puede ser de relevancia clínica en relación al pronóstico. Así por ejemplo, el schwannoma benigno y el leiomioma bien diferenciado, están generalmente asociados con un curso clínico favorable e indolente (235); mientras que los GISTs del sistema nervioso autónomo, están casi uniformemente relacionados con un comportamiento clínico agresivo (163).

En 1998, Kindblom y col. (88), establecieron un nuevo candidato en la línea de diferenciación de los GISTs y aportaron argumentos que sugieren que estas neoplasias muestran una diferenciación inmunofenotípica hacia células intersticiales de Cajal (células marcapasos del tracto gastrointestinal).

Cabe destacar que un alto porcentaje de estos tumores revelan inmunoreactividad para CD-34, una glicoproteína transmembrana de 110 kDa de peso descripta, inicialmente, en células progenitoras hematopoyéticas, células endoteliales y posteriormente encontrada en una gran variedad de tejidos y neoplasias con una función extracelular en la adhesión celular y otra función intracelular como activadora de la transducción (139, 142, 231).

Miettinen y col. (139) demostraron que debido a la expresión de CD34 en muchos tipos celulares, "la presencia de este marcador en los GISTs no define su origen, favoreciendo tanto una diferenciación a partir tanto de célula muscular lisa como de célula de Schwann, lo cual sugiere que su naturaleza es primitiva, a partir de células mesenquimales no reconocidas y posiblemente relacionadas con fibroblastos estromales"

La mayoría de los GISTs son usualmente positivos para CD-34 y casi uniformemente negativos para desmina (Des) y actina de músculo liso (SMA) (139, 142, 229).

Esta positividad en los GISTs oscila entre el 46% y el 100% dependiendo del sitio de origen del tumor (139, 142). La menor positividad de CD-34 es observada en los GISTs de intestino delgado (139). Mientras que el descubrimiento de la tinción con CD34 en los tumores estromales ayudó, en parte, a definir el posible origen de estas lesiones, el hecho de que un gran número de GISTs fueran CD-34 negativos resultó problemático.

Los GISTs no originados de células nerviosas, células de Schwann, o de células musculares, podrían originarse de las designadas **células intersticiales de Cajal** (CIC) (201). Estas células fueron así denominadas en honor del neuroanatomista español Santiago Ramón y Cajal (Figura 2), quien las describió en el año 1893 (16) y cuya denominación permanece vigente (67).



Figura 2: Santiago Ramón y Cajal.

Cajal sostuvo (16) “nuestra exploración acerca del gran simpático intestinal tuvo menos importancia que otras investigaciones sobre el sistema servioso. Encierra, sin embargo, bastantes hechos nuevos, entre los cuales citaremos:

a) El hallazgo, en los ganglios de Meissner y Auerbach, de ciertas células estrelladas de largas expansiones, las cuales ingresan en los haces del plexo de igual nombre (confirmado por Dogiel, Lavilla y Kölliker).

b) Descubrimiento de una variedad especial de células estrelladas pequeñas, yacentes en las mallas de dichos plexos y entre las capas de fibras musculares (confirmado por Dogiel, Lavilla y Kölliker) y caracterizadas por su carencia de cilindro-eje. Estos elementos fueron también demostrados en la rana por el método de Erlich.

(Cajal: Nota sobre el plexo de Auerbach en la rana. Barcelona, febrero de 1892)

c) La presencia de colaterales nacidas en las fibras de paso de los ganglios y terminadas por arborizaciones libres en torno de las células de éstos (confirmado por Dogiel).

d) La existencia de corpúsculos nerviosos especiales entre las glándulas y en el espesor de las vellosidades.

e) Análisis de las terminaciones nerviosas en las fibras lisas.

f) Impregnación de las glándulas intestinales y de las fibrillas nerviosas de las vellosidades, etc, etc.” (sic)

Con el término célula intersticial, “*célula (nerviosa) intersticial*” (16) también “*neurona intersticial simpática*”, (17) designó a una célula tipo, que se creía una célula nerviosa primitiva, caracterizada por dos, tres, o aún más, ramificaciones delgadas y largas que semejan procesos anastomosados (215).

Las células intersticiales fueron reconocidas en la época de Cajal, en las siguientes localizaciones:

En los espacios intersticiales entre los acinos de las glándulas salivales y el páncreas (18, 60, 149).

En las capas mucosa y submucosa del intestino (14, 37, 149) y en un “plexo muscular profundo “, situado de acuerdo con Cajal (16), en la superficie interna de la capa muscular circular del intestino. Además un plexo intestinal de CIC está localizado a nivel del plexo de Auerbach demostrado por Cajal (15). Sin embargo el mismo plexo fue ilustrado por Gerlach (60) y Klein (91) y estudiado e ilustrado por Lawdowsky MD en 1889 y citado por Nemiloff en 1902 (151) junto con las CIC subserosas.

Las CIC de las capas mucosa y submucosa gastrointestinales, tal como las describió Cajal (16, 17) son probablemente las mismas células ramificadas discutidas por Von Kolliker en 1849 (230).

La forma de las CIC era sugestiva de células nerviosas (70) y también fueron descritas por varios investigadores anteriormente, en las paredes de los vasos sanguíneos (206).

Aunque, como se detalló anteriormente, las "células intersticiales de Cajal", en el sentido literal del término, incluyen células de variadas localizaciones (intestino:

mucosa, submucosa, y capas musculares externas; páncreas: localizaciones periglandular y perivascular) y, aunque, los investigadores han demostrado que estas células se hallan dentro de tejidos y órganos autónómicamente inervados, han sido especialmente estudiadas en la capa muscular externa del intestino (216).

Las CIC constituyen, entonces, un grupo ampliamente distribuido a lo largo del tubo digestivo, que se extienden desde el esófago inferior hasta el ano (217).

Sin embargo, recientemente, se comunicó el primer caso de un tumor estromal de la vesícula biliar con fenotipo de células intersticiales de Cajal, evidenciando de este modo que estas células estarían normalmente presentes, también, en la pared de la vesícula (160).

En 1982, Thuneberg (217) formuló, por 1ª vez, la hipótesis de que las CIC podrían representar el sistema marcapasos del intestino. La existencia de un complejo sistema de CIC, las cuales se hallan intercaladas entre los nervios autónomos y las paredes musculares del tracto gastrointestinal, ha sido conocido por más de 100 años (216).

Actualmente, se ha demostrado que estas células están implicadas en la regulación de la peristalsis intestinal, formando parte de las funciones motoras intestinales, como células marcapasos (216), controlando la peristalsis (35) y la contracción muscular. Además, posiblemente, actúan como neurotransmisores (77, 190).

La actividad eléctrica de la musculatura intestinal está caracterizada por las oscilaciones rítmicas del potencial de membrana, denominadas ondas cortas. Las CIC han sido propuestas como las células que generan este tipo de ondas y, por lo tanto, actúan como marcapasos de la actividad motora intestinal. La ultraestructura de la CIC y la naturaleza de las uniones intercelulares son compatibles con este rol (183, 185, 186).

Los otros dos candidatos principales para la generación de las ondas cortas en el intestino son el sistema nervioso entérico y las células musculares lisas (68).

Las CIC han sido descritas al MO como células fusadas o estrelladas, delgadas, con núcleos grandes y ovales, de citoplasma escaso perinuclear (66, 120, 190). Son similares a los fibroblastos y a las células musculares lisas y originariamente se pensó que pertenecían al sistema nervioso entérico (184, 186, 201), dado que fueron detectadas en los plexos mioentéricos y también en las capas musculares del estómago e intestino (120, 190). Pueden, inclusive, ser bipolares o multipolares (68).

Recientes estudios han demostrado que tanto la CIC como la célula muscular lisa se originan de una misma célula precursora (92, 105, 134, 240) de tipo mesodérmico o mesenquimático primitivo (104, 138).

Células con características tintoriales correspondientes a CIC han sido detectadas en el interior de la capa muscular del esófago, intestino delgado y colon, de fetos humanos de 18-20 semanas de gestación (23) (Figura 3) y con la misma distribución que la observada en los adultos (76).

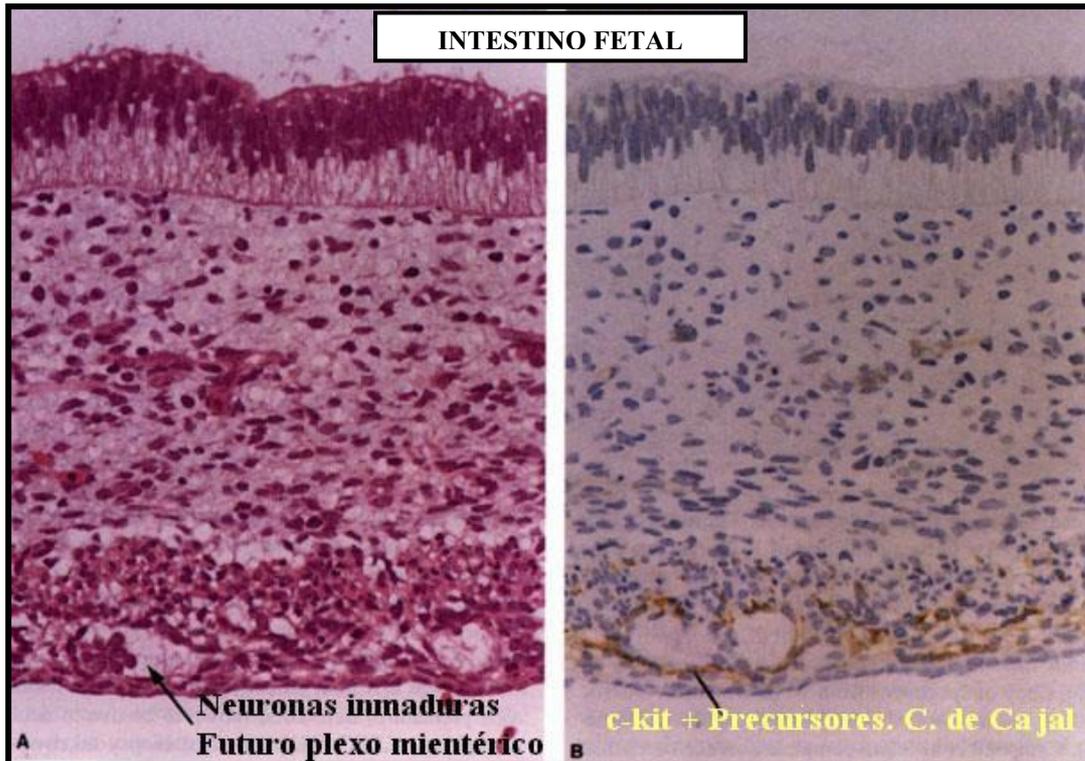
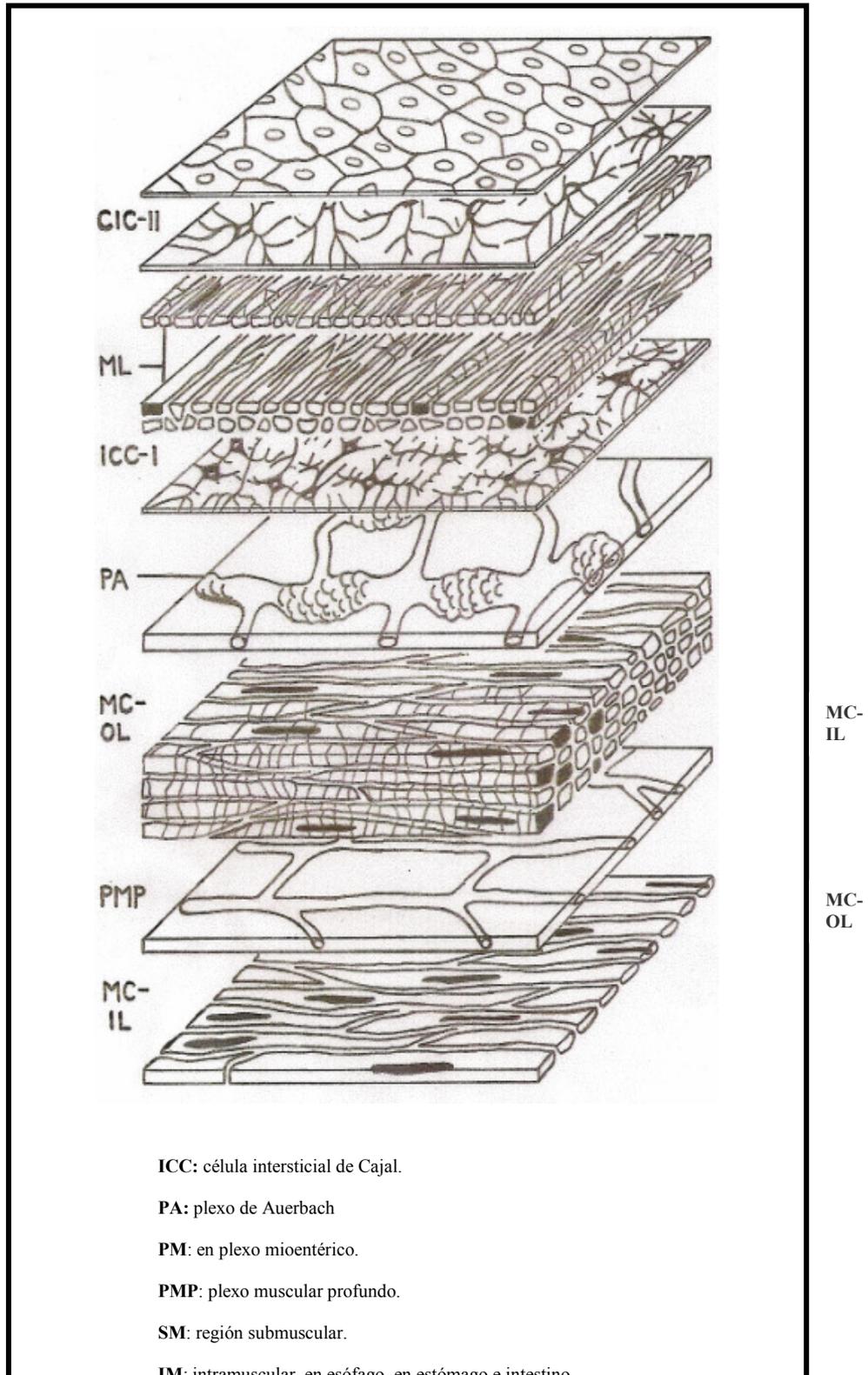


Figura 3: Microfotografía de intestino fetal con H&E y CD 117. (Extraída de Chan JKC. Mesenchymal Tumors of the Gastrointestinal Tract : A Paradise for Acronisms). (23)

Las CIC, corresponden, entonces, a una población nativa del tracto gastrointestinal, con un rol importante en la motilidad y constituyen un tipo celular especializado, similar a las células cardíacas del nódulo sinoauricular, sirviendo de nexo entre las células autonómicas ganglionares y las células musculares lisas (9).

En relación a la topografía de las CIC en el tracto gastrointestinal (Figura 4 y 5), se ha establecido, lo siguiente (66): en estómago las CIC muestran una variación regional: son escasas a nivel del fundus, encontrándolas solamente en la capa muscular circular interna. Son más abundantes en el cuerpo y en el antro en donde las mismas se encuentran en la capa muscular propia (circular) y en los plexos mioentéricos; también están presentes en la submucosa del antro (49).

Figura 4: Localización de las CIC en estómago, intestino delgado y colon humano. (66)



ML: músculo liso.

MC-OL: capa muscular longitudinal externa.

MC-IL: capa muscular longitudinal interna.

Figura 5: representación gráfica de la ubicación de las CIC en el tracto gastrointestinal.

En intestino grueso, la mayor densidad de CIC se encuentra en los plexos mioentéricos del colon transverso (región de mayor actividad marcapasos) y también en el interior y en el borde submucoso de la capa muscular circular interna (49).

La inervación de las CIC está dada por neuronas entéricas y responden a neurotransmisores (77, 190).

Morfológicamente, las CIC son células uninucleadas con un citoplasma que contiene numerosas mitocondrias, reflejo de su alto índice metabólico. Ultraestructuralmente, presentan rasgos mioides: abundantes caveolas, retículo endoplásmico liso, abundantes mitocondrias y filamentos delgados e intermedios, con ausencia de filamentos gruesos. Estas características varían en las distintas ubicaciones de las CIC, en relación a la capa muscular. Las abundantes caveolas de superficie relacionadas con el retículo endoplásmico, indican un activo transporte de iones.

Considerando su ubicación, se consideran 4 grupos:

- 1) CIC-PM: en plexo mioentérico.
- 2) CIC-PMP: plexo muscular profundo del intestino delgado.
- 3) CIC-SM: región submuscular del intestino delgado.
- 4) CIC-IM: intramuscular, en esófago, en estómago e intestino grueso (212)

La identificación de las CIC es dificultosa, debido a su similitud morfológica y estructural con otros tipos celulares. Ellas pueden ser visualizadas utilizando microscopia óptica pero, debido a la falta de tinciones selectivas, la identificación definitiva requiere, a menudo, el uso de microscopia electrónica.

Técnicas de tinción tradicional, tales como azul de metileno e impregnaciones argentícas han sido utilizadas exitosamente, pero no son selectivas para este tipo de células. Un número creciente de otros métodos de tinción tales como rodamina-123 han sido también introducidos para el estudio de las CIC, pero sufren el problema de la falta de selectividad. Ultraestructuralmente estas células muestran variaciones en las distintas especies y diferencias de acuerdo a su localización en el intestino (66).

Las características ultraestructurales de las CIC en humanos son: un retículo endoplásmico liso bien desarrollado, filamentos intermedios abundantes y sin filamentos de miosina, una lámina basal variablemente desarrollada, frecuentes mitocondrias y un núcleo oval indentado (186).

Subclases de CIC han sido sugeridas en cerdos de Guinea (12), perros (218, 235) y ratones (78) y es posible que ellas pueden ocurrir, también, en humanos. Estas subpoblaciones de CIC puede también tener sutiles diferencias en su expresión inmunofenotípica (78, 190).

Actualmente, existe un consenso relacionado a las CIC asociadas al músculo liso del tracto gastrointestinal. Estas células están consistentemente localizadas en regiones donde la actividad rítmica muscular es generada. Están conectadas a los leiomiocitos (células musculares lisas) mediante uniones gap y adecuadamente cercanas a los

axones de las neuronas motoras entéricas. Estos hechos sugieren que las CIC están involucradas en la generación de la actividad eléctrica muscular (función marcapaso), o en la conducción/coordinación de la actividad entre las células musculares. Se ha demostrado actividad eléctrica espontánea de las CIC aisladas, las cuales generan despolarizaciones eléctricas en forma de ondas lentas(96)

Se considera entonces, que las CIC son células marcapaso (216) pero no todas, sólo un grupo restringido. Otros grupos tienen función desconocida o se encargarían de la inhibición de neurotransmisores. Algunos trabajos describen que los transmisores de las neuronas motoras entéricas pueden actuar directamente sobre el músculo liso del tracto gastrointestinal. Entonces, al menos, una parte del control podría estar mediada por las CIC, y esto podría variar de región a región del tracto digestivo. Si hay algo que no se duda, es que las CIC están involucradas en los mecanismos generadores o reguladores de la motilidad digestiva (205).

Histogenéticamente las CIC poseen un origen mesenquimal y se diferencian desde una célula precursora común intestinal, la cual da origen a las células musculares lisas (92).

Se les ha descrito similitudes con los fibroblastos, leiomiocitos y fueron consideradas como parte del Sistema Nervioso Entérico. Sin embargo, no migran con las células nerviosas y se desarrollan del mesénquima intrínseco.

Dentro de sus características genéticas, las CIC poseen el c-Kit (CD-117) ligando del Factor de Células Stem (SCF). La interacción Kit- SCF es limitada en su expresión, a las CIC, células germinales, células madre de la médula ósea, melanocitos, mastocitos, siendo requerida para su maduración. Dentro del tracto gastrointestinal sólo se encuentra en CIC y mastocitos.

El c-Kit está presente en precursores comunes de leiomiocitos y CIC. Los leiomiocitos perderán el c-Kit, persistiendo en las CIC. Por lo tanto, las CIC serán inmunorreactivas para el anticuerpo CD-117.

Desde el punto de vista inmunohistoquímico, las CIC expresan CD-34 y el proto-oncogen kit (CD-117), el cual se une a un receptor tirosin-quinasa transmembrana y tienen al factor stem cell (SCF) como ligando.

La expresión del gen kit es esencial para el desarrollo de la hematopoyesis normal, la proliferación y la migración de células germinales primordiales y de melanoblastos durante la embriogénesis, como así también para el desarrollo de las CIC y la actividad como marcapasos gastrointestinal (74). Además, la interacción Kit-SCF es requerida para la maduración tanto de las CIC como de las células plasmáticas, dentro del tracto gastrointestinal; las CIC pueden ser distinguidas histoquímicamente de los plasmocitos por el uso de alcian blue a un pH 0,5 o azul de toluidina, o inmunohistoquímicamente por la utilización de triptasa (74, 77, 201).

C-kit es un receptor que actúa como factor de crecimiento y que funciona como una tirosin-quinasa. A la molécula c-kit (CD-117), también se la conoce como receptor c-kit o receptor factor "stem cell" (7). El c-Kit es un receptor tirosin-quinasa tipo 3 y pertenece a la familia de las inmunoglobulinas. Otros miembros del grupo de los receptores tirosin-quinasa tipo 3 son: El factor I estimulante de colonias y los factores de crecimiento receptores tipo α y β derivados de plaquetas, son estructuralmente similares a KIT y tienen al igual que éste, posibilidades oncológicas.

El receptor posee un dominio extracelular con cinco regiones de tipo Ig-like, una región única transmembrana y un dominio intracitoplasmático con actividad tirosin quinasa (57).

Utilizando métodos inmunohistoquímicos se ha demostrado que el anticuerpo c-Kit, constituye una técnica sensible para la identificación de las CIC, tanto en animales (220) como en tejidos humanos (228). Un grupo de genes humanos receptor proteína tirosin-quinasa, tipo III, incluyendo el gen kit, ha sido localizado

en el cromosoma 4q11-q12 (201) (Figura 6), próximo al gen del receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y también del receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR).

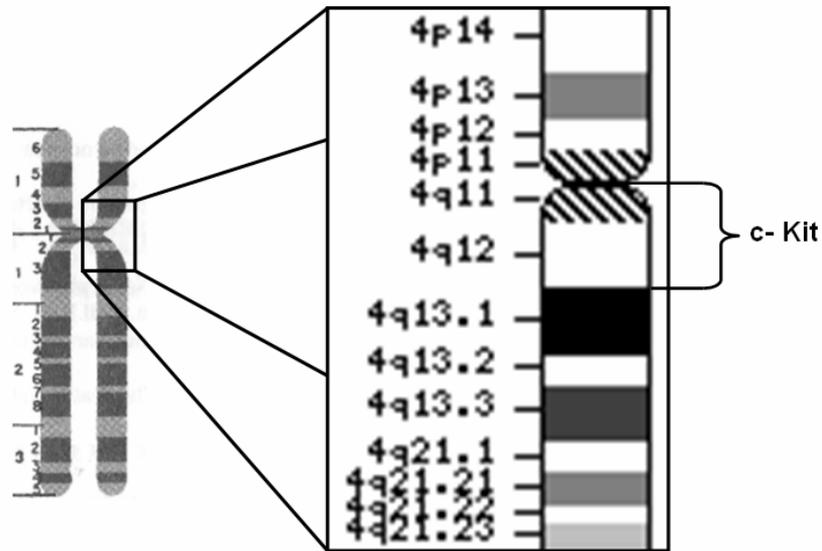


Figura 6: localización cromosómica del gen de c-Kit

Por otra parte, se ha postulado que aquellos tumores que se hallan asociados a una mutación del gen del PDGFR representan, actualmente, una entidad entre los GISTs (165, 179).

El ligando para KIT se conoce como SCF (stem cell factor). La activación del receptor se produce como consecuencia de un proceso de homodimerización.

Este proceso provoca una serie de cambios estructurales en el receptor que determina una activación del dominio con actividad quinasa de KIT y fosforilación de numerosas proteínas (100)

El resultado final de la activación es la génesis de una serie de señales que actúan sobre procesos cruciales en la tumorigénesis como proliferación celular, adhesión, apoptosis y diferenciación (250) (Figura 7)

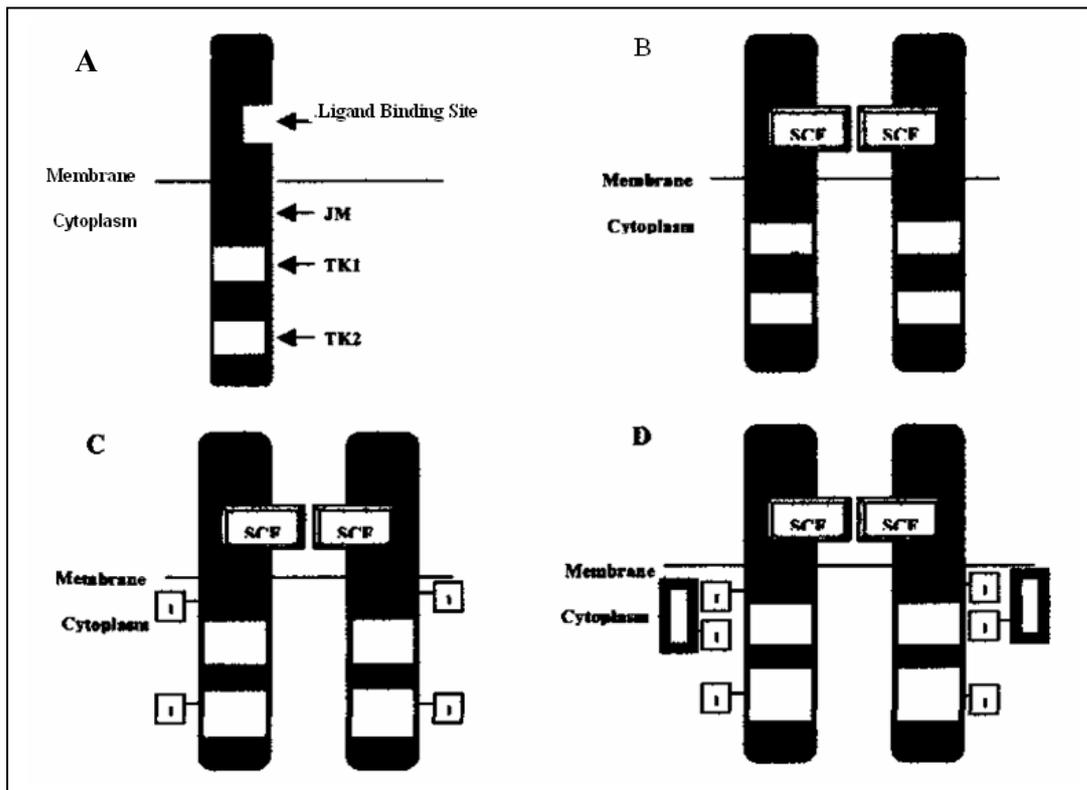


Figura 7: Activación ligando-inducida de la actividad tirosin-kinasa. A: Unión del ligando. B: dimerización del receptor. C: Autofosforilación cruzada en restos tirosina. D: Fosforilación del receptor por Kit.

Se ha observado una expresión alta de KIT en células hematopoyéticas progenitoras, células cebadas, melanocitos, células germinales y en las ya comentadas células intersticiales de Cajal (88). Estas células forman una red localizada en el plexo de Auerbach estableciendo la comunicación entre neuronas y fibras musculares lisas, necesarias para regular los movimientos peristálticos intestinales. Probablemente la célula progenitora tendría la capacidad de diferenciarse hacia una célula muscular lisa o intersticial de Cajal. La expresión de KIT sería necesaria para la diferenciación y proliferación de células precursoras hacia células intersticiales de Cajal. Estas células derivan de stem cell mieloides y son positivas para el antígeno CD34 en el 52 al 72% de los casos (172).

Una falta de células marcapasos ha sido observada en segmentos aganglionares del colon en la enfermedad de Hirschprung (228, 242).

La falta de desarrollo de las CIC ha sido asociado, también a otros trastornos gastrointestinales ("arritmia" del intestino) (23), tales como: malformaciones ano-rectales (81), pseudo-obstrucción intestinal crónica (constipación severa crónica) (19, 78), pseudo-obstrucción neonatal transitoria (85), estenosis pilórica hipertrófica infantil (95) y colitis ulcerosa crónica (CUC)(184).

Yung-Ming y col. (249) describieron el primer caso de hiperplasia congénita de CIC del intestino grueso asociada a displasia neuronal y sin mutación del gen c-Kit.

Además de los criterios clásicos que diferencian los tumores benignos de los malignos (tamaño, mitosis y localización), se intenta buscar nuevos marcadores, tanto pronósticos de comportamiento biológico, especialmente en tumores pequeños con escaso número de mitosis y poder metastatizante, como predictivos de respuesta al tratamiento. Muchos de los estudios se centran en alteraciones mutacionales en el gen KIT y en otras alteraciones cromosómicas, especialmente en pérdidas de cromosomas 14 y/o 22.

Las mutaciones pueden afectar a diferentes exones tales como el 11, 9, 13 y 17 (97).

Las mutaciones en el exon 11 se asociarían con una mejor respuesta al tratamiento y en el exon 9 con una mayor agresividad (101). (Figura 8)

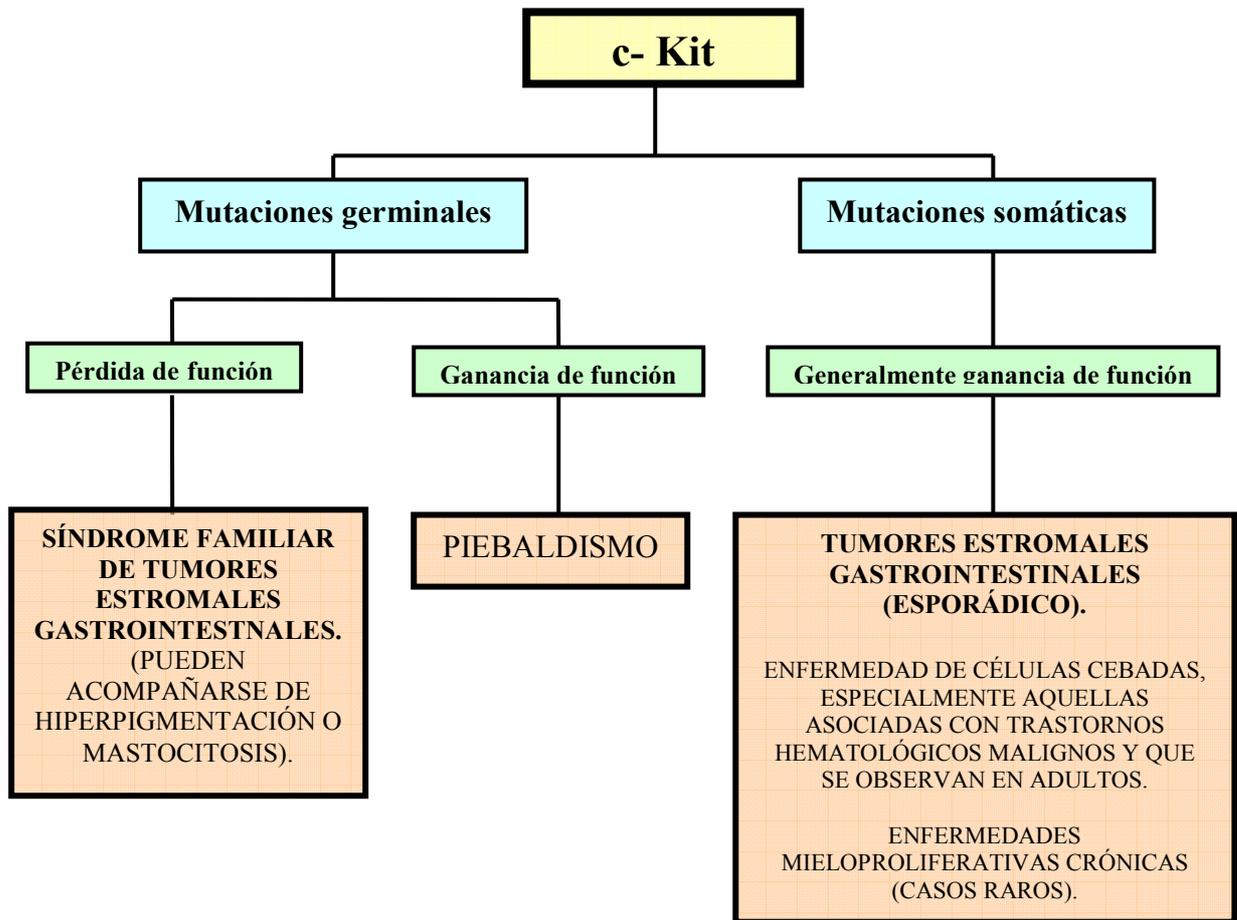


Figura 8: Posibles mutaciones de C-Kit (23)

El término GIST fue aceptado mundialmente por la OMS en su Clasificación Internacional de los Tumores de 1990. El objetivo fue generar una determinación histogenética neutral, que agrupara a aquellos tumores mesenquimáticos gastrointestinales que no cumplieran con los requisitos para ser clasificados como neurogénicos u originados en músculo liso y que, por otro lado, tuvieran un estudio inmunohistoquímico positivo para CD-34 y c-Kit (CD-117).

Sternberg (205) clasificó a los tumores gástricos de origen mesenquimático, de la siguiente forma:

- Benignos

- * Tumor estromal de células fusadas
- * Tumor estromal de células epitelioides
- Leiomioma
- Schwannoma
- Tumor glómico
- Lipoma
- Mesenquimoma

- Malignos

- * Tumor estromal de células fusadas
- * Tumor estromal de células epitelioides
- Leiomiosarcoma
- Sarcoma pleomórfico
- Rabdomiosarcoma
- Histiocitoma fibroso maligno
- Liposarcoma
- * Tumor gastrointestinal del sistema nervioso autónomo (GANT)

En 1994, Mikhael y col. (140) consideraron a las CIC como la contrapartida normal de los GISTs.

Actualmente se considera la mutación C-Kit como un evento molecular importante en la formación de los tumores estromales gastrointestinales (97).

Reith y col. (173) reportaron una serie de tumores estromales de localización extragastrointestinal y los designaron con el acrónimo EGIST (extra-gastrointestinal stromal tumors)

Interesantemente las características particulares que exhiben los tumores estromales, incluyen todo un abanico de conceptos sobre histogénesis, morfología con técnicas de rutina, inmunorreacción, conducta clínica, pronóstico, alteraciones genéticas puntuales, terapéutica y otras que se investigan en la actualidad y que, sin lugar a dudas, serán de gran importancia en los próximos años.

Los tumores GIST, constituyen uno de los mas claros ejemplos del manejo multidisciplinario en interacción ordenada, en el cual deben de participar el patólogo, como determinante diagnóstico que intenta determinar los parámetros morfológicos de valor pronóstico, el clínico que establece la localización y extensión de la lesión, el cirujano, quien con un juicio crítico determina si la lesión es resecable, procurando reducir al mínimo la morbimortalidad, y el oncólogo, que ofrece la terapéutica previa o posterior a la resección quirúrgica.

En el campo de la oncología, se cursa por un período importante de una mejor comprensión de estas neoplasias, con base en los progresos científicos y en su comportamiento biológico. Los principios básicos de la biología molecular del cáncer han sido explorados en las últimas décadas, y estos conocimientos son aplicados en nuevas estrategias para el empleo de terapias blanco moleculares, efectivas en estos tumores.

De esta forma, el principal interés de los GISTs radica en la dificultad y controversia que supone establecer criterios morfológicos que, relacionándose con su evolución, permitan diferenciar las formas benignas de las malignas y analizar los

factores pronósticos, valorando la eficacia de los mismos en predecir su comportamiento biológico.

Establecer los parámetros y criterios para conocer la naturaleza y conducta biológica de las neoplasias estromales gastrointestinales no es una cuestión meramente teórica o académica, sino que adquiere trascendencia para el anatomopatólogo asistencial, quien enfrenta en la práctica clínica la problemática y dificultad de establecer con las técnicas habituales cuál será la evolución de una determinada neoplasia estromal.-

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Correlacionar la variable tamaño tumoral, patrón microscópico e inmunofenotipo, con la conducta o comportamiento biológico evolutivo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar las formas macro y microscópicas de presentación de los GISTs.
- Analizar la forma de presentación clínica.
- Relacionar las variables: topografía, tamaño tumoral y grado del tumor con la agresividad tumoral.
- Investigar el rol de las técnicas de inmunohistoquímicas en determinación de la histogénesis tumoral.
- Confirmar el valor del protooncogen (CD-117) como marcador de CIC y de los GISTs.-

CAPITULO II

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 30 casos de tumores estromales gastrointestinales en un análisis prospectivo y retrospectivo, de los archivos correspondientes al Servicio y II Cátedra de Patología del Hospital Municipal de Urgencias, del Hospital Nuestra Sra. de la Misericordia, y de Laboratorio Privado de Patología de la Ciudad de Córdoba, en el período comprendido entre los años 1987 y 2007. Para el material retrospectivo se estudiaron bloques de tejidos en parafina.

El material pertinente para estudio se fijó en formaldehído en una solución al 10% y posteriormente se incluyó en parafina, realizando las tinciones habituales con H-E y técnicas histoquímicas (P.A.S, tricrómico de Masson y Hematoxilina-Acido Fosfotúngstica de Mallory).

Se realizaron técnicas de estudio inmunohistoquímico para determinar el perfil inmunofenotípico de todas las neoplasias estudiadas y de acuerdo al siguiente panel:

- Vimentina.
- Actina de músculo liso
- CD-34
- c-Kit (CD-117)
- Proteína S-100
- Citoqueratina
- Enolasa Neuronal Específica (ENE)
- Cromogranina

Criterios de Inclusión:

- Especímenes quirúrgicos correspondientes a tumores estromales gastrointestinales.
- Tumores estromales gastrointestinales con diferentes patrones histopatológicos (fusocelular, epitelioide, con matriz mixoide, etc).

Criterios de Exclusión:

- Material procedente de necropsias
- Tumores gastrointestinales de estirpe epitelial
- Tumores mesenquimáticos de origen lipomatoso, muscular estriado, vascular, fibrohistiocitario y del Sistema MALT (tejido linfoide asociado a mucosas).
- Tumores estromales de localización esofágica, colono-rectal o de glándulas digestivas.

TECNICAS HISTOLOGICAS

COLORACION DE HEMATOXILINA–EOSINA

Hematoxilina: Es un colorante básico, de origen natural aislada por Chevreuil en 1810, que se extrae del árbol palo azul de Centroamérica o palo de Campeche (*Haematoxylon campechianum*). La molécula de hematoxilina se une mediante puentes de hidrógeno a diversos sustratos. Para que pueda ser empleada como colorante, se debe oxidar a hemateína que puede ocurrir en contacto con el oxígeno atmosférico en 4 semanas, o inducido en forma artificial a través de agentes de carácter oxidante; provoca la aparición de un anillo que actúa como cromóforo (le da la propiedad de teñir).

Esta oxidación se puede producir por el óxido de mercurio y el iodato de sodio. Estas tiñen los núcleos por un mecanismo de coloración terminal o incluso progresiva, que debe virarse en agua corriente.

En agua, disuelve en etanol puro. Es indirecto y necesita un mordiente que es el alumbre de $K_2(SO_4)$. El óxido de plata, oxida la hematoxilina (color violeta) a hemateína (color púrpura).

La solución H-E, tiene un pH ácido, que nos permite ionizar los grupos fosfatos del ADN y ARN ($H_2PO_4^-$) para ser coloreados.

Antes de unirse el colorante con los ácidos nucleicos, se originan cargas aniónicas debido a $(OH)^-$ que aporta ácido acético (CH_3COOH) a la solución colorante.

La Eosina que es fundamental como colorante de contraste citoplasmático, es una tetrabromofluoresceína y exhibe fluorescencia amarillo verdosa mas intensa en soluciones acuosas. (189)

Procedimiento Técnico:

1- Preparación de la Hematoxilina

Hematoxilina Cristal	1 gr.
Sulfato de aluminio y potasio	50 grs.
Iodato de sodio	200 mgr.
Hidrato cloral	50 grs.
Acido Cítrico	1 gr.

2- Preparación de la Eosina

Eosina Amarilla	1 gr.
Alcohol 70 %	100 ml
Solución de Trabajo	
Solución madre	25 ml.
H ₂ O destilada	100 ml.

Modo de operar:

- 1- Desparafinar e hidratar.
- 2- Colorear con hematoxilina durante 10 minutos.
- 3- Virar en agua corriente durante 10 minutos.
- 4- Lavar en agua destilada.

5- Colorear con eosina 3 a 5 minutos.

6- Deshidratar, aclarar y montar.

Resultados: Núcleos en azul. Citoplasma, fibras colágenas, elásticas y neurofibrillas en rosado.

HEMATOXILINA FOSFOTUNGSTICA DE MALLORY:

Drogas o reactivos necesarios:

Hematoxilina.

Acido fosfotúngstico.

Alumbre férrico al 5 %.

Solución:

Hematoxilina0.1 gr.

Acido fosfotúngstico..... 2 gr.

Agua destilada100 cm³.

TECNICA:

1. Desparafinar e hidratar.
2. Colocar en alumbre férrico al 5 % durante 5 minutos.
3. Lavar en agua corriente durante 10 minutos.
4. Lavar en agua destilada.
5. Colocar en la solución de hematoxilina durante 12-42 horas en frío o 2 horas en la estufa a 56 °C.
6. Lavar en agua destilada.
7. Diferenciar en alcohol 96 % controlando con el microscopio.
8. Deshidratar y montar.

Resultados:

Estrías de fibras musculares: azul negro. Colágeno: anaranjado. Citoplasma, gránulos de Paneth y canalículos biliares: violeta.

COLORACION DE P.A.S.

Fundamentos

Es un método introducido por MacMannus en 1946 para demostrar mucinas y por Lillie en 1947 para poner en evidencia la presencia de glucógeno.

Consiste en oxidar los tejidos usando el ácido peryódico para aumentar los grupos carbonilos (aldehídos y cetonas) presentes y para ser demostrados posteriormente con el Reactivo de Schiff. Es una reacción de fundamental importancia en la histoquímica de los glucoproteínas.

La reacción se produce en dos pasos:

- 1) Oxidación por el ácido peryódico que produce liberación de aldehídos en los tejidos.
- 2) Los aldehídos liberados son demostrados al reaccionar con el reactivo de Schiff (leucofucsina básica o fucsina básica previamente decolorada).

Soluciones

A) Solución Oxidante:

Acido peryódico	0,5 grs.
Agua destilada	100 ml.

B) Reactivo de Schiff:

Fucsina diamante cristal	1 gr.
Metabisulfito de Sodio	20 grs.
Acido Clorhídrico	20 cm ³ .
Agua destilada	200 cm ³

Técnica:

- 1- Desparafinar e hidratar.
- 2- Oxidar en ácido peryódico 5 minutos.
- 3- Lavar en agua destilada.
- 4- Colocar Reactivo de Schiff 10 minutos.
- 5- Dos baños de ácido sulfuroso 2 minutos.
- 6- Virar en agua corriente.
- 7- Lavar en agua destilada.
- 8- Colorear con hematoxilina 2 minutos.
- 9- Virar, aclarar y montar.

Resultados:

Color rojo magenta: Glicosaminoglicanes neutros en color púrpura, glucógeno en rojo púrpura, Glucoproteínas, glucolípidos.

Color violeta: Núcleos.

TRICROMICO DE MASSON

Soluciones

1- Hematoxilina de Regaud:

En 80 cm³ de agua destilada caliente se disuelve 1 gr. de hematoxilina, una vez fría se agregan 10 cm³ de alcohol 96% y 10 grs. de glicerina. Esta preparación toma un color marrón y es utilizable en unos días.

2-Acido pícrico:

Acido pícrico a saturación en alcohol 95%..... 2 partes.
Alcohol 95 %.....1 parte.

3- Solución de fucsina ácida

Fucsina ácida.....1 gr.
Acido acético glacial.....1 cm³
Agua destilada.....100 cm³.

4- Rojo ponceau de xilina:

Rojo ponceau de xilina..... 1 gr.
Acido acético glacial..... 1 cm³.
Agua destilada..... 100 cm³.

5- Solución de ácido fosfomolibdico al 1 % en agua destilada.

6- Solución de azul de anilina:

Se disuelven 2,5 cm³ de ácido acético glacial en 100 cm³ de agua destilada y se le agrega azul de anilina hasta saturación.

Resultados:

-Núcleos.....Azul-negruzco.
-Citoplasmas, queratina, fibras musculares y eritrocitos..... Rojo.
-Colágeno y reticulina.....Azul o verde.

TÉCNICAS INMUNOHISTOQUIMICAS

Las técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) permiten la identificación, sobre muestras tisulares o citológicas, de determinantes antigénicos característicos de distintas líneas de diferenciación y funcionalismo celular. La aplicación directa de anticuerpos policlonales o monoclonales sobre secciones tisulares permite la localización microanatómica de su expresión y su correlación con los parámetros morfológicos, aumentando la sensibilidad y especificidad del estudio y proporcionando información adicional esencial en muchos casos. En las últimas décadas la utilización de IHQ ha sido progresivamente creciente y se ha consolidado como tecnología esencial en el diagnóstico patológico de rutina. En general

y muy especialmente en patología oncológica, son cada vez más las patologías cuyo diagnóstico y clasificación requiere IHQ. La incorporación de nuevos protocolos de recuperación antigénica y la afluencia constante de nuevos anticuerpos están ampliando notablemente el ámbito de aplicación con nuevas utilidades en diagnóstico y pronóstico (31).

Método del Complejo Avidina-Biotina-Peroxidasa (ABC)

Se basa en la unión entre la avidina y biotina conjugada con la peroxidasa. La avidina es una glucoproteína de P.M 68.000, tetramérica, normalmente presente en la clara de huevo. Presenta en su superficie regiones hidrofóbicas a las que se une con gran afinidad la biotina. Las cadenas glucídicas de la avidina tienen una carga tal que las hace adhesivas con regiones cargadas del tejido

Por su parte la biotina es una vitamina del complejo B de muy bajo peso molecular: 213.

La biotina se puede conjugar fácilmente con la fracción Fc de las inmunoglobulinas, sin afectar en nada la capacidad de los anticuerpos de unirse a los antígenos específicos. Presenta un grupo carboxílico que permite su unión a los restos amino de las proteínas. La biotinización es una reacción bioquímica que permite unir biotina a una gran variedad de moléculas como enzimas, lectinas, anticuerpo, ácidos nucleicos, etc. La pequeña medida de la proteína hace que la adición de biotina no modifique drásticamente las propiedades de la molécula. Los métodos inmunocitoquímicos que utilizan el complejo avidina-biotina o estreptavidina-biotina no difieren en su esquema metodológico general de los otros métodos inmunocitoquímicos. La característica principal es que el anticuerpo biotilado puede ser utilizado como primario (método directo), secundario (método indirecto) y puede visualizarse mediante tres métodos diferentes:

- con avidina (o estreptavidina) marcada.
- con avidina actuando como puente para enzimas biotinizados.
- con el complejo avidina-biotina-peroxidasa o otro marcador (sistema ABC).

El método ABC es el más utilizado ya que tiene la máxima sensibilidad. Requiere la preparación “in vitro” del complejo avidina-biotina-peroxidasa dejando al menos uno de los cuatro lugares de unión de la superficie de la avidina libre para que se una a las moléculas de avidina acomplejadas con el anticuerpo (primario o secundario). El complejo se añade después del anticuerpo biotinilado. Otra ventaja adicional del sistema ABC es su universalidad ya que la tercera capa es siempre la misma independientemente de la especie en que se haya obtenido el primario.

El método ABC comprende 3 pasos:

- a. incubación con el anticuerpo primario
- b. incubación con el anticuerpo biotinilado y
- c. aplicación del complejo ABC.

Recuperación de Antígenos:

Los métodos de recuperación de antígenos tienen por finalidad el desenmascaramiento de aquellos epitopes que han sufrido la acción del ácido nítrico formaldehído y otros solventes orgánicos. Para tal fin, básicamente se utilizan dos métodos: la recuperación en buffers a distintos pH (dependiendo del antígeno) en horno a microondas y la digestión enzimática de los tejidos.

PROTOCOLO GENERAL PARA INMUNOHISTOQUIMICA

1. Cortes en parafina 3 a 5 micras (μm).
2. Los cortes son estirados en agua tridestilada.
3. Montaje en portaobjetos cargados electropositivamente (Optiplus tm, Biogenex, San Ramón, CA).
4. Fijación en estufa a 60 °C de 4 - 12 hs
5. Desparafinación en 5 cambios de Xileno, 5 minutos cada uno.
6. Etanol absoluto, 4 cambios de 2 minutos cada uno.
7. Hidratación en etanol, 4 cambios de 2 minutos cada uno.

8. Lavado en agua bidestilada, 1 cambio por 2 minutos Agua tridestilada, 2 cambios por 2 minutos cada uno.
9. Recuperación de antígenos.
10. Lavado (igual que en paso 8).
11. Bloqueo de Peroxidasa endógena en Peróxido de Hidrógeno (H₂O₂) (30%-100 vol.) al 3 % en Metanol absoluto por 20 min.
12. Lavado (igual que en paso 8).
13. Lavado en KPBS (Solución salina de Potasio y Fosfato Bufferado 10 mM, pH 7,60) 4 cambios de 1 min. c/u.
14. Bloqueo de Biotina y Avidina endógena en Caseína al 5% en KPBS 10 mM, pH 7.60 por 10 min. Opcional de acuerdo al órgano a marcar.
15. Bloqueo de epitopes inespecíficos en Suero Normal de Caballo al 10 % en Carrier (BSA al 1%, Tween-20 0,1% 0,09% en Azida Sódica en KPBS 10 mM, pH 7.60) por 10 min.
16. Sin lavar, los portaobjetos son secados con papel tipo Kleenex alrededor de los cortes.
17. Incubar en anticuerpo primario durante 30-120 minutos (dependiendo del anticuerpo) a temperatura ambiente (18-25 °C)
18. Lavar en 2 cambios de KPBS 10 mM, pH 7.60 1 min. c/u. Pasar en 3 cambios de Tween-20 0,1% en KPBS 10 mM, pH=7.60 1 min. c/u.
19. Incubar en Anticuerpo secundario biotinilado (bt-Horse anti Mouse 1:100, Vector) por 10 min.
20. Lavar como en paso 18.
21. Incubar en Streptavidina-HRP 1:100 (Sigma) por 10 min.
22. Lavar como en paso 18.
23. Revelar en diaminobencidina (DAB) o aminoetilcarbazol (AEC)
24. Contrastar en Hematoxilina de Mayer durante 5 min.
25. Virar en agua corriente tibia.
26. Deshidratar, aclarar y cubrir.

PERFIL INMUNOHISTOQUIMICO DE LOS GISTs

- ˆ Vimentina: Tinción citoplásmica fuerte y difusa.
- ˆ CD34: Tinción citoplásmica fuerte y difusa en el 70 % de los GISTs. El 30 % restante muestra una tinción moderada e irregular.
- ˆ Actina músculo específica (HHF-35): Reactividad difusa de moderada intensidad ocurre en el 25 % de los casos y 50 % reactividad focal e irregular.
- ˆ Actina músculo liso: aproximadamente el 20% de los GISTs muestra tinción difusa de moderada intensidad.
- ˆ Desmina: Aproximadamente el 10 % de estas neoplasias muestra reactividad intensa y difusa muestra que 33% muestra positividad citoplásmica irregular de intensidad leve a moderada.
- ˆ Proteína S-100: Aproximadamente el 5 % de los GISTs muestra mas de la mitad de las células con tinción celular (nuclear o citoplásmica) mientras que el 35 % de los tumores tienen tinción solo de células individuales o grupos pequeños, con moderada a intensa reactividad nuclear y citoplásmica.
- ˆ Queratina AE1/AE3: Aproximadamente el 5% muestra generalmente tinción de células individuales con moderada intensidad. Las variantes de células en “anillo de sello” han sido uniformemente negativas (210)
- ˆ Queratina CAM 5.2: En aproximadamente el 40 % de los casos se tiñen células individuales o pequeños grupos mientras que el 5 % muestra positividad focal, la cual usualmente va de moderada a intensa, en un gran número de células (208).
- ˆ Sinaptofisina: Aproximadamente el 10% de los casos se tiñe con sinaptofisina, generalmente en células aisladas y de leve a moderada intensidad.
- ˆ Cromogranina: aproximadamente el 5 % de los casos se tiñen generalmente células aisladas en forma leve a moderada.
- ˆ Neurofilamentos: cerca del 5% de los casos se tiñen generalmente células aisladas en forma leve a moderada.
- ˆ Proteína glio-fibrilar ácida: cerca del 5% de los casos se tiñen generalmente células aisladas en forma leve a moderada.

CD-117 (c-Kit):

Es un receptor tirosin-quinasa transmembrana que ha sido inmunolocalizado en varias neoplasias, de las cuales las más notables son los GISTs.

En estos tumores c-Kit ha resultado ser un marcador inmunohistoquímico relativamente específico y sensible. Si un tumor estromal gastrointestinal expresa c-Kit, este es generalmente tratado con Gleevec[®]. CD-117 fue evaluado inicialmente en neoplasias pulmonares y pleurales (31).

c-Kit Anti-humano policlonal de conejo, CD-117 Cód. N° A4502 (Lab DAKO)

Inmunógeno: Este anticuerpo fue obtenido de polipéptido constituido por 963-976 residuos de aminoácidos en la porción C-terminal, por inyecciones subcutáneas en conejos (123, 223). El protooncogen c-Kit es el homólogo celular del oncogen v-kit del virus felino HZ4. El c-Kit codifica para un receptor tirosin-quinasa transmembrana que es estructuralmente similar al receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y al receptor del factor estimulante de colonias (CSF). (165). Además, se piensa que juega un rol importante en la hematopoyesis, espermatogénesis y melanogénesis (246). El c-Kit está localizado en el cromosoma 4 humano y en el cromosoma 5 del ratón que incluye el locus del gen W. Las mutaciones del locus W está caracterizado por una anemia macrocítica severa, falta de pigmentación y esterilidad. Existen evidencias que el gen W mutado del ratón juega un rol esencial en varios aspectos de c-Kit, tales como, hematopoyesis, proliferación y migración de las células germinales primordiales y de los melanoblastos durante la embriogénesis. Aunque estudios recientes han sido realizados, principalmente, en ratas y ratones, poco se conoce acerca de la distribución del gen c-Kit y de sus productos en tumores humanos.

Presentación: Este anticuerpo se presenta en forma líquida como Ig G purificada por proteína A y su forma afin aislada del inmunógeno 0,05 mol/L Tris -HCl, albúmina sérica 1% bovina y 15 mmol/L sodium-azide. pH 7.2.

Concentración de proteína: 9,7 mg/mL. Concentración de Inmunoglobulina: 200 µg/mL-

Mantenimiento: 2-8 ° C.

Especificidad: Este anticuerpo permite la identificación del producto del gen c-Kit de 145 kDa. , que se halla presente en la membrana plasmática de las células humanas

del glioblastoma y reconoce los productos del gen c-Kit en varios tumores sólidos humanos, como así también en tejidos normales fetales y adultos. Algunos estudios sugieren que los productos del gen c-Kit pueden estar estrechamente relacionados con los procesos de transformación maligna y la patogenia de algunos tipos específicos de tumores sólidos en humanos, tales como el carcinoma de células pequeñas del pulmón (73, 122, 224)

Reactividad

Células normales: Se observa intensa positividad en mastocitos de tejidos epiteliales y hematopoyéticos. Células gliales, tanto del cerebro adulto como fetal, muestran positividad. Del mismo modo, las células ductales de la glándula mamaria son positivas, mientras que las células mioepiteliales son negativas. Además, las células de la médula de la glándula adrenal exhiben marcada tinción nuclear (123).

Células tumorales: alta expresión de inmunoreactividad c-Kit es observada en el cáncer de pulmón, especialmente en el carcinoma de células pequeñas.

Además, el anticuerpo c-kit constituye una técnica sensible para la identificación de las células intersticiales de Cajal (CIC), tanto en animales (218) como en tejidos humanos (224).

Procedimiento de tinción

Cortes en parafina: el anticuerpo puede ser utilizado en el tejido fijado en formol e incluido en parafina sin recuperación del antígeno, mientras que el pretratamiento con el calor, a veces, ofrece mejores tinciones. El tratamiento con enzima proteolítica debe ser evitado. El epítipo parece ser bastante sensible, por lo tanto, la fijación en formol por un largo período debe ser eludida. Para los cortes de tejido, una variedad de técnicas son aplicables, incluyendo el método ABC avidina-biotina-peroxidasa, el procedimiento de tinción en tres etapas con inmunoperoxidasa y las técnicas APAAP (fosfatasa alcalina antifosfatasa alcalina) y PAP (peroxidasa antiperoxidasa).

Reactividad: Material incluido en parafina, cortes por congelación.

Control: GIST, piel, testículo, mama.

Visualización: Citoplasmática, membrana

Estabilidad: hasta 36 meses mantenido de 2 a 8 ° C

El anticuerpo puede ser utilizado en una dilución 1:50, cuando es testado en material fijado en formol e incluido en parafina. Esto es sólo una guía, las diluciones óptimas deben ser determinadas individualmente en el laboratorio.

CD-34

El CD-34 es una proteína de transmembrana glicosilada de 110 KDa. de peso, con una función extracelular que actuaría en la adhesión celular y otra función intracelular que activaría la transducción (139).

En médula ósea y en otros tejidos se expresa en células hematopoyéticas progenitoras, linfoides y mieloides, células endoteliales de capilares, tejido linfoide, timocitos inmaduros y placas de Peyer, células dendríticas de todo el cuerpo.

Neoplasias: Lesiones vasculares benignas (angioqueratoma, hiperplasia angiolinfoide, granuloma piógeno).

Lesiones de partes blandas:

90% positivo en tumor solitario fibroso.

90% Dermatofibrosarcoma *protuberans* , Sarcoma de Kaposi.

60% Hemangiopericitoma.

33% Tumores de músculo liso.

80% Tumores del estroma gastrointestinal.

60-90% Neuroma, neurofibroma.

CD-34 Negativos

Fibromatosis, Dermatofibroma, Sarcoma sinovial, Melanoma, Carcinoma, Rabdomyosarcoma, Fibrosarcoma atípico, Hemangioendotelioma fusocelular.

Reactividad: Material incluido en parafina, cortes por congelación.

Control: Amígdala, placenta, apéndice.

Visualización: membrana

Estabilidad: hasta 36 meses mantenido de 2 a 8 ° C

Isotipo: Ig G

VIMENTINA

Es una de las proteínas fibrosas que forman los filamentos intermedios del citoesqueleto intracelular en particular de células embrionarias, ciertas células endoteliales, así como en las células sanguíneas. Los monómeros de vimentina se enrollan una con la otra formando una fibra estable. Su función principal es la de proveer un ancla para el soporte de las organelas intracelulares (por ejemplo, la mitocondria, retículo endoplásmico, etc). Junto con otros filamentos intermedios mantienen la integridad física de la célula. También participan en algunas uniones intercelulares (desmosomas).

PROTEÍNA S-100

Es una proteína ácida soluble. Marcador de elección para células de origen neuroectodérmico (26)

INFRAESTRUCTURA:

El Servicio de Patología y la II Cátedra de Patología, cuentan con los siguientes elementos, para ser utilizados en la labor asistencial, docente, de investigación y extensión:

Laboratorio de Anatomía Patológica y Citopatología provistos de:

Micrótomos por deslizamiento para cortes en parafina Leitz 1207 y Richter

Micrótomo Leitz para cortes en fresco o por congelación

Crióstato

Microscopio Binocular

Microscopio binocular Leica Galen III con cámara de video y pantalla monitor Sony color de 14 ", multinorma y de alta resolución.

Cámara para microfotografías Ricoh KR-Super II y Cámara Digital con zoom Kodak AF 3x 36 mm- 108 mm de 7 megapíxeles.

Computadora Pentium con impresora (2) y scanner

Proyector C.P –RS 55 (“cañón”)

Biblioteca:

Cómo material bibliográfico la Cátedra cuenta con la suscripción anual a la Revista American Journal Surgical Pathology (mensual), Revista Latinoamericana de Patología (México) cuatrimestral y Pathology (Australia) cuatrimestral.

Hemeroteca de la Facultad de Ciencias Médicas y de otras facultades de la Universidad Nacional de Córdoba, como por ejemplo, de la Fac. de Cs. Químicas.

TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS:

Los resultados de los parámetros estudiados, se analizaron con un modelo lineal de varianza y de normalidad. Luego se efectuó la comparación de las combinaciones posibles mediante datos categóricos. Por otra parte, los cambios anatomopatológicos observados, se estudiaron a través del test de chi cuadrado para variables cualitativas.

Para todos los casos, se estableció un nivel de significación de 0,05.

TABLA 1: CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

Caso	Edad	Sexo	Síntomas	Organo	Localización	Tratamiento
1	56	F	Hematemesis, melena	Estómago	Antro	Gastrectomía subtotal
2	52	M	Hematemesis, melena	Estómago	Cuerpo Curvat. mayor	Gastrectomía subtotal
3	63	M	Hematemesis, melena, dolor	Estómago	Cuerpo Curvat. menor	Gastrectomía
4	40	F	Melena, dolor	Intestino delgado	Yeyuno	Yeyunectomía
5	69	F	Reflujo gastroesofágico	Estómago	antro piloro - Curvat. mayor	Gastrectomía parcial
6	32	M	Dolor abdominal	Intestino delgado	Yeyuno	Yeyunectomía
7	60	M	Melena	Estómago	Antro	Gastrectomía subtotal
8	58	F	melena	Estómago	Curvat. mayor	Gastrectomía parcial
9	64	M	Melena	Estómago	Antro	Resecc. en cuña
10	58	F	Dolor abdominal	Intestino delgado	Yeyuno	Yeyunectomía
11	60	F	Dolor abdominal	Intestino Delgado	Mesenterio	Resección de I.D. (ileon)
12	65	M	Melena	Estómago	Antro	Tumorectomía
13	55	F	Dolor	Estómago	Antro	Gastrect. Subt Esplenectomía
14	63	M	Melena	Intestino Delgado	Duodeno	Resección de I.Delgado
15	60	M	Dolor	Estómago	Curvat. menor	Gastrectomía total
16	61	F	Melena	Estómago	Antro	Gastrectomía subtotal
17	57	F	Melena	Intestino Delgado	yeyuno	Resección de Intestino Delgado
18	45	F	Melena	Cuerpo	Estómago	Tumorectomía
19	40	M	Dolor Abdominal	Intestino Delgado	Ileon	Resección de intestino delgado
20	55	M	Dolor abdominal	Estómago	Cuerpo	Gastrectomía parcial
21	42	F	Dolor abdominal	Retroperitoneo	-	Tumorectomía
22	50	F	Dolor pelviano	Retroperitoneo	-	Tumorectomía
23	72	F	Dolor abdominal	Abdomen	-	Tumorectomía
24	55	F	Dolor abdominal	Abdomen	-	Tumorectomía
25	60	F	Dolor abdominal	Intestino Delgado	Ileon (divertículo de Meckel)	Tumorectomía
26	59	M	Melena	Intestino delgado	Ileon	Resecc. Intestino Delgado
27	55	F	Dolor abdominal	Abdomen	Abdomen	Tumorectomía
28	56	F	Melena	Tumor	Cuerpo	Tumorectomía

TABLA 2 : CARACTERÍSTICAS ANATOMOPATOLÓGICAS

Caso	Nº protocolo	Procedencia	Diagnóstico Original	Tamaño	Metástasis	Grado de malignidad	Evolución	Diagnóstico final
1	41035	H. Urgencias	GIST(dif. mmsc. lisa)	6 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
2	15439	H. Urgencias	GIST	20 cm.	(-)	Bajo	Recidiva	GIST de bajo grado
3	2852	Lab. Particular	GIST	9 cm.	(+)	Alto	Mala	GIST de alto grado
4	1959	Lab. Particular	Leiomioma	6 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
5	2200	Lab. Particular	Leiomioma	2,5 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
6	9430	H. Urgencias	Sarcoma de bajo grado	15 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
7	9432	Lab. Particular	Leiomioma	5 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
8	18174	H. Urgencias	GIST (difer. mmsc. lisa)	7 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
9	125899	Lab. Particular	GIST	1 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
10	19220	H. Urgencias	GIST	12 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
11	109927	Lab. Particular	GIST	6 cm.	(-)	Bajo	Desconocida	GIST de bajo grado
12	106879	Lab. Particular	GIST	10 cm.	(-)	Alto	Mala	GIST de alto grado
13	2590	Lab. Particular	GIST	8 cm.	(-)	Bajo	Desconocida	GIST de bajo grado
14	3056	Lab. Particular	GIST	6 cm.	(+)	Alto	Recidiva	GIST de alto grado
15	39670	Lab. Particular	Tumormesenchimal	8 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
16	87701	Lab. Particular	GIST	7 cm.	(-)	Bajo	Desconocida	GIST de bajo grado
17	28273	Lab. Particular	Sarcoma alto grado	12 cm.	(-)	Alto	Mala	GIST de alto grado
18	31720	Lab. Particular	Sarcoma de bajo grado	10 cm.	(-)	Bajo	Desconocida	GIST de bajo grado
19	32477	Lab. Particular	Leiomioma	6 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
20	15640	H. Urgencias	Leiomioblastoma	4,5 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
21	2590	Lab. Particular	EGIST	10 cm.	(-)	Bajo	Recidiva	GIST de bajo grado
22	1434	Lab. Particular	EGIST	11 cm.	(-)	Bajo	Recidiva	EGIST de bajo grado
23	5284	Lab. Particular	GIST	6,5 cm.	(-)	Bajo	Desconocida	GIST de bajo grado
24	129685	Lab. Particular	GIST	1 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
25	72983	Lab. Particular	GIST	6 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
26	41411	H.Misericordia	GIST	5,5 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
27	41762	H.Misericordia	EGIST	21 cm.	(-)	Bajo	Buena	EGIST de bajo grado
28	43133	H.Misericordia	GIST	6,5 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
29	43265	H.Misericordia	GIST	8,5 cm.	(-)	Bajo	Buena	GIST de bajo grado
30	45321	H.Misericordia	GIST	28 cm.	(-)	Alto	Desconocida	GIST de alto grado

29	60	F	Dolor abdominal	Intestino delgado	Ileon	Tumorectomía
30	72	F	Tumor	Abdomen	Abdomen	Tumorectomía

FICHA DE REGISTRO DE LOS GISTs ESTUDIADOS

Caso N°:

Protocolo N°:

Edad /sexo:

Síntesis clínica:

Tamaño tumoral / localización:

Crecimiento tumoral (expansivo o infiltrante)

Índice Mitótico/50 cga.:

Infiltración serosa:

Tipo celular/Patrón de crecimiento:

Necrosis/Hemorragia:

Inmunofenotipo:

Recurrencia o metástasis:

Patología asociada:

Evolución clínica:

CAPITULO III

RESULTADOS

Del total de 30 casos de GISTs correspondientes a pacientes de ambos sexos estudiados en este trabajo y con el objetivo de analizar las características anatomopatológicas macroscópicas y microscópicas y la sintomatología clínica, se observó el comportamiento de los mismos teniendo en cuenta diferentes variables. Estas se presentaron en forma secuencial y para su mejor comprensión se exhiben en módulos, de acuerdo a los diferentes parámetros seleccionados para el diseño estudiado.

En este grupo de pacientes estudiados se observó que la aparición de los GISTs se distribuyó de acuerdo a la edad de la siguiente manera (Figura 9)

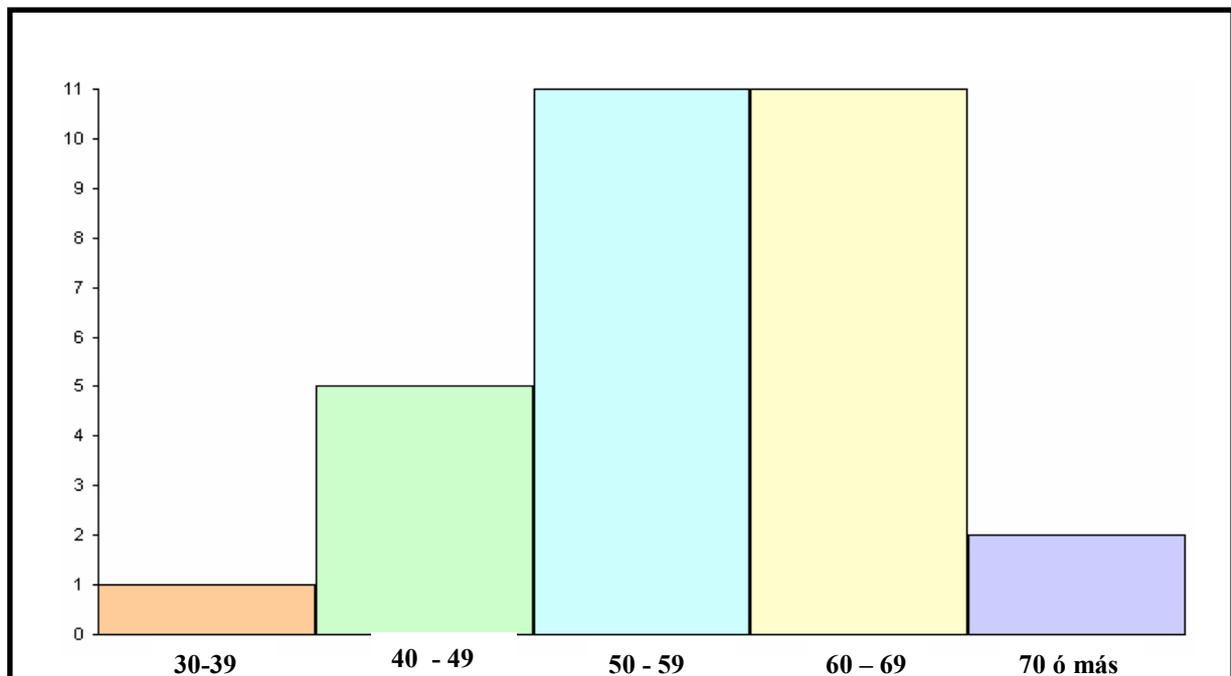


Figura 9: GISTs. Distribución etaria de los casos estudiados.

Cuando se tuvo en cuenta el género en el grupo etario comprendido entre los 30 y 39 años, la distribución fue la siguiente (Figura 10).

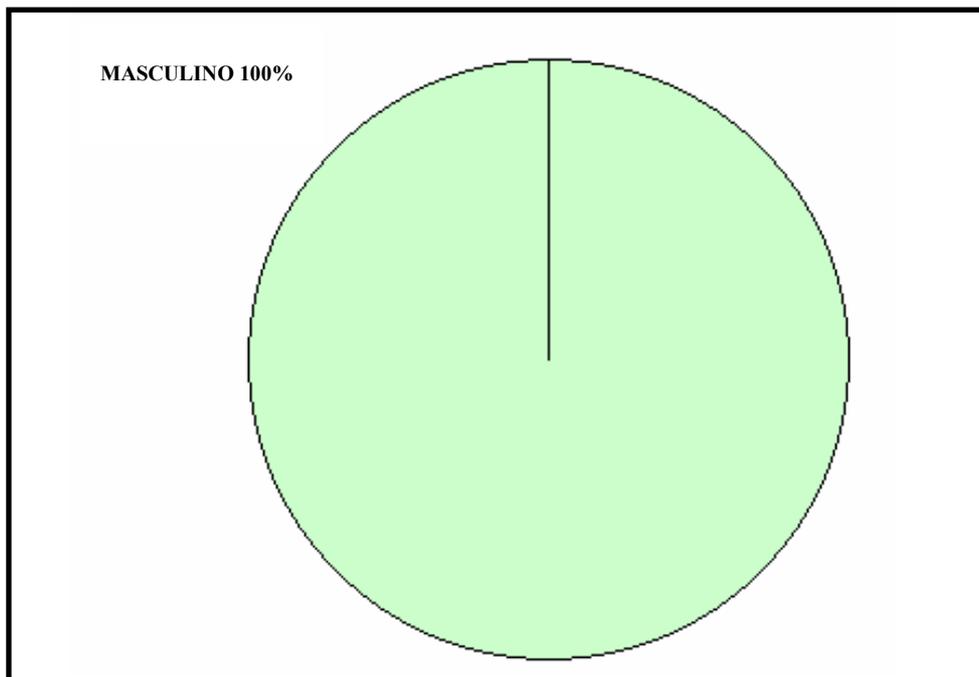


Figura 10: GISTs. Incidencia según el género del grupo etario de 30 a 39 años.

En relación a la sintomatología clínica, la forma de presentación fue el dolor abdominal (Figura 11).

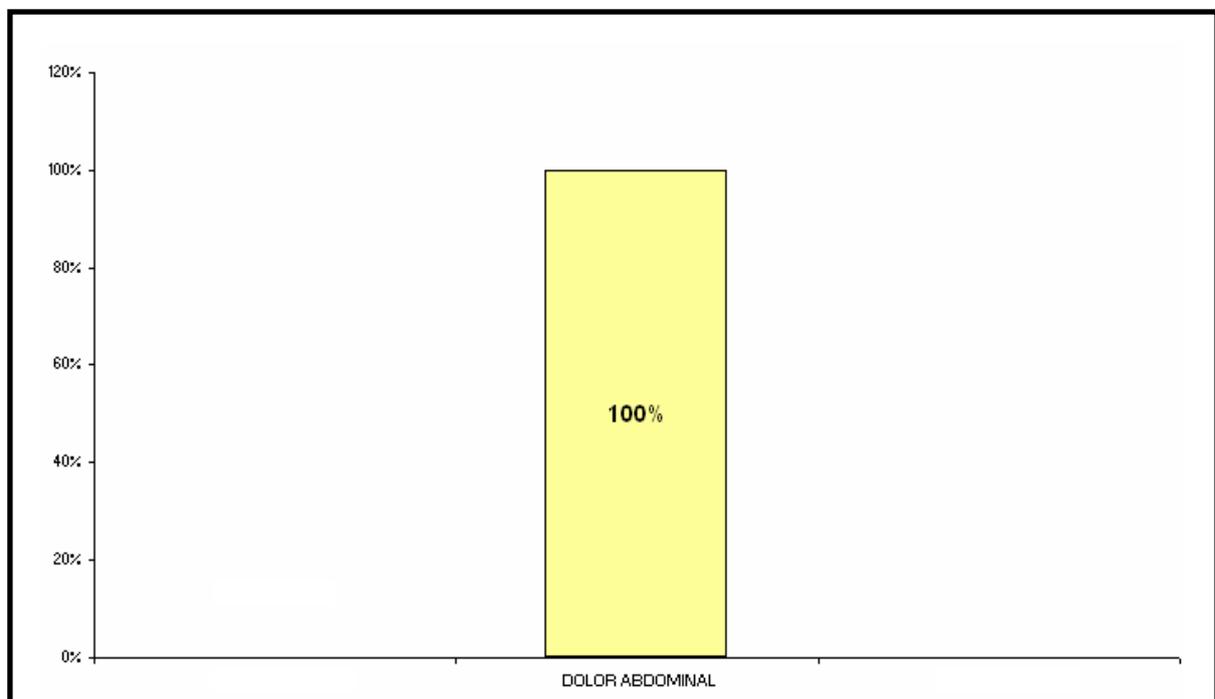


Figura 11: GISTs. Sintomatología clínica en el grupo etario de 30 a 39 años.

En referencia a la topografía o distribución anatómica, la misma fue exclusivamente en intestino delgado (yeyuno). (Figura 12).

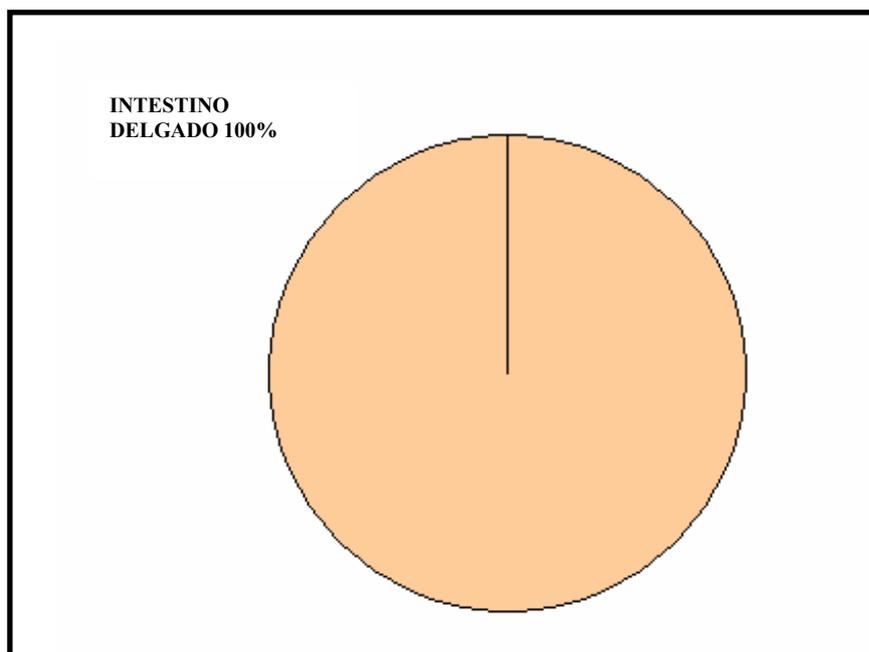


Figura 12: GISTs. Distribución anatómica en el grupo etario de 30 a 39 años.

La anatomía patológica del yeyuno resecado reveló un tumor mayor de 5 centímetros (Figura 13), con predominio de necrosis tisular, escasa hemorragia, ulceración de la mucosa, cistificación, compromiso seroso y extraparietal en la misma proporción.



Figura 13: GISTs. Vista macroscópica en el grupo entre 30-39 años. Se observa un tumor de yeyuno, mayor de 5 cm. de diámetro, con superficie externa lobulada y compromiso seroso.

Histológicamente (Figura 14) se observó una proliferación celular de tipo epitelioide bien diferenciada, inmersa en un estroma fibroso denso hialinizado.

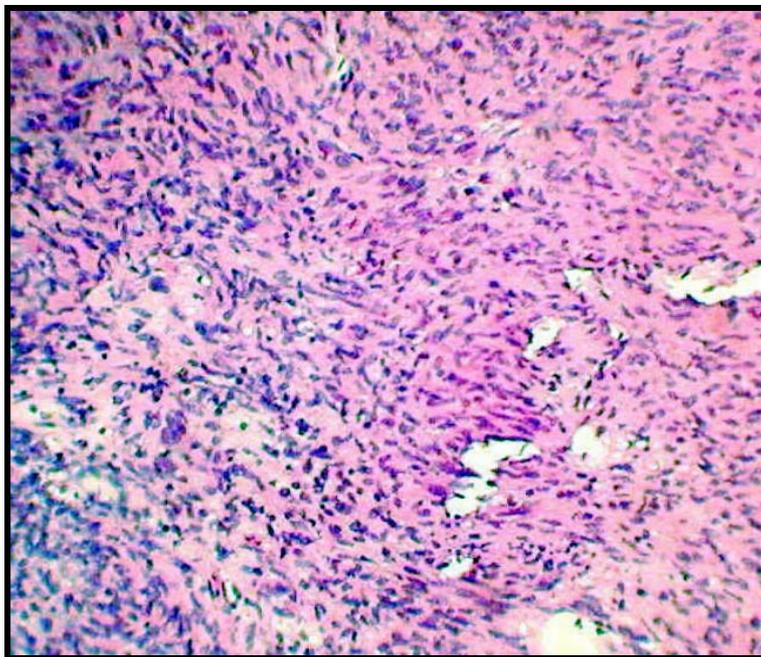


Figura 14: GISTs. Vista microscópica en el grupo entre 30-39 años. Se observa una proliferación celular de tipo epitelioide inmersa en un estroma hialinizado. H&E 10 X.

El grupo de pacientes entre 40 a 49 años, correspondieron al 20 % del total de los casos estudiados, con predominio del sexo femenino (Figura 15), lo cual demostró una

diferencia significativa con respecto al grupo anterior, teniendo en cuenta la frecuencia ($p < 0,001$) de aparición de dichos tumores.

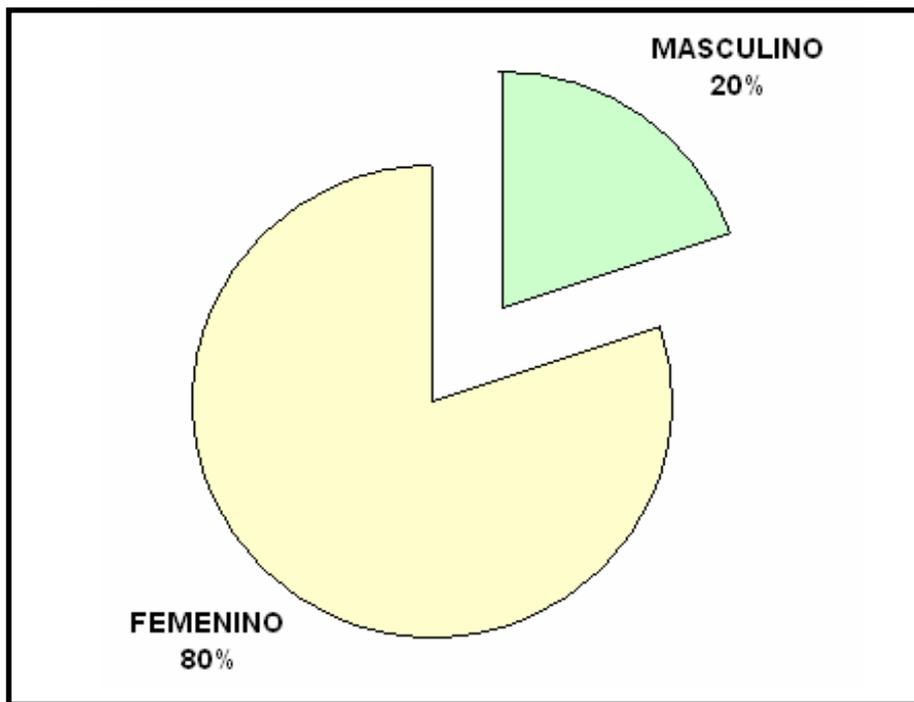


Figura 15: GISTs. Incidencia según el género en el grupo etario de 40 a 49 años.

Si bien la sintomatología clínica no es específica de este tipo de patología (Figura 16), el 80 % de los pacientes habían consultado por dolor abdominal y un 40 % por la aparición de melena.

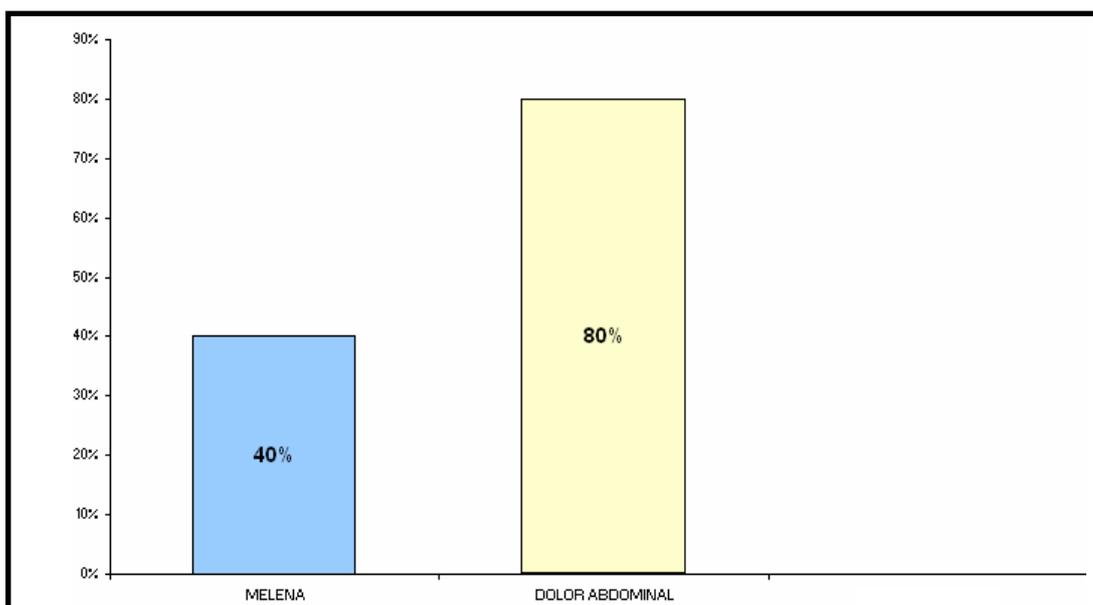


Figura 16: GISTs. Sintomatología clínica en el grupo etario de 40 a 49 años.

En este grupo de pacientes el órgano afectado fue en un 60 % el intestino delgado, 20 % estómago y en un 20 % la enfermedad se manifestó en la cavidad abdominal (Figura 17).

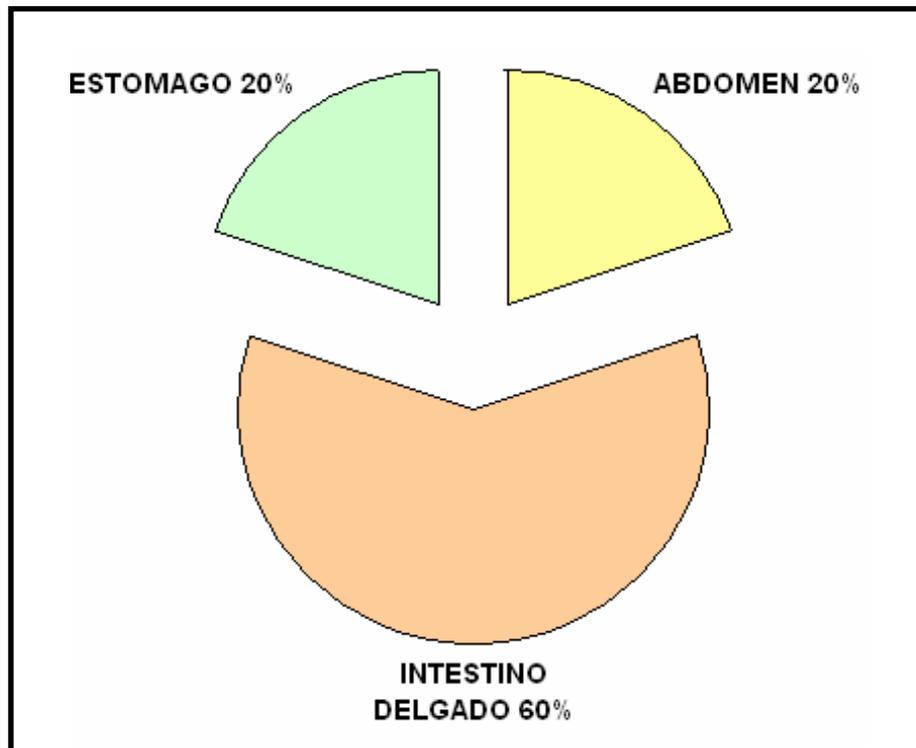


Figura 17: GISTs. Distribución en el tracto digestivo y cavidad abdominal en el grupo etario de 40 a 49 años.

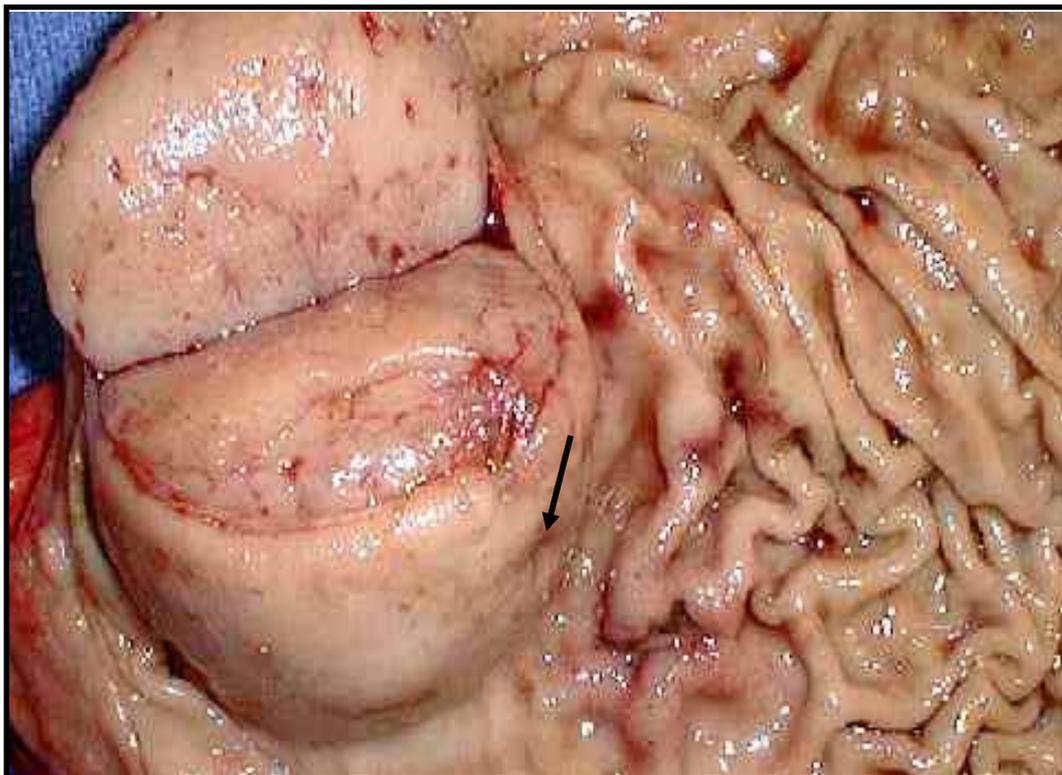


Figura 18: GISTs Vista macroscópica de un tumor localizado en estómago, próximo a curvatura mayor, de crecimiento exofítico, intraparietal y mucosa ulcerada (flecha).

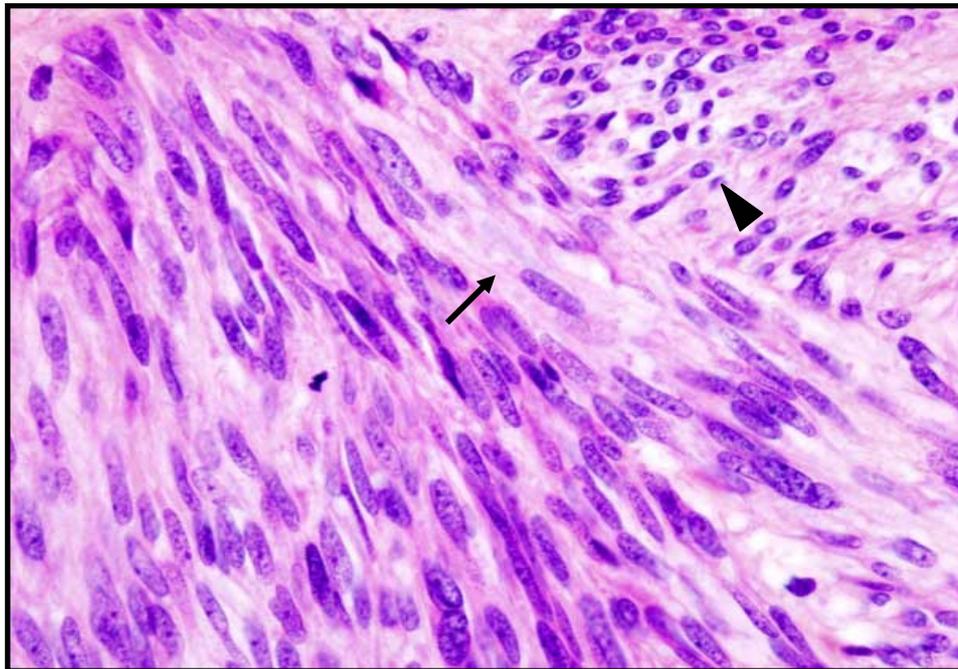


Figura 19: GISTs. Vista microscópica de una proliferación fusocelular con núcleos alargados de extremos romos o en "habano" (flecha), que alternan con células de aspecto epitelioide (punta de flecha). H&E 100 X.

Las edades comprendidas entre 50 y 59 años presentaron este tipo de tumores del estroma en un 36,66 % del total de la casuística. Con respecto al género (Figura 20), se observó una diferencia estadísticamente significativa del sexo femenino (73,73 %) con respecto al sexo masculino (27,27 %) ($p < 0.001$).

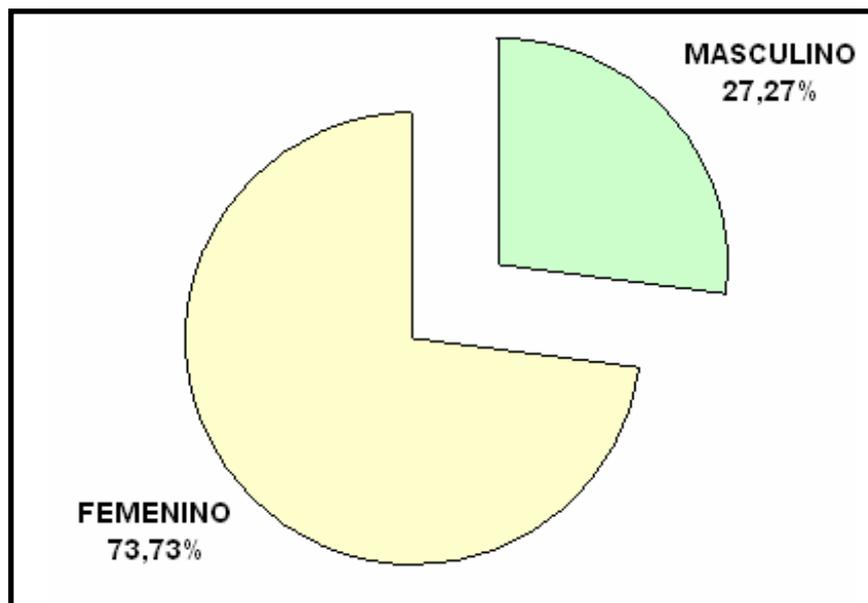


Figura 20: GISTs. Incidencia según el género del grupo etario de 50 a 59 años

En cuanto a los síntomas (Figura 21) este grupo presentó un 54,54 % melena, un 45,45 % dolor abdominal y un 18,18 % hematemesis.

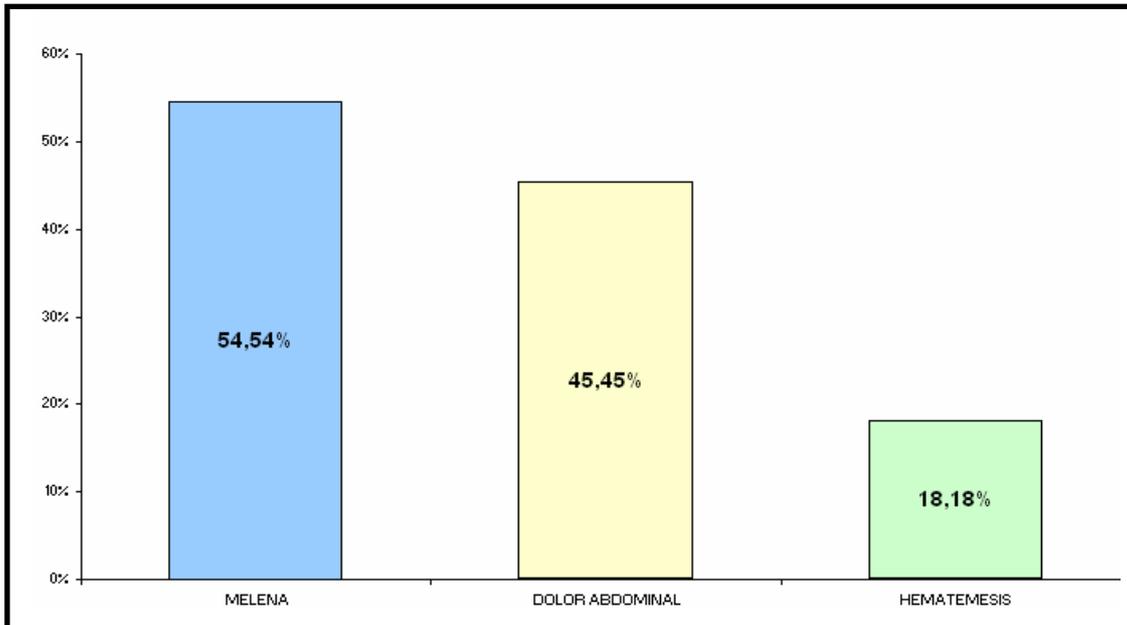


Figura 21: GISTs. Sintomatología clínica en el grupo etario de 50 a 59 años.

La distribución anatómica en este grupo etario fue la siguiente (Figura 22):

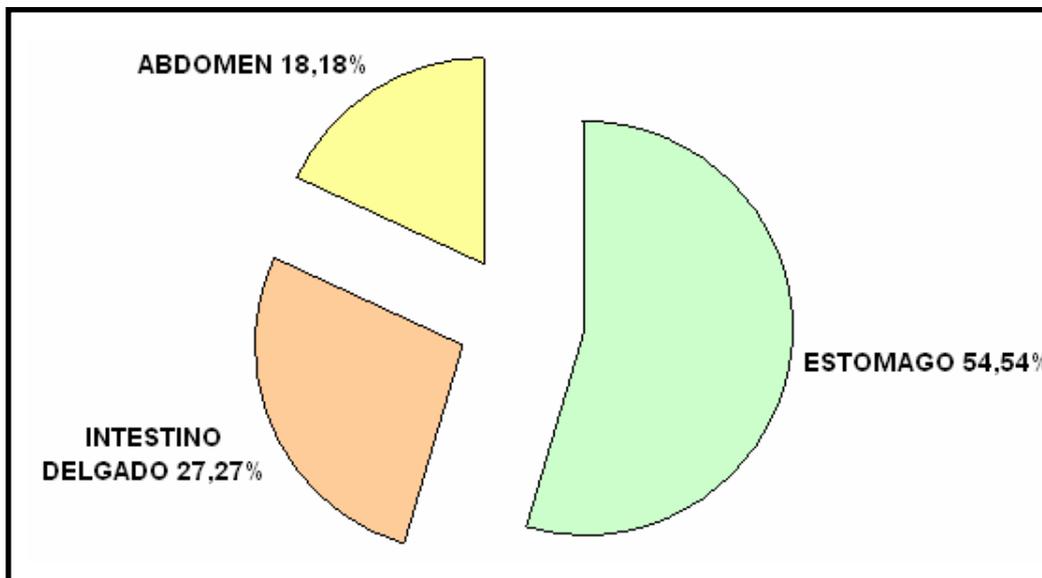


Figura 22: GISTs. Distribución anatómica en el grupo etario de 50 a 59 años.

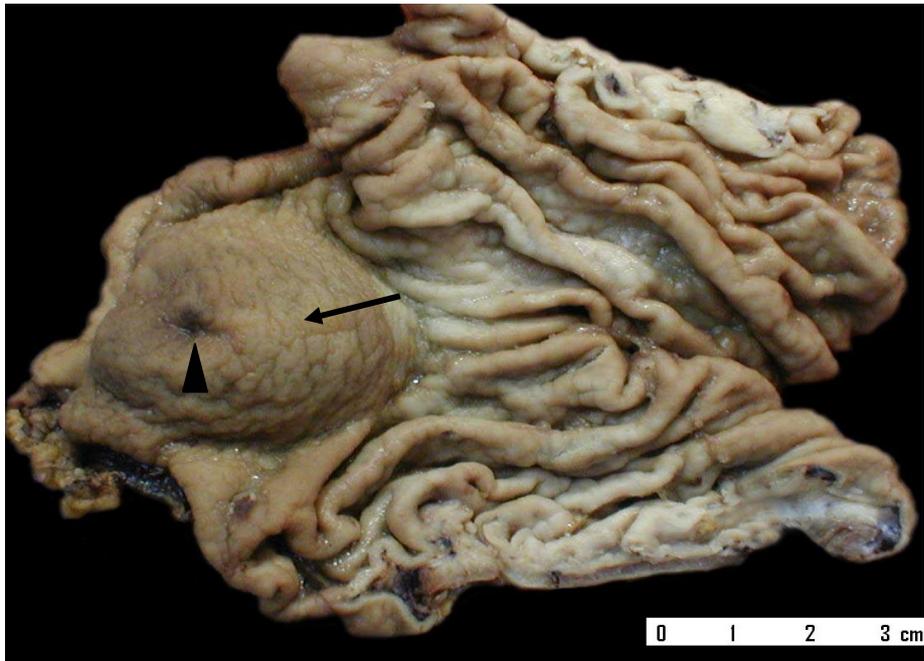


Figura 23: GISTs. Vista macroscópica de un tumor de estómago localizado en el antro gástrico, de crecimiento exofítico (flecha) y ulceración mucosa (punta de flecha).



Figura 24: GISTs. Vista macroscópica superficie de corte del tumor anterior, bien delimitado, con extensos focos de necrosis (punta de flecha).

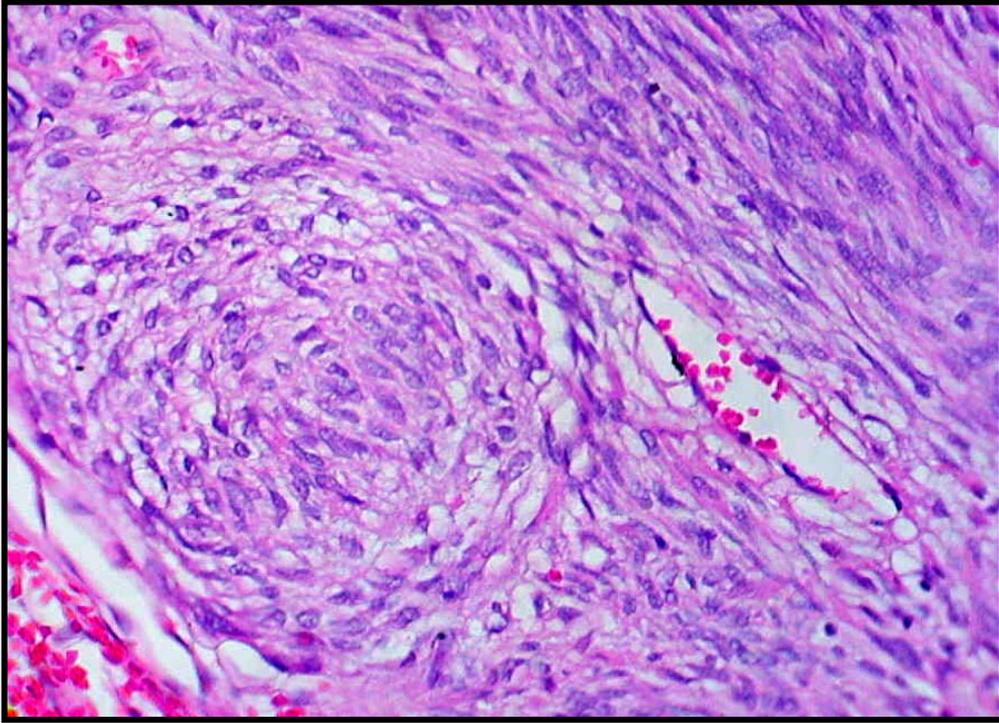


Figura 25: GISTs. Vista microscópica correspondiente al caso anterior, con predominio del patrón fusocelular. H&E 40 X.

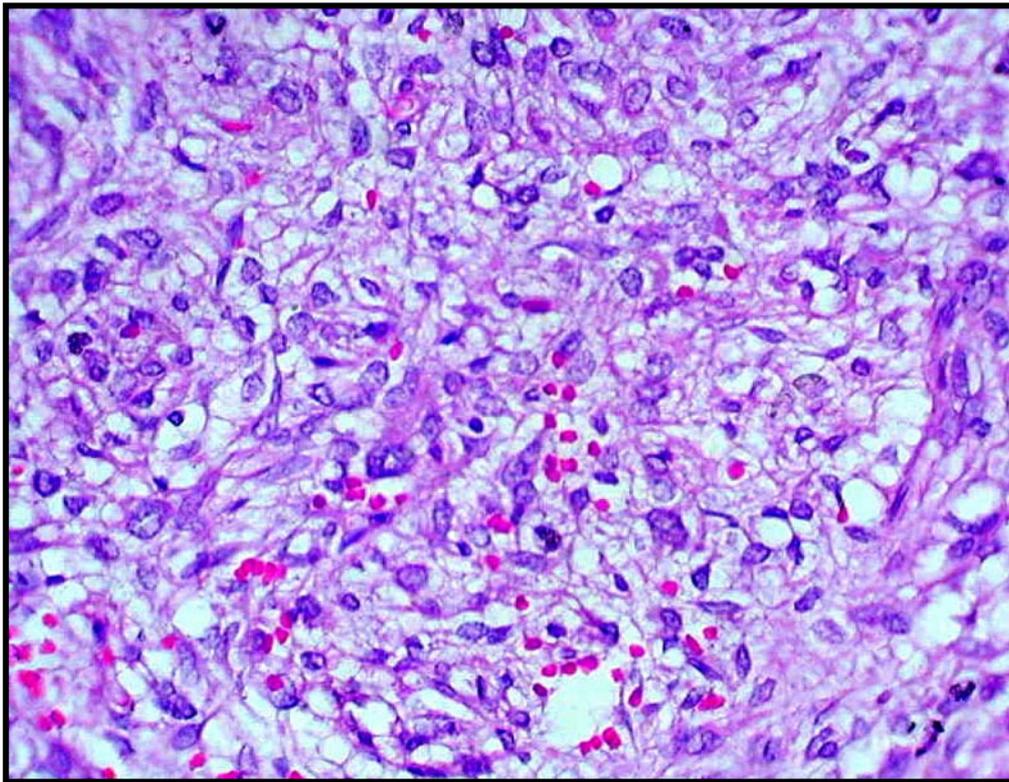


Figura 26: GISTs. Otra vista microscópica del caso anterior, con predominio de células de aspecto epitelioide. H&E 40 X.

Con respecto al grupo de 60 a 69 años, se observó la siguiente distribución por sexo (Figura 27):

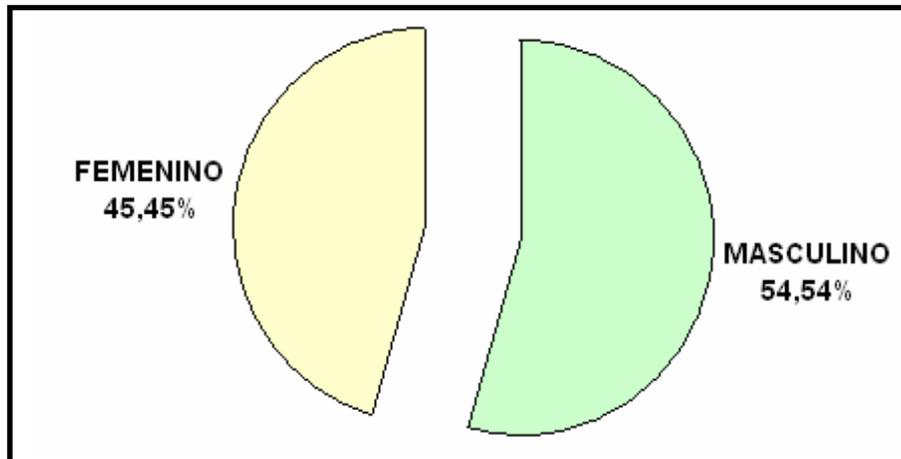


Figura 27: GISTs. Incidencia según el género del grupo etario de 60 a 69 años

Mientras que en la siguiente (Figura 28), es posible apreciar la sintomatología clínica que presentaron los pacientes correspondientes a este grupo:

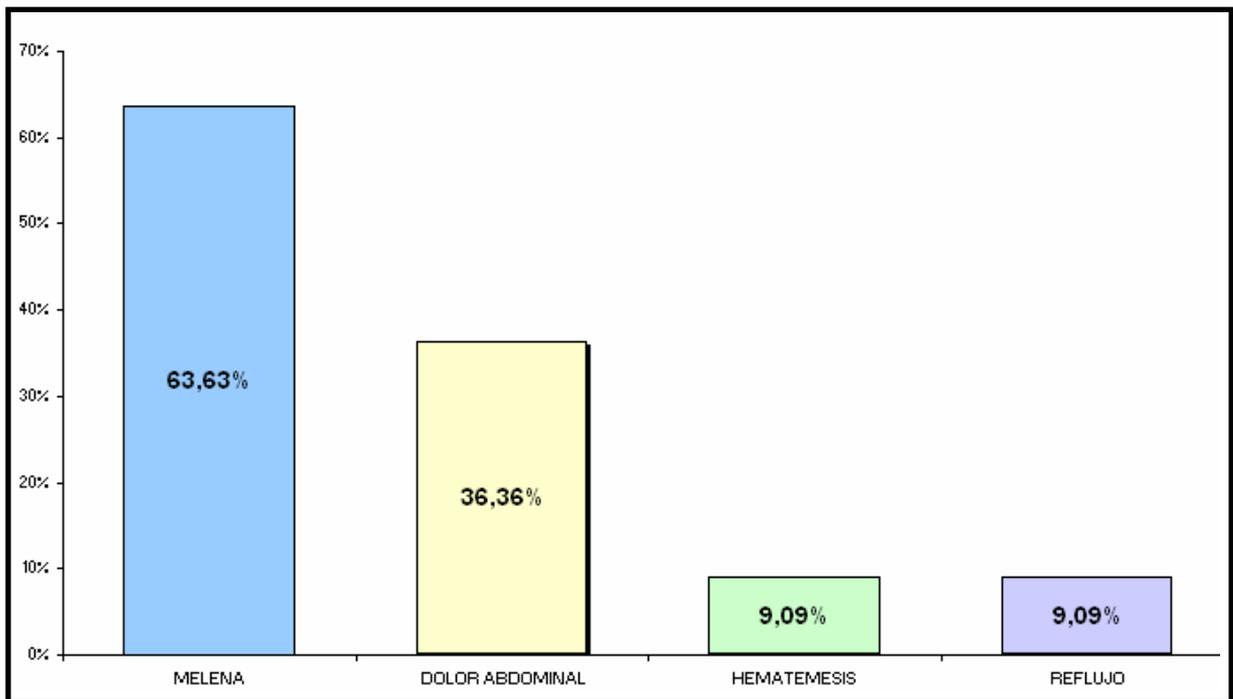


Figura 28: GISTs. Sintomatología clínica en el grupo etario de 60 a 69 años.

Con respecto al sitio anatómico de presentación en el grupo de 60-69 años (Figura 29), se observó la siguiente distribución:

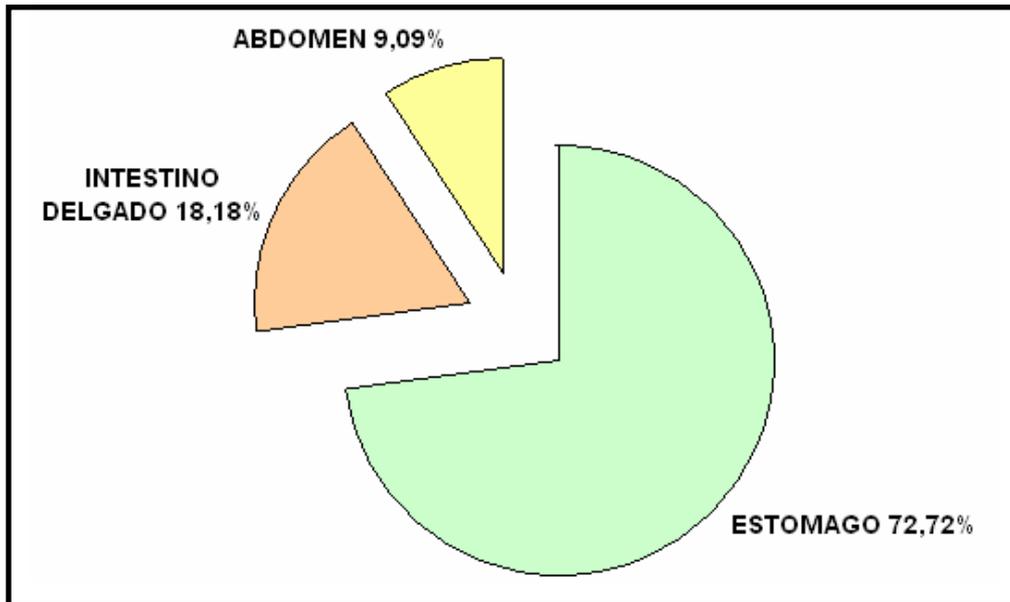


Figura 29: GISTs. Distribución anatómica en el grupo etario de 60 a 69 años.

El grupo de pacientes de 70 o más años, representaron el 6.99 % del total de los casos estudiados, con predominio del sexo femenino (Figura 30). En relación a la sintomatología clínica el 50 % se presentó con melena, y similares porcentajes fueron obtenidos para dolor abdominal y hematemesis (Figura 31). El órgano afectado fue en un 50 % el estómago y el 50% restante abdomen (Figura 32).

Es de destacar que uno de los casos pertenecientes a este grupo, de localización abdominal (retroperitoneal), reveló macroscópicamente áreas de aspecto mucoide (Figura 33). Histológicamente, se comprobó la presencia de células fusadas y epitelioides inmersas en un estroma mixoide, con la presencia de fibras eskenoides, es decir colágeno en forma de “madeja” (Figura 34).



FEMENINO
100%

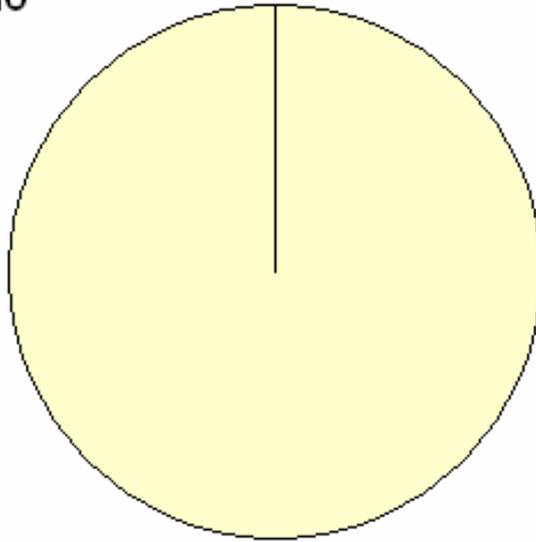


Figura 30: GISTs. Incidencia según el género en el grupo etario de 70 años o más.

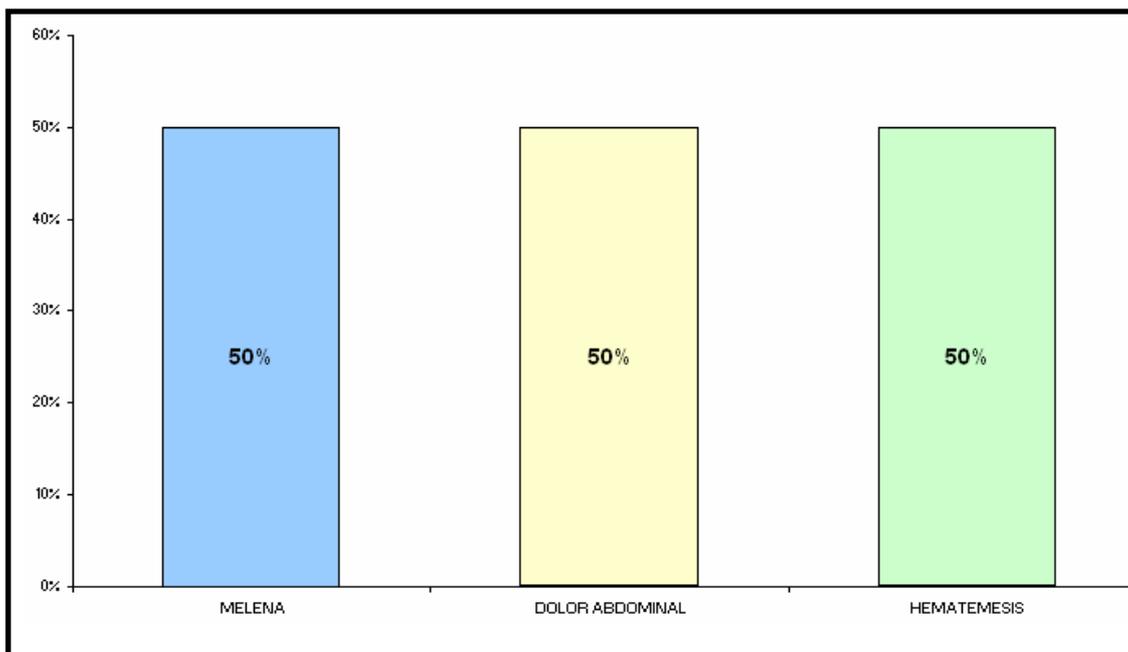


Figura 31: GISTs. Sintomatología clínica en el grupo etario de 70 años o más.



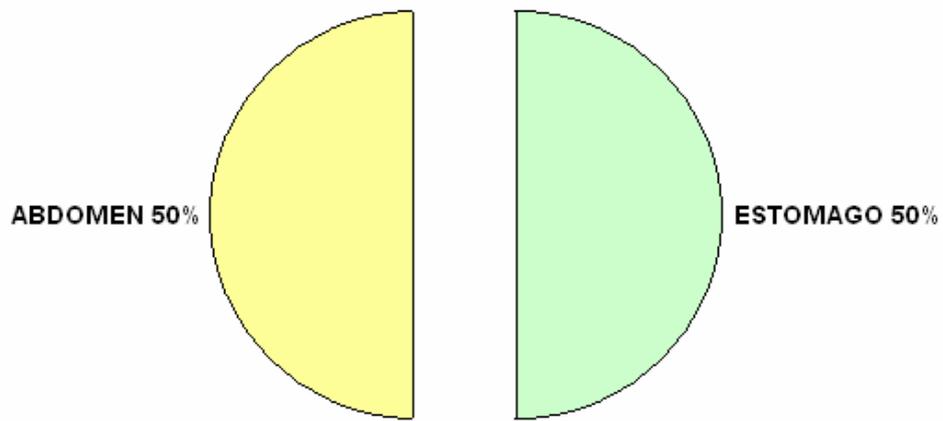


Figura 32: GISTs. Distribución topográfica en el grupo etario de 70 años o más.



Figura 33: GISTs. Vista macroscópica de un tumor de localización retroperitoneal, con superficie externa lobulada (flecha). Al corte es sólido, blanquecino y multinodular, con áreas de aspecto mucoide (punta de flecha).

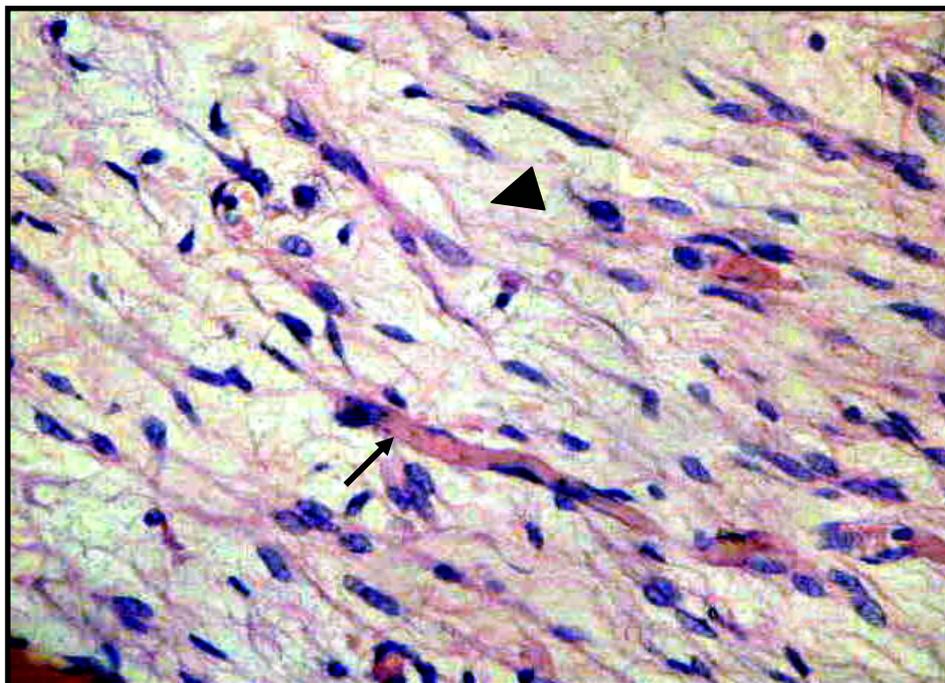


Figura 34: GIST Vista microscópica en el grupo de 70 años o más. Se observa una proliferación fusocelular y epitelioides, con matriz mixoide (punta de flecha). Además, la presencia de fibras eskenoides (flecha). H&E 40 X.

PERFIL INMUNOHISTOQUÍMICO

En los 30 casos estudiados se realizó el siguiente panel inmunohistoquímico: Vimentina, CD-34, CD-117, Actina de músculo liso (SMA) y S-100, obteniendo los siguientes resultados:

Grupos	Vimentina	CD34	CD117	SMA-	S-100
30-39 años	100% positivo	100% positivo	100% positivo	Negativo	Negativo
40-49 años	100% positivo	80 % positivo	80 % positivo	10 %	Negativo
50-59 años	100 % positivo	90 % positivo	90 % positivo	Negativo	Negativo
60-69 años	100 % positivo	100 % positivo	100 % positivo	Negativo	Negativo
70 ó más	100 % positivo	100 % positivo	100 % positivo	Negativo	Negativo

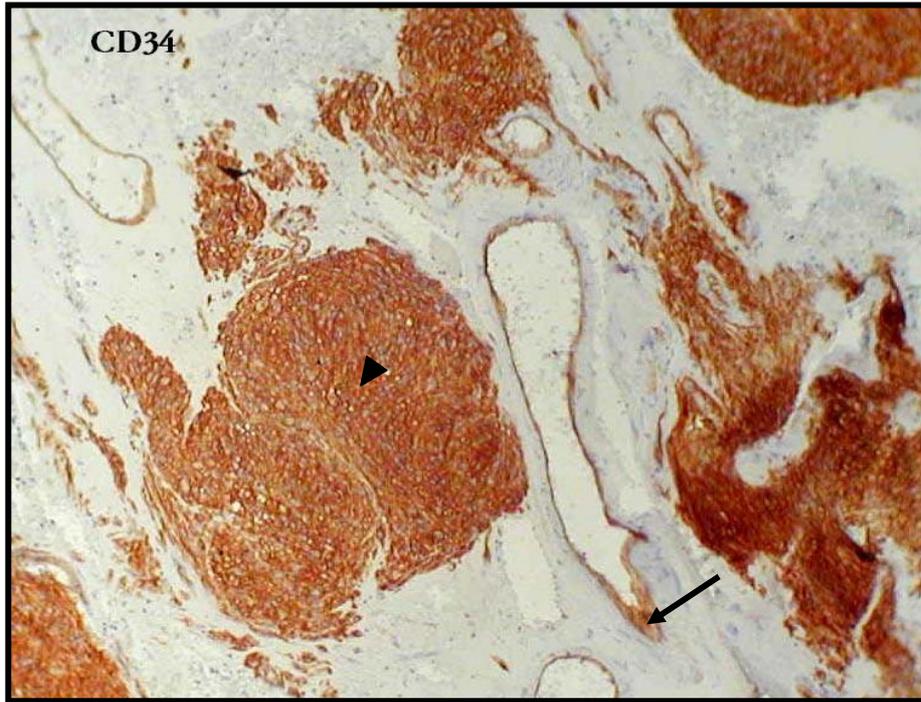


Figura 35: GIST. Vista microscópica: Tinción inmunohistoquímica CD-34. Se observa fuerte positividad de las células tumorales (punta de flecha). La tinción + en la pared vascular (flecha) sirve como control. CD-34 100 X.

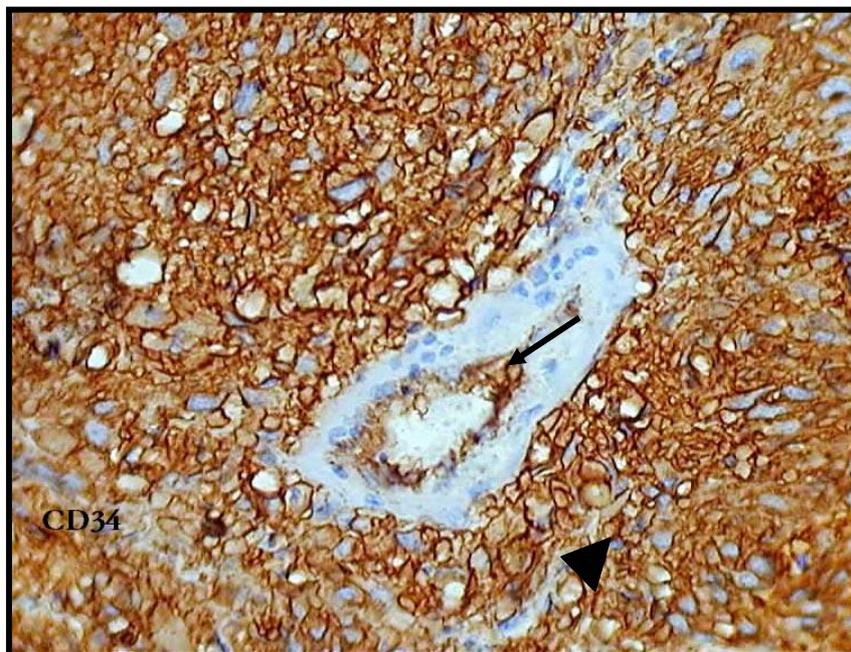


Figura 36: GIST. Vista microscópica: Tinción inmunohistoquímica con CD-34. Se observa fuerte positividad de las células tumorales (punta de flecha), con un reforzamiento del límite celular.. La tinción + en la pared (flecha) del vaso central sirve como control. CD-34 400 X.



Figura 37: GIST. Vista microscópica: Tinción inmunohistoquímica CD-34. Se observa fuerte positividad (punta de flecha) con un reforzamiento del límite celular. Obsérvese la disposición perivascular (flecha) de las células tumorales. CD-34 400 X

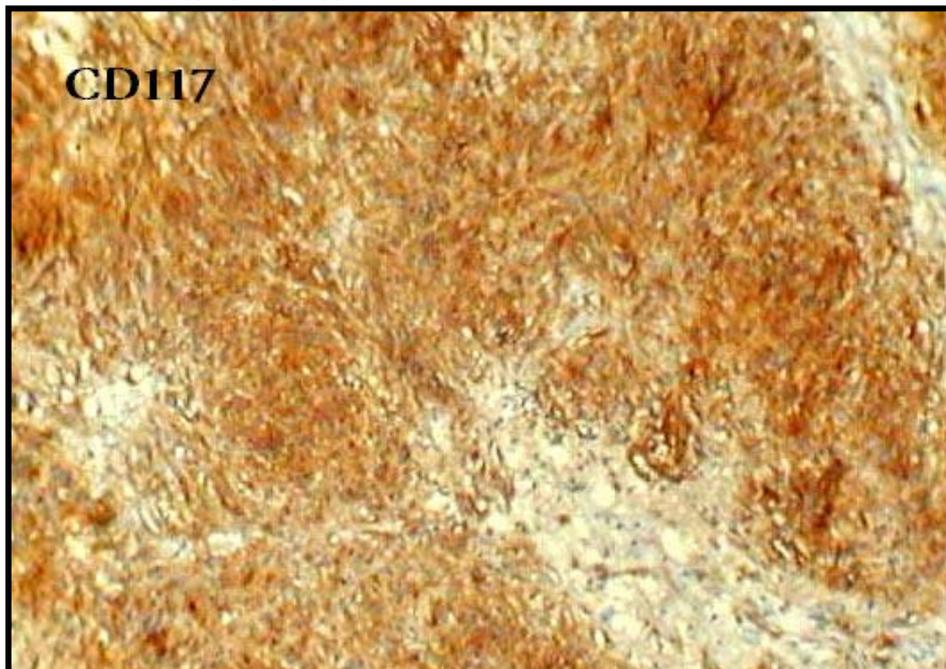


Figura 38: GIST. Vista microscópica: Tinción inmunohistoquímica CD-117. Se observa proliferación fusocelular con intensa positividad de las células tumorales. CD-117 40 X

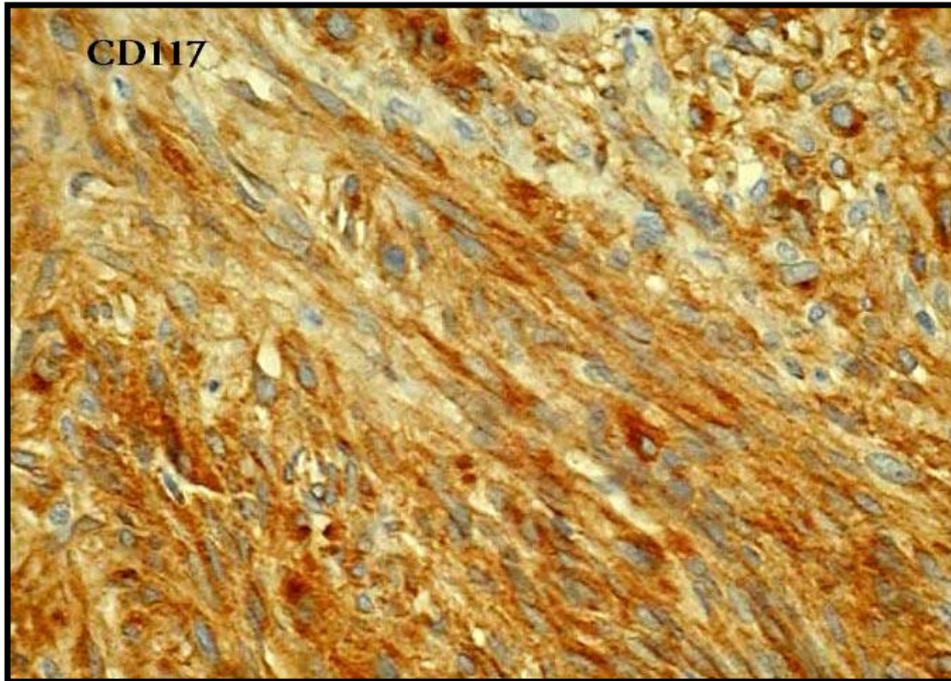


Figura 39: GIST. Vista microscópica: Tinción inmunohistoquímica CD-117. Vista a mayor aumento del caso anterior. CD-117 40 X.

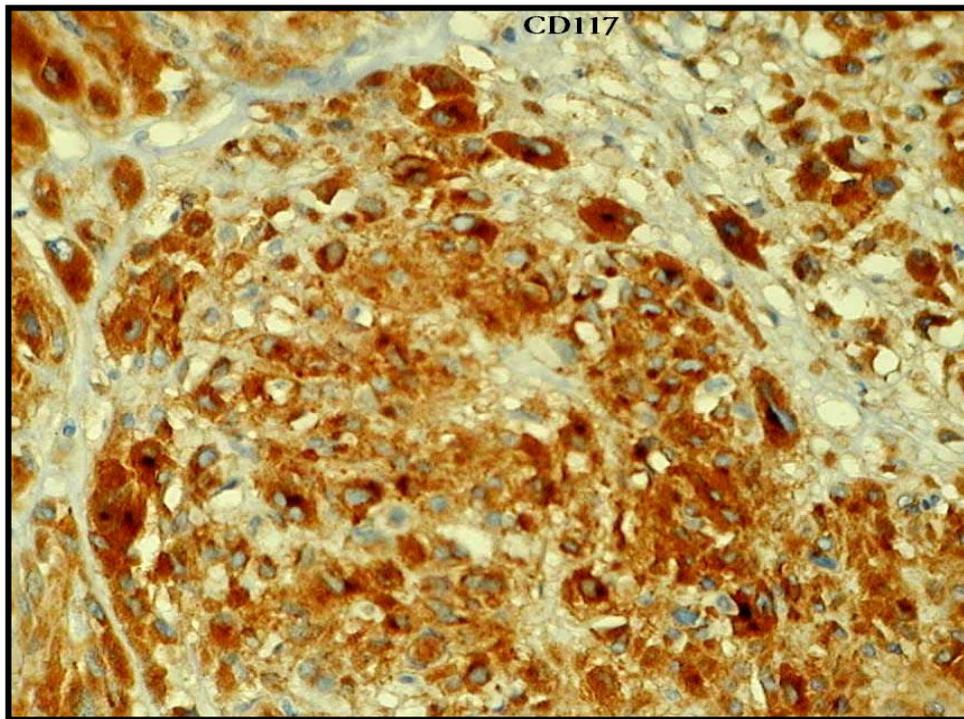


Figura 40: GIST. Vista microscópica: Tinción inmunohistoquímica CD-117. Patrón de tinción: citoplasmático. CD-117 40 X.

CAPITULO IV

DISCUSION

Se analizaron los resultados obtenidos teniendo en cuenta variables demográficas, como edad y sexo en función de los síntomas clínicos y las lesiones anatomopatológicas encontradas. Posteriormente, se describió la asociación entre las características mencionadas y el perfil inmunohistoquímico, determinado por los antígenos CD-117 (c-kit, receptor de tirosin-quinasa), CD-34 y vimentina, que apoyan su origen en las células intersticiales de Cajal.

El grupo de pacientes entre 40 a 49 años, correspondieron al 16,66% del total de los casos estudiados, con predominio del sexo femenino, lo cual demostró una diferencia significativa (30 a 39 años), teniendo en cuenta la frecuencia ($p < 0,001$) de aparición de dichos tumores.

En el grupo de pacientes de 50 a 59 años, cuando el órgano afectado fue el intestino delgado, la ubicación por sectores anatómicos se distribuyeron específicamente de la siguiente manera: 20 % localizados en yeyuno y el 80 % en ileon, mostrando una diferencia estadísticamente significativa de localización de los mismos en esta última porción mencionada ($p < 0.001$). Las lesiones tumorales ubicadas a nivel del estómago se localizaron preferentemente en el cuerpo y el reseado del abdomen fue de localización retroperitoneal. Todos fueron tratados con la resección quirúrgica correspondiente: duodenectomía, yeyunectomía, ilectomía y tumorectomía. En este grupo, los estudios anatomopatológicos demostraron que el tamaño tumoral era mayor de 5 cm. en el 80 % de los casos y un 20% presentó un área menor de 5 cm, mostrando una diferencia estadísticamente significativa entre el área tumoral ($p < 0.001$). El 40 % de los tumores presentó necrosis/hemorragia, un 40 % no presentó este tipo de alteraciones macroscópicas ni microscópicas y solamente el 20 % evidenció exclusivamente necrosis. A estas lesiones se asociaron sólo en un 20 % ulceración de la mucosa y en un 80 % no se constató dicha lesión. Además, el 60 % presentó cistificación sobreagregada y en un 40 % esta característica anatomopatológica no se evidenció en los preparados. Un 60 % de los cortes demostró solamente un compromiso seroso; en un 20 % se observó una combinación seroso/extraparietal y en otro 20% no mostró ni afectación serosa ni extraparietal. Histológicamente el 20 % de los casos reveló una proliferación fusocelular, 20 % fue de tipo epiteloide y el 60 % restante de tipo mixto. En este grupo

de pacientes el órgano más frecuentemente comprometido fue el estómago (54,54 %) de los cuales el 33,33 % se diagnosticaron en el antro, el 16,16 % en el cuerpo y el otro 33,33 % en la curvatura mayor del estómago. De los otros tumores resecados, el 18,18 % se localizaron en yeyuno, el 9,09 en íleon y el 9,09 en retroperitoneo. Estos resultados demuestran una diferencia estadísticamente significativa a predominio de estómago comparados con la localización intestinal ($p < 0,001$), estos resultados observados en relación a la ubicación en la pared del tubo digestivo concuerdan con otros estudios similares publicados (25, 101, 129, 138).

Dado que el tratamiento es quirúrgico, todos fueron tratados con la resección de los mismos de acuerdo al órgano afectado.

El tamaño tumoral fue en el 63,63 % de los casos mayor a 5 cm. y en el 36,36 % el área tumoral fue menor a 5 cm., presentando un predominio estadísticamente significativo de los tumores de mayor tamaño ($p < 0,001$). Con respecto a las lesiones histopatológicas macro y microscópicas, se observó un 27,27 % de necrosis en los distintos tumores resecados, un 18,18 % no presentó ni necrosis ni hemorragia a la visualización. Cabe destacar que la misma proporción 18,18%, presentó necrosis significativa con respecto a la hemorragia. En tanto que otros mostraron 9,09 % de lesiones hemorrágicas a predominio sobre la necrosis y otro 27,27 % no presentaron necrosis ni hemorragia tumoral. Asociados a estos cambios anatomopatológicos, se evidenció en un 63,63 % ulceración mucosa, en tanto que un 36,36 % no presentó este tipo de lesión.. La cistificación del tumor se observó en un 50 % de los casos estudiados y en un 45,45 % se asoció a compromiso seroso únicamente, en un 18,18 % implicó a la capa serosa y a la zona extraparietal y en un 36,36 % no se evidenciaron estos cambios anatomopatológicos.

Histológicamente el 40 % de los casos reveló una proliferación fusocelular, 20 % fue de tipo epitelioide y el 40 % restante de tipo mixto.

Similar número de casos presentó el grupo entre 60 a 69 años comparado con el rango 50-59, observándose que la aparición y distribución de este tipo de tumores del estroma gastrointestinal coincide con las distribuciones etarias de otros trabajos publicados (24, 101, 134, 138). Por el contrario, la patología se expresó en un 54,54 % para el sexo masculino, mientras que para el femenino fue del 45,45 %. Con respecto a las características clínicas se observaron los siguientes resultados: 63,63% consultaron

por melena, de los cuales el 9.09% presentó además hematemesis, en el 36.36% de los pacientes el motivo de consulta fue dolor abdominal y por último el 9,09 demandando atención médica por reflujo.

Cuando se analizó la ubicación de los GISTs en este grupo de pacientes, se observa que la mayor frecuencia de localización anatómica es el estómago (72.72%), siendo el antro gástrico el sector comprometido en mayor proporción: 27.27%. Por otra parte, tanto en la curvatura menor como en el cuerpo del estómago la frecuencia de aparición de estas lesiones fue similar: 18.18%. Por último, en la curvatura mayor solo se diagnosticaron un 9.09 % de los casos de GISTs.

Cuando se compara la ubicación en estómago (72.72 %), con respecto a la localización en intestino (18.19%), teniendo en cuenta que el único caso estudiado afectaba el duodeno, hace que la diferencia de ubicación anatómica sea estadísticamente significativa ($p < 0.001$). Lo mismo sucede cuando se compara el estómago con el retroperitoneo, el que solo estaba comprometido en un 18.18% del total de los casos de este grupo.

Al igual que en los otros grupos, el tratamiento fue la resección quirúrgica, dependiendo del sector gastrointestinal afectado.

Al analizar los resultados anatomopatológicos, se observa que en este grupo el tamaño del tumor presentó un 50% para áreas tumorales menores a 5 cm como así también para los mayores a 5 cm, es decir no fue un dato significativo, pero si fue significativa la diferencia entre las lesiones necróticas/hemorrágicas que se observaron en un 54.54%, en relación a las que solo presentaron necrosis (9.09 %) y con respecto a las que no evidenciaron este tipo de lesión (36.36%). ($p < 0.001$).

Teniendo en cuenta los criterios de Amin y colab. (1), basados en el tamaño tumoral e índice mitótico, en los tumores pertenecientes a nuestra serie: 10 (33,33%) fueron considerados como benignos, 18 (60%) de tipo borderline y 2 (6,66 %) reunían criterios morfológicos indicativos de malignidad.

Conociendo el hecho que son necesarios estudios más completos que permitan arribar al conocimiento cabal de estas neoplasias, los GISTs fueron clasificados en cuatro categorías mayores, sobre la base de su fenotipo (176):

1. Tumores fusocelulares, que muestran una diferenciación hacia células musculares lisas, evidenciados inmunohistoquímicamente por la expresión de actina de músculo liso, desmina, calponina y/o miosina y ultraestructuralmente por vesículas picnóticas, microfilamentos con densidad focal (76, 94, 116, 128, 188, 222, 233) y presencia de numerosas mitocondrias como una característica adicional (239). Estos tumores constituyen la categoría más frecuente. Teóricamente, ellos podrían originarse de la capa muscular propia, de la muscularis mucosae, o de las fibras musculares que se hallan relacionadas con la pared vascular (177).

2. Tumores que revelan una diferenciación aparente hacia elementos neurales, principalmente determinados por la presencia al examen ultraestructural de características tipo neurona, tales como procesos citoplasmáticos amplios simulando axones, microtúbulos consistentes con neurotúbulos y gránulos electrodensos de tipo neurosecretorio. Estas características han sido comparadas a aquellas observadas en las células neurales de los plexos mioentéricos y los tumores consecuentemente designados como del sistema nervioso autónomo gastrointestinal (GANT), de los plexos mioentéricos o plexosarcomas (72, 102, 166, 232).

Estas neoplasias, las cuales por definición carecen de marcadores de diferenciación muscular lisa, constituyen el segundo gran grupo de los GISTs.

3. Tumores que exhiben una diferenciación dual, hacia células musculares y elementos neurales. Constituyen los miembros menos comunes de esta familia de neoplasias (176).

4. Tumores con falta de diferenciación hacia uno u otro tipo celular (muscular o neural), aún después de un exhaustivo examen ultraestructural e inmunohistoquímico. Algunos autores utilizan el término GISTs en un sentido más restringido, solamente para este grupo en particular, el cual es casi tan inusual como el tipo anteriormente descrito (88).

Dicha clasificación ha sido abandonada en la actualidad, porque consideraba a todas las neoplasias con diferenciación neural, dual o sin diferenciación, como malignas o potencialmente malignas y porque no contemplaba la histogénesis de los GISTs (159).

Algunos GISTs eran claramente identificables como de naturaleza muscular lisa al examen histológico con Hematoxilina-Eosina (H&E) y eran similares en apariencia a sus contrapartes de útero, esófago, recto y en otros sitios. Sin embargo, muchas veces, era particularmente dificultosa la inclusión, desde el punto de vista de la M.O y con las coloraciones de rutina, en cualquiera de las categorías anteriormente citadas (178).

Los tumores que exhibían células fusadas, con citoplasma fibrilar acidófilo y presencia de vacuolas citoplasmáticas paranucleares, sugerían una diferenciación muscular lisa. Una apariencia epitelioides estaba casi invariablemente asociada a este tipo de diferenciación, pero ocurrían excepciones. Esta morfología particular es definida por la presencia de células redondas o poligonales con núcleo central y un citoplasma habitualmente abundante claro o acidófilo (28, 169, 202, 207), que ha sido interpretado como un artefacto de fijación (188).

Es de gran importancia clínica establecer las características de malignidad en los GISTs ateniendo al grado de diferenciación (53). Todos los tumores incluidos en la categoría 2 (neurales) son considerados malignos, aunque contengan numerosas fibras eskenoides, pero estos últimos tienen un comportamiento menos agresivo. Los tumores pertenecientes a las categorías 3 y 4 también serían considerados como malignos o de potencial evolutivo maligno. Por el contrario, aquellos tumores pertenecientes a la primera y más grande categoría (por Ej. aquellos con características de fibras

musculares lisas, independientemente de si están constituidos por células fusadas o epitelioides) son divididos en:

- ✓ Benignos
- ✓ Borderline (borderline = neoplasia de bajo grado de malignidad)
- ✓ Malignos

Los parámetros morfológicos de malignidad en los GISTS, incluyen: Tamaño tumoral mayor de 5 cm., necrosis, hemorragia, hiper celularidad, atipia nuclear y actividad mitótica (5, 6, 45, 114).

Combinando los parámetros: actividad mitótica y tamaño tumoral, Amin y col. (1) los dividieron en 3 grupos:

1. Benignos: menos de 5 mitosis por cada 50 campos de gran aumento (cga) y tamaño tumoral de 5 cm. o menos.
2. Borderline: el mismo número de mitosis pero un tamaño mayor de 5 cm.
3. Malignos: Mas de 5 mitosis por 50 cga, independientemente del tamaño tumoral.

Los autores anteriormente citados encontraron, además, una buena correlación entre el número de mitosis y el índice PCNA (Antígeno de Proliferación Celular Nuclear) y otros entre el índice PCNA y pronóstico (1, 172, 231)

El PCNA es una proteína de 36 kDa, conocida también como ciclina o δ polimerasa asociada a proteína y que es sintetizada en fases tempranas G y S del ciclo celular, sirviendo como un excelente marcador para células proliferantes (27).

Más recientemente, la utilización de otros métodos diagnósticos auxiliares, tales como la identificación de la fracción aneuploide G2M ha resultado también de valor predictivo en los GISTS (41).

Franquemont (53) desarrolló otro sistema de gradación en el cual los GISTS fueron clasificados como:

1. Benignos: menor de 5 cm. de diámetro y menos de 2 mitosis por cada 50 campos

de gran aumento.

2. De malignidad intermedia: menor de 5 cm. de diámetro y mas de 2 mitosis por cada 50 campos de gran aumento.
3. Malignos: mayor de 5cm. y mas de 2 mitosis por cada 50 campos de gran aumento.

Otros factores pronósticos a considerar, además del tamaño tumoral (2, 4, 6, 27, 30, 63, 106, 114, 172, 177, 225), el índice mitótico (4, 6, 10, 30, 38, 45, 53, 61, 63, 94, 103, 106, 109, 114, 153, 171, 197, 222) y el índice de proliferación celular (13, 22, 41, 54, 56, 63, 114, 161, 172, 200, 229) son: localización del tumor (41), tipo o patrón histológico (4, 6, 10, 108), citometría de flujo (24, 27, 30, 38, 90, 109, 110, 184, 195, 211, 222), edad del paciente y diseminación extra-gastrointestinal (138).

EVALUACIÓN DEL RIESGO DE COMPORTAMIENTO CLINICO AGRESIVO EN LOS TUMORES ESTROMALES GASTROINTESTINALES

Franquemont (53)

Riesgo alto

- a. Tamaño ≥ 5 cm e índice mitótico $\geq 2/10$ CGA
- b. Tamaño ≥ 5 cm o índice mitótico $\geq 2/10$ CGA

Indice PCNA > 10 %

Riesgo bajo

- a. Tamaño < 5 cm e índice mitótico $< 2/10$ CGA

b. Tamaño ≥ 5 cm. o índice mitótico $\geq 2/10$ CGA

Índice PCNA ≤ 10 %

En la actualidad, y tras una Conferencia de Consenso, otros autores consideran que no es conveniente utilizar el término de benigno para ningún GIST, asumiendo que todos ellos pueden llegar a tener un comportamiento agresivo (50) por lo cual es más adecuado hablar de riesgo de conducta agresiva, si bien los criterios para establecer dicho riesgo siguen siendo el tamaño del tumor y el índice mitótico.

Uno de los desafíos en el estudio de los GISTs es establecer la agresividad y comportamiento biológico. Como es evidente, el criterio de malignidad más fiable es la presencia de metástasis y/o invasión de los órganos adyacentes, aunque habitualmente, en el momento del diagnóstico, la diseminación todavía no se ha producido, por lo que el patólogo debe establecer que características son útiles para pronosticar la evolución de la neoplasia. Ciertos rasgos que en otras neoplasias son indicativos de agresividad, son de importancia dudosa en los GISTs. Así, no está clara la importancia de la densidad celular ni de la atipia. Tampoco tiene relación con el comportamiento la presencia de ulceración mucosa, ni la infiltración de la capa muscular, que puede darse por el origen de los GISTs en las células intersticiales de Cajal y no por una auténtica capacidad infiltrativa de la neoplasia (128). Sin embargo, la ulceración mucosa parece asociarse con las lesiones malignas. (221). Se observa como un crecimiento difuso, intersticial entre las glándulas. No se debe considerar como invasión mucosa la mera presencia de ulceración. Si se sigue este criterio, la invasión mucosa es diagnóstica de malignidad, por lo que puede ser de utilidad en el caso de biopsias endoscópicas, si bien su rareza limita su valor práctico.

En nuestra serie de 30 casos de GISTs, 17 casos revelaron ulceración mucosa, de los cuáles 3 casos se diagnosticaron por biopsia endoscópica, de acuerdo con los criterios anteriormente citados.

Otro dato que ha sido considerado es la localización, ya que la incidencia de lesiones agresivas varía, de forma que los GISTs de estómago son más frecuentemente benignos que malignos, tendencia que se invierte en el intestino (129).

Coincidentemente con la literatura consultada (185) en nuestra serie de 30 casos reportados, 16 tumores (53,33 %) se encontraban localizados en estómago y 9 (30 %) en intestino delgado. Los 5 casos restantes (16,66%) se presentaron como masas abdominales, 2 de ellas situadas a nivel del retroperitoneo.

Una matriz mixoide prominente puede estar presente, en algunos casos, entre las células tumorales y las coloraciones histoquímicas demuestran una marcada reacción positiva con Alcian Blue a pH 2,5; esta tinción puede ser abolida por el tratamiento con hialuronidasa, indicando abundante tejido conectivo con mucosustancias ricas en ácido hialurónico (209).

Cinco (16,66%) de los tumores pertenecientes a nuestra serie, presentaban una matriz mixoide abundante y rica en mucosustancias.

Los tumores con características de diferenciación neural están generalmente compuestos de células fusadas (a veces epitelioides), dispuestas en fascículos, en empalizada y en forma de verticilos. El depósito de colecciones extracelulares, amorfas, tenuemente eosinófilas, de colágeno anormal denominado fibras eskenoides (skenoid = madeja, ovillo), está usualmente asociado con diferenciación neural (141).

Estos agregados globulares se hallan presentes en el estroma y se colorean positivamente con la técnica de PAS, después de su tratamiento con diastasa como así también con la técnica de Masson y la hematoxilina ácida-fosfotúngstica de Mallory.

Ultraestructuralmente ellas se hallan compuestas de fibras colágenas dispuestas al azar, con una periodicidad de aproximadamente 45 nanómetros (232).

La presencia de fibras eskenoides se comprobó en dos de los tumores del presente trabajo. Es de destacar que ambos casos correspondieron a los de localización retroperitoneal.

En la serie motivo de la presente comunicación, obtuvimos los siguientes resultados, en relación al patrón histológico:

En el grupo ubicado entre los 30 y 39 años representado por un solo caso, el mismo presentó histológicamente un patrón de crecimiento mixto (fusocelular y epitelioides); en cambio, en relación al grupo de los 40 a 49 años, el 20 % de los casos reveló una proliferación fusocelular, 20 % fue epitelioides y el 60 % restante de tipo mixto.

Las edades comprendidas entre 50 y 59 años presentaron este tipo de tumores del estroma en un 36,66 % del total de la casuística. Histológicamente, el 40 % de los casos reveló una proliferación fusocelular, 20 % fue de tipo epitelioides y el 40 % restante de tipo mixto.

Similar número de casos presentó el grupo entre 60 a 69 años comparado con el rango 50-59, observándose que la aparición y distribución de este tipo de tumores del estroma gastrointestinal coincide con las distribuciones etarias de otros trabajos publicados (24, 101, 122, 127). Microscópicamente se comprobó un patrón celular coincidente con el grupo anteriormente descripto. En tanto que en el último grupo (70 años ó más) el patrón mixto estuvo presente en los 2 casos (100%).

Yu y col. (248) utilizaron determinados criterios para clasificar a los GISTs como benignos, borderline o malignos, basados en la combinación de tipo celular (fusado o epitelioides), índice mitótico y atipia nuclear. Los GISTs malignos incluyeron tumores de células fusadas con ≥ 5 mitosis/30 CMA, neoplasias de células fusadas pleomórficas con ≥ 3 mitosis/30 CMA y lesiones epitelioides con ≥ 2 mitosis/30 CMA. Aproximadamente la mitad de los tumores histológicamente benignos, tuvieron un tamaño mayor de 5 cm. lo cual motivó un comentario en el informe anatomopatológico acerca del comportamiento incierto de estas neoplasias.

El avance más importante que ha ocurrido en el estudio de los GISTs, ha sido el descubrimiento que la mayoría de estos tumores son acompañados por la mutación somática de CD-117 (c-Kit). Esta mutación ocurre independientemente de la edad del paciente al momento del diagnóstico, sitio anatómico del tumor (164), tamaño tumoral, línea de diferenciación o características citológicas (excepto por el hecho de que es más común en las neoplasias constituidas por células fusadas que aquellas conformadas por células epitelioides) (236).

Se ha demostrado, además, mutación del gen c-Kit en una enfermedad génica que se transmite en forma autosómica dominante denominada piebaldismo (61).

Genéticamente los GISTs revelan comúnmente una pérdida del DNA en el brazo largo del cromosoma 14 (134). Además, estudios citogenéticos han revelado frecuentes anomalías en el cromosoma 1 en los GISTs, pero el significado de estos cambios moleculares subyacentes, no han sido aún dilucidados y su significado es desconocido. Sin embargo, se ha demostrado que la pérdida de la heterocigosidad

en 1p 36.3, es de valor predictivo como elemento de mal pronóstico en los GISTs (158). Por otro lado se han encontrado, a menudo, mutaciones genéticas en los GISTs (112) a nivel del exón 11 del c-Kit (aproximadamente en el 20 al 50 % de los casos) y menos frecuentemente (4-8 % de los casos) en los exones 9 y 13 (74, 99, 101, 116, 149, 187, 214).

Las mutaciones del exón 11 han sido reportados como marcadores pronósticos independientes (213) de las del exón 9 en GISTs intestinales altamente malignos (79, 101).

Las mutaciones con activación de c-KIT han sido asociadas, además, a trastornos tales como mastocitosis, síndromes mieloproliferativos, leucemia mieloide aguda y linfomas senonasaes (115).

La activación patológica, ligando-independiente, de c-KIT tirosin-quinasa, sería un factor importante, involucrado como mecanismo patogénico en los GISTs (90).

Recientemente Cunningham y col. (29), demostraron la relación de los GISTs con apoptosis, proteína bcl-2 y la expresión inmunohistoquímica de la proteína p53 en los tumores estromales gastrointestinales. Es así que se comprobó que aquellos tumores que revelaron apoptosis celular, tenían una mejor sobrevida que aquellos en los que no se demostró. En contraste, los pacientes cuyos tumores demostraron inmunoreactividad para la proteína bcl-2 (un inhibidor de apoptosis) tuvieron una menor sobrevida, comparada con neoplasias que presentaron inmunotinción negativa para esta proteína.

Por otra parte, no hubo relación entre inmunoreactividad para p53 y sobrevida. Estos resultados sugirieron que la inhibición de la apoptosis puede estar asociada con un comportamiento maligno en pacientes con tumores estromales gastrointestinales.

Diferentes estudios han investigado la utilidad pronóstica del análisis del ADN en los GISTs (27, 53). Cooper y col. (27) encontraron que 6 de 8 tumores que habían metastatizado al momento del diagnóstico eran aneuploides.

Entre los GISTs localizados, 8 de 15 pacientes con tumor aneuploide murieron de enfermedad comparados con solo dos entre 58 neoplasias diploides.

Numerosos estudios clínico-patológicos han intentado predecir el comportamiento benigno o maligno de los GISTs, basados en las características anatomopatológicas (2, 27, 54, 64, 114, 145, 159, 195, 199).

La mayoría de ellos caracterizan histológicamente a los GISTs como benignos o malignos y luego correlacionan características macro y microscópicas con cada categoría y sobrevida. Un problema recurrente con tal análisis, ha sido que muchos tumores histológicamente benignos se comportaron agresivamente, mientras que neoplasias morfológicamente malignas, se comportaron clínicamente como benignas.

El examen ultraestructural y el análisis inmunohistoquímico para el receptor kit tirosin-quinasa (CD-117), ha sido realizado en una gran serie de tumores estromales bien caracterizados, utilizando tejidos normales apropiados y tumores control.

Los resultados de dichos estudios apoyan la hipótesis formulada por Kindblom y col. (88), que los GISTs se originarían de una célula madre, que se diferenciaría hacia un fenotipo de células marcapasos o CIC. Es por este motivo que ellos proponen que el término tumor estromal gastrointestinal, debería ser reemplazado por el de tumor gastrointestinal de células marcapasos (GIPACT). Ellos aseveran, además que, si bien, la designación tumor estromal gastrointestinal (GISTs), hace alusión a la naturaleza mesenquimática de la lesión, dicho término no incluye a aquellos tumores del tracto gastrointestinal con una verdadera diferenciación hacia células musculares lisas, células de Schwann, fibroblastos o vascular. Puede decirse, por lo tanto, que a pesar de que los GISTs representan una serie de tumores de histogénesis incierta, los mismos se caracterizan, en general, por la expresión de los siguientes marcadores inmunohistoquímicos: Vimentina, c-Kit y/o CD34 +, SMA y DES – (138, 140, 142). La mayoría coexpresan alguno de estos marcadores y un inmunofenotipo asociado solamente con CIC, sugiriendo, por lo tanto, un origen a partir de dichas células (88).

Actualmente, existe un consenso relacionado a las CIC asociadas al músculo liso del tracto gastrointestinal. Estas células están consistentemente localizadas en regiones en donde la actividad rítmica muscular es generada. Están conectadas a los leiomiocitos (células musculares lisas) mediante uniones gap y adecuadamente cercanas a los axones de las neuronas motoras entéricas. Estos hechos sugieren que las CIC están involucradas en la generación de la actividad eléctrica muscular (función marcapaso), o en la conducción/coordinación de la actividad entre las células musculares. Se ha demostrado actividad eléctrica espontánea de las CIC aisladas, las cuales generan despolarizaciones eléctricas en forma de ondas lentas (90). Se considera entonces, que las CIC son células

marcapaso (201) pero no todas, sólo un grupo restringido. Otros grupos tienen función desconocida o se encargarían de la inhibición de neurotransmisores. Algunos trabajos describen que los transmisores de las neuronas motoras entéricas, pueden actuar directamente sobre el músculo liso del tracto gastrointestinal. Entonces, al menos, una parte del control podría estar mediada por las CIC, y esto podría variar de región a región del tracto digestivo. Si hay algo que no se duda, es que las CIC están involucradas en los mecanismos generadores o reguladores de la motilidad digestiva (217). Histogénicamente las CIC poseen un origen mesenquimal y se diferencian desde una célula precursora común intestinal, la cual da origen también, a las células musculares lisas (85).

Se han descrito similitudes con los fibroblastos, leiomiocitos y fueron consideradas como parte del Sistema Nervioso Entérico. Sin embargo, no migran con las células nerviosas y se desarrollan del mesénquima intrínseco.

Dentro de sus características genéticas, las CIC poseen el c-Kit (CD-117) ligando del Factor de Células Stem (SCF). La interacción Kit- SCF es limitada en su expresión, a las CIC, células germinales, células madre de la médula ósea, melanocitos, mastocitos, siendo requerida para su maduración. Dentro del tracto gastrointestinal sólo se encuentra en CIC y mastocitos. El c-Kit está presente en precursores comunes de leiomiocitos y CIC. Los leiomiocitos perderán el c-Kit, persistiendo en las CIC. Por lo tanto, las CIC serán inmunorreactivas para el anticuerpo CD-117.

La expresión inmunofenotípica de los GISTs ha ayudado a reafirmar el concepto que estos tumores constituyen una entidad propia con una histogénesis específica. La evidencia en contra de un origen muscular de estas neoplasias ha sido el hecho que muchos GISTs (aproximadamente el 60 %) son positivos para CD-34, un antígeno de células progenitoras mieloides y no expresado por células musculares lisas. (79, 130, 215). Posteriormente, se demostró que la mayoría de los GISTs expresan c-Kit (CD-117), un receptor tirosin-quinasa de la familia de las inmunoglobulinas, presente en células madre hematopoyéticas, mastocitos, melanocitos, células epiteliales ductales y otras. (22). Su expresión es también característica de las células marcapasos del intestino, las células intersticiales de Cajal (71, 190)

Actualmente se considera que del 68 al 90% de los GISTs revelan una marcada expresión de c-Kit, (79, 150, 189), mientras que una ganancia en la función de mutación en el gen c-kit, parece ser una característica específica de los GISTs (150).

Por otra parte, se ha postulado que la pérdida de la inmunoreactividad tanto para CD34 como para c-Kit, podría permitir identificar a un subgrupo de estos tumores con un comportamiento clínico más agresivo, particularmente, si ellos presentan, además, características morfológicas indicativas de malignidad, según los criterios histopatológicos tradicionales (201). Mientras que algunos GISTs que resultan vimentina negativos podrían representar especímenes pobremente preservados, con una pérdida de la antigenicidad (8).

Macroscópicamente los GISTs tienden a ser masas de consistencia blanda, expansivas, multilobulares, con frecuentes áreas de hemorragia, cisticación o necrosis, particularmente, cuando alcanzan gran tamaño, mientras que microscópicamente pueden estar conformados por células fusadas o de apariencia epitelioide (97).

Por lo general los GISTs son tumores de crecimiento relativamente lento, siendo diagnosticados en estadios avanzados y cuando la masa tumoral es de gran tamaño.

Algunos casos de tumores estromales gástricos se presentan clínicamente asociados a otras patologías, como la enfermedad de von Recklinghausen (58, 112, 116, 194) o formando parte del síndrome de Carney (GISTs + condromas pulmonares + paragangliomas extraadrenales) (20).

Estos últimos tumores son característicamente múltiples y tienen una morfología epitelioide. Un síndrome familiar caracterizado por paraganglioma y GISTs gástrico diferente al de la tríada de Carney también ha sido descrita (21)

Casos de GISTs múltiples de intestino delgado han sido comunicados en asociación con enfermedad de von Recklinghausen y displasia intestinal neuronal (69, 80, 83 156). Excepcionalmente, GISTs gástricos son encontrados coincidentemente con tumores epiteliales anatómicamente separados del estómago (121).

En nuestra casuística, encontramos un GIST de tipo borderline, de localización gástrica (Figuras 41 al 43) que se desarrolló en un paciente de 64 años que consultó por melena y que, además, era portador de una enfermedad de von Recklinghausen. No se encontró asociación con otros tumores y en un seguimiento de diez años no se constataron recidiva ni metástasis.



Figura 41: GIST. Imagen tomográfica de tumor exofítico, polilobulado

localizado en curvatura mayor y cara anterior de estómago.



Figura 42: GIST gástrico. Pieza quirúrgica de tumorectomía. Superficie externa lobulada y superficie de corte con necrosis, hemorragia y cistificación.

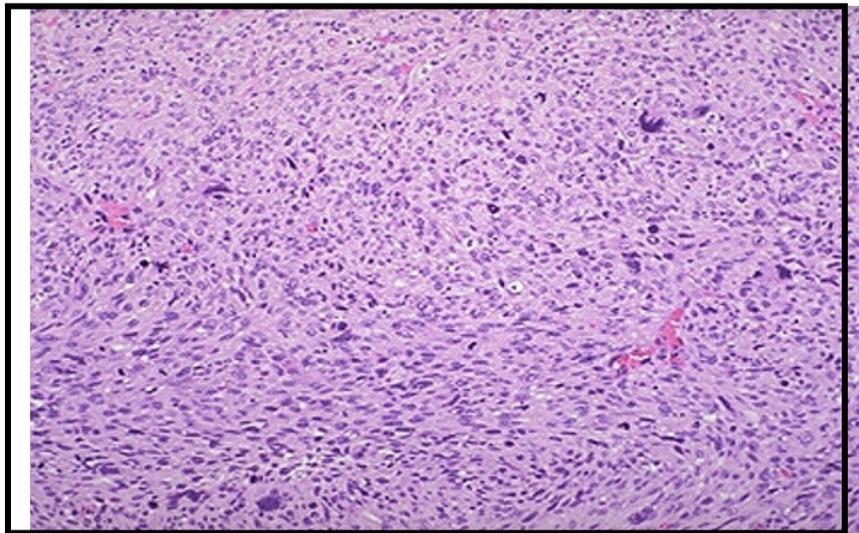


Figura 43: GIST. Vista microscópica del caso anterior. Tumor densamente celular, con algunas formas atípicas y de patrón mixto. H&E 10X

Aproximadamente el 60 % de los GISTs gástricos son submucosos y crecen hacia la luz, donde ellos pueden protruir y presentar una superficie lisa. A veces, puede ocurrir una ulceración central (más comúnmente en los tumores malignos) y, de este modo penetrar, profundamente, dentro de la masa tumoral y producir clínicamente hematemesis. La superficie lisa del tumor y el nicho ulceroso resultan en una apariencia radiográfica característica. Cerca del 30% de estos tumores son subserosos y, el otro 10 % son intramurales. Macroscópicamente suelen tender a ser circunscriptos y presentar, una superficie de corte lobulada, lisa o fasciculada (176).

Una de las principales características, es que los GISTs son histológicamente diferentes de los leiomiomas, leiomiomas, y schwannomas, destacando entre otras cosas, por ser mucho más celulares. Además, tienen menor eosinofilia citoplasmática, lo cual es reflejo de su menor contenido en filamentos citoplasmáticos. El patrón histológico predominante corresponde a células fusiformes, epitelioides o en combinación, configurando un patrón organoide. El espectro histológico incluye variantes con sábanas sólidas, disposición fascicular o estoriforme, patrón de núcleos en empalizada que recuerdan a tumores de la vaina del nervio, disposición alveolar en grupos celulares similares a tumores neuroendócrinos, o ejemplos con prominente vacuolización citoplasmática, patrón mixoide o hialinización focal y/o extensa. (208). La ulceración mucosa es habitual.

Se encuentra necrosis en un buen porcentaje, dependiendo usualmente del tamaño, siendo una necrosis de coagulación, dejando ver células fantasmas (“*ghost cells*”). El crecimiento de los bordes del tumor suele ser de tipo expansivo.

El espectro histológico de los GISTs, suele variar en relación a las diferentes ubicaciones, por ejemplo, en los casos gástricos, predomina el patrón de células fusiformes (70-80%), con leve a moderado colágeno intersticial. A veces con patrón en empalizada similar a tumores schwannianos, otros muestran vacuolización perinuclear. Además, el patrón epiteliode, que corresponde al 20-30%; otros con patrón sólido o mixoide y ocasionalmente patrones parecidos a paraganglioma o carcinoides. (162)

Los GISTs pequeños del intestino delgado, son generalmente fusiformes. Los casos benignos suelen presentar fibras de colágeno extracelular espiraladas, llamadas fibras eskenoides, basadas en su apariencia ultraestructural filamentosa (141).

En el Atlas de AFIP de tumores del intestino (174), los tumores estromales de intestino delgado se han clasificado en las siguientes variantes:

- a) de células fusadas (pueden exhibir un patrón en “espina de pescado”, estoriforme, o en empalizada)
- b) de células epitelioides (originalmente designados como “*leiomioblastoma*”)
- c) de células pleomórficas (pueden adoptar una diferenciación de tipo condrosarcoma o liposarcoma)
- d) de células en “anillo de sello”(pueden estar asociados a una matriz mixoide prominente y glucógeno citoplasmático)
- e) de tipo mesotelioma (con un patrón pseudoglandular)
- f) oncocítica (células con abundantes mitocondrias y apariencia neural al ME).

Los casos localizados en colon y recto casi siempre son fusocelulares.

Clínicamente, la mayoría de los síntomas asociados a los GISTs son dolor abdominal y melena (47). También se pueden presentar con discomfort abdominal, masa abdominal palpable, pérdida de peso, anemia, fiebre, disfagia, obstrucción intestinal y perforación. (155). La mayoría de los casos ocurre en adultos, sin embargo, han sido reportados casos en niños, en los cuales generalmente se comportan como malignos (67, 167, 241).

El porcentaje de casos malignos es más elevado en los GISTs del intestino delgado que aquellos que afectan al estómago (139).

Los GISTs malignos del intestino delgado pueden invadir estructuras adyacentes, tales como el páncreas, por extensión directa (199). Ellos tienden a propagarse por la vía sanguínea y dar metástasis a distancia (153).

De 20 pacientes estudiados por Ranchod y Kempson (171), 15 desarrollaron metástasis (generalmente al hígado y al peritoneo), 4 padecieron tumor intra-abdominal con una prominente diseminación retroperitoneal; solamente uno de los pacientes se encontraba vivo y libre de enfermedad al tiempo del seguimiento. . Mientras que de 200 pacientes con GISTs, analizados por DeMatteo y col., (33) 46% tenían enfermedad sin metástasis, 47% tuvieron diseminación metastásica y 7% presentaron recurrencia local.

En relación a la terapéutica aplicada, se ha demostrado que la resección quirúrgica completa es la base fundamental del tratamiento en los GISTs, tanto para la recurrencia local como para las metástasis (25). Los estudios recientes, en relación a las mutaciones del gen c-Kit, junto con los reportes de GISTs familiares sustentan la hipótesis de que la activación oncogénica de kit es un evento temprano, posiblemente inicial en la patogénesis de esta enfermedad (98).

Se ha demostrado, además, que STI571 (Imatinib), una droga que fue utilizada en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica (132) y que corresponde a un inhibidor del Kit-tirosin quinasa, es, en la actualidad, la droga de elección para el tratamiento de los GISTs, (128) ya que ha resultado ser extremadamente efectiva, especialmente en pacientes con enfermedad avanzada.

Por otra parte, el análisis del estado mutacional de kit es el mejor factor pronóstico de la respuesta al Imatinib (Gleevec en los EEUU, Glivec en el resto del mundo, Novartis, Basel, Suiza)

Más recientemente Sunitinib, un nuevo inhibidor KIT/PDGFR quinasa, ha sido utilizado en pacientes con GISTs resistentes a Imatinib, logrando resultados prometedores (34).

También se han estudiado los marcadores genéticos como factores pronósticos. Se han utilizado tres tipos de análisis. En primer lugar el estudio de pérdidas y ganancias de material genético mediante hibridación genómica comparativa y estudio de pérdida de la heterocigosidad. De esta forma, se ha visto que los GISTs benignos tienen un número significativamente inferior de copias de ADN que los malignos (46). Por otra parte, las deleciones de 9p y 9q y las pérdidas alélicas de 22q (87), son más frecuentes en las lesiones malignas, que además tienen un número medio de aberraciones cromosómicas más alto. También se ha valorado la actividad de telomerasa, de forma que sólo los GISTs malignos mostraron actividad de telomerasa, si bien no todos los malignos demostraron dicha actividad (65).

En último lugar se ha investigado la relación entre las mutaciones de c-Kit y la agresividad, aunque el valor pronóstico de dichas mutaciones no está claro, y aunque se han relacionado las mutaciones de los exones 11 y 9 con tumores de mayor tamaño, con índices de recurrencia mayor y menor supervivencia a los 5 años, hay datos discordantes en la literatura, por lo que se requerirían nuevas investigaciones para dilucidar la importancia pronóstica de dichas mutaciones (129).

Recientemente el grupo de Miettinen (97) (Figura 44), ha encontrado que cierto tipo de mutaciones del dominio yuxtamembrana, son más frecuentes en estómago y tienen mejor pronóstico.



Figura 44: Equipo de estudio de los GISTs (Departamento de Patología de los Tejidos Blandos AFIP, Washington) De izquierda a derecha J. Lasota, M. Miettinen y Virginia Achstetter. (97).

La mayoría de los autores refieren una positividad constante de c-Kit en los tumores GISTs, aunque otros como Medeiros (126) admiten que probablemente pueda existir un pequeño número de tumores negativos no siendo, por lo tanto, un requisito indispensable, según dichos autores, la positividad de CD-117 para diagnosticar un GIST. Además de que puedan existir GISTs con ausencia de mutaciones y/o de sobreexpresión de c-kit, las causas de una negatividad inmunohistoquímica para CD-117 pueden obedecer a otros motivos, como escasez de representación tumoral en biopsias endoscópicas y en tumores con distribución irregular de la oncoproteína, pérdida de antigenicidad por manipulación inadecuada de la muestra o defecto en el procesamiento técnico o alteraciones postratamiento.

Aunque puede existir cierta variabilidad en el patrón de tinción con CD-117, la mayoría de los GISTs muestran una positividad citoplasmática difusa intensa. En más del 50% de los casos es evidente un patrón llamado golgiano, caracterizado por un refuerzo a modo de gránulo paranuclear (*dot-like*) y que coexiste con el patrón citoplasmático difuso habitualmente pero que, en ocasiones, puede ser exclusivo (221). Este tipo de patrón de tinción podría relacionarse, según algunos autores, con un tipo concreto de mutación del protooncogen c-Kit

Algunos tumores GISTs pueden mostrar una positividad no difusa sino limitada a un escaso porcentaje de células tumorales (5-20%), lo cual puede justificar casos inmunohistoquímicamente negativos como ya se ha mencionado anteriormente (126).

La variedad epitelioide de GISTs muestra una tinción menos intensa que la fusocelular. Los tumores de músculo liso (positividad para actina de músculo liso y desmina) y los schwannomas (positividad para proteína S-100) son negativos para CD-117. El dermatofibrosarcoma *protuberans*, el hemangiopericitoma, el liposarcoma esclerosante, el angiosarcoma y el sarcoma de Kaposi, pueden ser positivos pero focalmente.

La impresión de algunos autores (175), es que el intento de subdividir a los GISTs de acuerdo con las distintas líneas histogenéticas (por ej. muscular, neural, célula de Cajal, célula de Schwann, fibroblástica, etc.) es mal concebida, si solamente están basadas en hallazgos ultraestructurales, inmunohistoquímicos o ambos (39, 107, 181, 232, 242). Más bien se cree que hay un amplio rango de diferenciación entre estos tumores.

Criterios de definición para el diagnóstico de GISTs: Actualmente algunos autores creen que la positividad de CD-117 es un requerimiento absoluto para la definición de los GISTs. Esta parece ser, según otros autores (177) una premisa cuestionable, como lo es todo propósito de definir una entidad sobre la base de un simple marcador. Se reconoce actualmente que los raros tumores que tienen todas las características morfológicas y fenotípicas de GISTs, los cuales por alguna razón u otra no se tiñen con CD-117, deberían aún ser diagnosticados como GISTs (126), en tanto que aquellos tumores que no presentan características morfológicas de GISTs, no deberían ser

designados como tales simplemente debido a que son CD-117+. El patrón más convincente de positividad para CD-117 es un característico componente de membrana además del citoplásmico. Otros tumores mesenquimáticos, además de los GISTs que pueden teñirse con CD-117 (tales como las fibromatosis), tienden a mostrar solamente una tinción citoplasmática con gránulos gruesos.

La presencia de inmunoreactividad para CD-117 en un tumor, ya sea GISTs o no, no indica necesariamente una mutación del gen. Contrariamente, una mutación CD-117 puede existir aún en ausencia de expresión del marcador inmunohistoquímico.

Diagnóstico diferencial microscópico

Dependiendo de la localización del tumor y de las características microscópicas, este incluye (175): tumor fibroso solitario, fibromatosis, tumor fibroide inflamatorio, tumor glómico, schwannoma, leiomioma/leiomiosarcoma y aún linfoma y carcinoma.

La fibromatosis (tumor desmoide) es particularmente la que mas se confunde con GISTs, debido a que puede comprometer extensamente la pared gastrointestinal y exhibir inmunoreactividad para CD-117 (aunque esta última tiende a ser exclusivamente citoplasmática y no teñir la membrana celular) (245). Para hacer el problema, aún más complicado, a veces la fibromatosis, se desarrolla postoperatoriamente en pacientes tratados por GISTs. La positividad nuclear para β – catenina en la fibromatosis se cree es de ayuda en el diagnóstico diferencial (143).

El tumor fibroso solitario comparte positividad del CD-34 con GISTs pero es negativo para CD-117 (198). El diagnóstico diferencial de GISTs con leiomiomas/leiomiosarcomas y schwannoma se torna difícil debido a las características de músculo liso y/o neural que los GISTs pueden exhibir. Un simple pero efectivo abordaje del problema es designar como leiomiomas/leiomiosarcomas o schwannomas a los tumores que tienen características morfológicas e inmunohistoquímicas típicas de los tipos tumorales respectivos (como se conocen a ellos en otras localizaciones) si a ellos le falta la inmunoreactividad para CD-117 (168). Las diferencias que han sido encontradas en los patrones de DNA de los GISTs, leiomiomas y schwannomas sostiene la política de separar estos tumores de aquellos otros siempre que sea factible (191).

Entre los tumores de intestino delgado reportados como leiomiosarcomas en la era pre-GIST, el 10% estaba localizado en el duodeno, 37% en el yeyuno y 53% en el ileon (240).

Así como en el estómago pueden exhibir una variada diferenciación (117). Sin embargo, ellos tienen una gran incidencia de características de tipo neural (especialmente para aquellos localizados en el duodeno y en el yeyuno) (177).

En particular, los GISTs conteniendo las llamadas “fibras eskenoides” (fibras de colágeno, espiraladas, basadas en su apariencia ultraestructural filamentosa), son característicamente de esta localización.

Entre los GISTs del duodeno, aquellos constituidos por células grandes y que presentan un patrón organoide son predictivamente de bajo riesgo, mientras que aquellos altamente celulares con células pequeñas y con escaso o nulo patrón organoide se consideran como de alto riesgo (61, 130, 223). Debe tenerse en cuenta que el porcentaje de casos clínicamente malignos es más elevado en los GISTs de intestino delgado que aquellos localizados en el estómago (177).

El principal diagnóstico diferencial de los GISTs duodenales es con el paraganglioma gangliocítico y con otros tumores de origen neural (148).

Otros tumores que pueden expresar c-Kit raramente entran en el diagnóstico diferencial, como melanoma metastático, angiosarcoma, carcinoma de células pequeñas pulmonar, sarcoma de Ewing, mastocitoma y seminoma (128).

Uno de los criterios más importantes a definir por el anatomopatólogo, se refiere a la benignidad o malignidad de estos tumores. El grado de celularidad y cantidad de matriz extracelular, varía en los casos benignos y malignos. El pleomorfismo nuclear es común.

En líneas generales, predomina la alta celularidad, la pérdida de la relación núcleo-citoplasma, la presencia de células bizarras pleomórficas, con citoplasma de mayor eosinofilia y mitosis evidenciables por campos de gran aumento (cga). Muchos semejan leiomiomas. Se puede observar un patrón de crecimiento infiltrativo, con invasión de tejidos adyacentes e incluso compromiso ganglionar satélite. El pleomorfismo nuclear, no obstante muy notorio a veces, no es patognomónico.

Actualmente se considera que del 68 al 90% de los GISTs revelan una marcada expresión de c-Kit, (87, 201).

El tratamiento de estos tumores consiste fundamentalmente en la cirugía radical en los GISTs primarios y de bajo riesgo, y máxima radicalidad en la exéresis de tumores para el GISTs diseminado, para completar el tratamiento con imatinib mesilato a dosis de 400 mg/24 hs. por vía oral hasta progresión tumoral o recidiva de la enfermedad, en que cabría reconsiderar de nuevo el tratamiento quirúrgico (220).

El primer caso reportado de paciente con GIST tratado con Imatinib fue publicado por Joensuu y col. (84).

Imatinib fue aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los EEUU (FDA por sus siglas en inglés) en mayo de 2001 (32), en un tiempo record de 11 semanas (el período de revisión más rápido que la FDA haya otorgado a una droga oncológica) como tratamiento para pacientes con Leucemia Mieloide Crónica (LMC) con cromosoma Filadelfia Positivo (Ph +) en estadio avanzado. En Argentina, la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), la aprobó el 15 de Mayo de 2001.

Respecto de la supervivencia de los pacientes con GISTs avanzados, tratados con cirugía e imatinib mesilato, (32, 36) la bibliografía presenta un porcentaje de respuesta total de alrededor de un 59%, de enfermedad estable del 26% y de progresión de un 13%. Dicha respuesta ha mejorado significativamente si tenemos en cuenta que, hasta la aparición del imatinib, en los GISTs metastáticos la progresión era del 100 % (243).

Actualmente se encuentra en estudio la efectividad de esta droga en estadios más tempranos de esta enfermedad (34).

No se requiere linfadenectomía ya que las metástasis son peritoneales y hematógenas (hígado y pulmón), pero rarísima vez linfática (menos del 4%). La quimioterapia y radioterapia tienen valor incierto (referencia) (243).

La mayor parte de los estudios se hallan todavía en fase de seguimiento de los pacientes, por lo que habrá que esperar más tiempo para llegar a unas conclusiones a más largo plazo.

Rudolph y col. (181) Clasificaron a los tumores gastrointestinales de la siguiente forma:

- GIST (CD-117): Tumor estromal gastrointestinal (son los mas frecuentes)
- GINST (CD-117 – CD 34 +): Tumor estromal gastrointestinal negativo para CD 117
- GILT (Actina y/o Desmina +): Tumor estromal gastrointestinal leiomiogénico
- GIGT (S-100 +): Tumores gastrointestinales gliales o schwannianos.
- GIFT (sólo Vim +): Tumores gastrointestinales fibroides.

Últimamente, se ha propuesto que los tumores benignos o malignos con una diferenciación definida hacia músculo liso o neural deberían ser llamados por su nombre (es decir, leiomioma, schwannoma, neurofibroma, ganglioneuroma, paraganglioma y sus contrapartidas malignas). Los tumores fusocelulares gastrointestinales sin evidencia definida, incompleta o totalmente carente de diferenciación muscular lisa o neural, pero que muestran positividad para el c-Kit, deberían ser llamados GIPACT, basados en la similitud inmunohistoquímica y ultraestructural con el sistema de las CIC. El término GIST debería permanecer para los tumores estromales sin diferenciación clara y sin expresión del c-Kit. Esta propuesta tampoco ha ido acogida con mucho entusiasmo por la comunidad científica y se espera el resultado de estudios en curso, para definir mejor a estos conceptos (162).

Se desaconseja el uso del término *benigno* aplicado a los GISTs debido a que, en estudios con seguimientos prolongados, se ha demostrado que cualquiera de ellos, que haya dado sintomatología clínica, tiene el potencial de recurrir o metastatizar, por lo que se prefiere clasificarlos en términos de *riesgo de malignidad*.

Aún cuando se considera que la inmunopositividad para Kit no es indispensable para llevar a cabo el diagnóstico, el consenso de expertos sobre diagnóstico de GISTs, propone que esta debe realizarse como una medida confirmatoria para facilitar la estandarización del diagnóstico y determinar la elegibilidad del paciente para recibir tratamiento con inhibidores de tirosina quinasas como imatinib u otras terapias, actualmente en fases experimentales.

CONCLUSIONES

- Se estudiaron una serie de 30 casos de GISTs para definir aquellas características con valor pronóstico, determinando que las variables topografía, grado y tamaño tumoral están directamente relacionadas con la conducta biológica de este tipo de tumores.
- Del total de 30 casos analizados, 14 se localizaron en estómago (46,7%), 10 (33,3 %) en intestino delgado, 6 (20 %) se presentaron como masas intrabdominales, siendo 2 de ellas localizadas a nivel de retroperitoneo. Aquellos tumores situados en estómago tuvieron, en general, un mejor pronóstico que los de intestino y abdomen.
- En relación al grado de diferenciación, teniendo en cuenta los criterios de Amin (conteo mitótico cada 50 campos de gran aumento), se estableció que del total de

casos analizados 25 fueron de bajo grado y 5 de alto grado. Estos últimos presentaron un curso clínico más agresivo y una evolución más rápida.

- En lo que respecta al tamaño tumoral se determinó que del total de casos, de acuerdo con los criterios de Amin, sólo 4 tumores medían menos de 5 cm., lo cual se relacionó con un mejor pronóstico.
 - En relación a la edad, y, teniendo en cuenta la distribución de los casos en módulos, se estableció que este tipo de neoplasias fue más frecuente en el grupo etario ubicado entre los 50 y 69 años, lo cual coincide con la bibliografía consultada.
 - La forma más frecuente de presentación macroscópica fue el tumor gástrico, submucoso, de crecimiento exofítico y con ulceración mucosa. Microscópicamente el patrón de crecimiento predominante fue el de tipo mixto (fusocelular y epitelioides).
 - Inmunohistoquímicamente se determinó que los marcadores Vimentina, CD 34 y CD 117 fueron positivos en un 100 % de los casos para el primer marcador y en un promedio de 95% para los 2 restantes, lo que apoya la hipótesis de un origen mesenquimal de estas neoplasias a partir de las células intersticiales de Cajal. En tanto que los marcadores de tipo muscular y neural sólo fueron positivos en una pequeña proporción (10 % en el grupo de 40 a 49 años)
 - El presente trabajo ha permitido determinar el rol del patólogo a través del estudio morfológico convencional y el estudio inmunohistoquímico con demostración de c-Kit en el diagnóstico y la evaluación de los factores pronósticos.
- * **El patólogo debe tratar de establecer el riesgo de conducta agresiva de las lesiones, atendiendo fundamentalmente al tamaño del tumor y el índice mitótico.**
- Comprobamos, entonces, que el estudio de estos tumores, es uno de los más

controversiales en la actualidad, resaltando como uno de los descubrimientos más útiles del mismo y un punto de inflexión, el hallazgo de la mutación en el gen c- Kit. El hallazgo de la mutación de c-Kit está siendo utilizado actualmente como blanco para el tratamiento farmacológico, complementario obviamente, de la resección quirúrgica, la cual constituye, sin dudas, el tratamiento de elección.

- La tendencia reconocida de estos difíciles tumores a seguir un curso clínico indolente con un riesgo significativo de recidiva tardía, hace recomendable que todo paciente con un tumor estromal gastrointestinal debe ser cuidadosa y regularmente controlado por un período indefinido.

* Con el presente trabajo pretendemos, además, abrir una nueva senda para ulteriores investigaciones que traten de correlacionar los cambios anatomopatológicos con el perfil inmunofenotípico y los efectos del tratamiento farmacológico en estas neoplasias, que permitan un mejor conocimiento y manejo médico del tumor.

CAPITULO V

BIBLIOGRAFIA

1. Amin MB, Ma CK, Linden MD, Jubus JJ, Zarbo RJ. Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen index in gastric stromal tumors: correlation with mitotic count and clinical outcome. *Am J Clin Pathol*; 100: 428-32, 1993.
2. Appelman HD. Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract what we know now that Stout didn't know. *Am J Surg Pathol* 10 (Suppl. 1): 83-99, 1986.
3. Appelman HD. Mesenchymal tumors of the gut: historical perspectives new approaches, new results, and does it make any difference? *Monogr Pathol*, 31:220-46, 1990.
4. Appelman HD, Helwig EB. Gastric epithelioid leiomyoma and leiomyosarcoma (leiomyoblastoma). *Cancer* 38: 708-28, 1976.
5. Appelman H, Helwig EB. Cellular leiomyomas of the stomach in 49 patients. *Arch Pathol Lab Med* 101: 373-7, 1977.
6. Appelman HD, Helwig EB. Sarcomas of the stomach. *Am J Clin Pathol* 67: 2-10, 1977.
7. Ashman L. CD 117 (CD Guide). In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEGK, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M. et al., eds. *Leucocyte Typing VI, White Cell Differentiation Antigens*. New York: Garland Publishing. Inc. 1191-2, 1998.
8. Battifora H. Assessment of antigen damage in immunohistochemistry: The vimentin internal control. *Am J Clin Pathol* 96: 669-71, 1991.

9. Berezin I, Huizinga JD, Daniel EE. *Interstitial cells of Cajal in the canine colon: a special communication network at the inner border of the circular muscle. J Comp Neurol* 273: 42-51, 1988.
10. Brainard JA, Goldblum JR. *Stromal tumors of the jejunum and ileum: a clinicopathologic study of 39 cases. Am J Surg Pathol* 21:407-16, 1997.
11. Buchdunger E, Cioffi CL, Law N, et al.. *Abl protein-tyrosine kinase inhibitor ST1571 inhibits in vitro signal transduction mediated by c-kit and platelet-derived growth factor receptors. J Pharmacol Exp Ther* 295: 139-45, 2000.
12. Burns AJ, Herbert TM, Ward SM, Sanders K. *Interstitial cells of Cajal in the guinea-pig gastrointestinal tract as revealed by c-kit immunohistochemistry. Cell Tissue Res*;290:11-20, 1997.
13. Cai J, Jiang Y, Zhang Y, Lu G, Zhang X, Gao Q, Zuo L. *Quantitation of P53 protein expression in gastrointestinal smooth muscle tumors. Clinicopathological correlation and prognostic significance. Chin Med J (Engl)* 108:669-73, 1995.
14. Cajal SR. *Nuevas aplicaciones del método de coloración de Golgi sobre la red nerviosa ganglionar de las vellosidades intestinales. Gac Med Cat* 12: 614-16, 1889.
15. Cajal SR. *El plexo de Auerbach de los batracios. Nota sobre el plexo de Auerbach de la rana. Trab Lab Histol Fac Med (Barc)*; 23-28, 1892.
16. Cajal S. *Sur les ganglions et plexus nerveux de l'intestin. Compt Rend Soc Biol. Paris* 45:217-23, 1893.

17. *Cajal SR. Histologie du système nerveux de l'Homme et des Vertébrés. Maloine, (Paris), 1911.*
18. *Cajal SR, Sala C. Terminación de los nervios y tubos glandulares del páncreas de los Vertebrados. Gac Sanit Barc, pp12-16, 1891.*
19. *Campbell F, Hewlett B, Ho J, Hizinga J, Riddell RH. Interstitial Cell of Cajal (ICC) are absent or deranged in intestinal pseudo-obstruction (abstract). Mod Pathol 11, 1998.*
20. *Carney JA, Sep SG, Go VL, Gordon H. The triad of gastric leiomyosarcoma, functioning extra-adrenal paraganglioma and pulmonary chondroma. N Engl J Med 296:1517-8, 1977.*
21. *Carney JA, Stratakis CA. Familial paraganglioma and gastric stromal sarcoma: a new syndrome distinct from the Carney triad. Am J Med Genet, 108: 132-39, 2002.*
22. *Carrilo R., Candia A, Rodriguez-Peralto JL, Caz V. Prognostic significance of DNA ploidy and proliferative index (MIB index) in gastrointestinal stromal tumors. Hum Pathol 28:160-5, 1997.*

23. Chan JKC. *Mesenchymal Tumors of the Gastrointestinal Tract : A Paradise for Acronyms (STUMP, GIST, GANT and Now GIPACT), Implication of c-kit in Genesis, and yet Another of the Many Emerging Roles of the Interstitial Cell of Cajal in the Pathogenesis of Gastrointestinal Diseases?. Advances in Anatomia Pathology 6 (1): 19-40, 1999.*
24. Chou FF, Eng HL, Sheen-Chen SM. *Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract: analysis of prognostic factors. Surgery 119: 171-7, 1996.*
25. Clary BM, DeMatteo RP, Lewis JJ, Leung D, Brennan MF. *Gastrointestinal stromal tumors and leiomyosarcoma of the abdomen and retroperitoneum: a clinical comparison. Am Surg Oncol 8(4): 290-9, 2001.*
26. Cocchia D., Michetti F., and Donato, R. *Inmunochemical and immunocytochemical localization of S-100 Nature 294:85-7, 1981.*
27. Cooper PN, Quirkle P, Hardy GJ, Dixon MF. *A flow cytometric clinical, and histological study of stromal neoplasms of the gastrointestinal tract. Am J Surg Pathol 16: 163-70, 1992.*
28. Cornog JL Jr. *Gastric leiomyoblastoma. A clinical and ultrastructural study. Cancer 34:711-9, 1974.*

29. Cunningham RE, Abbondanzo SL, Chu WS, Emory TS, Sobin LH, O'Leary TJ. Apoptosis, bcl-2 expression in gastrointestinal stromal/smooth muscle tumors. *Appl Immunohistochem Molecul Morphol* 9 (1): 19-23, 2001.
30. Cunningham RE, Federspiel BH, MaCarthy WF, Sobin LH, O'Leary TJ. Predicting prognosis of gastrointestinal smooth muscle tumors. Role of clinical and histologic evaluation, flow cytometry, and image cytometry. *Am J Surg Pathol* 17: 588-94, 1993.
31. Dabbs D. *Diagnostic immunohistochemistry. Second Edition.* Churchill, Cap. Livingstone Cap. 11. Immunohistology at lung and pleural neoplasms. pp 339-40, 2006.
32. Dagher R, Cohen M, Williams G, Rothmann M, Gobburu J, Robbie G, et al. Approval summary: imatinib mesylate in the treatment of metastatic and/or unresectable malignant gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res*;8:3034-8, 2002.
33. DeMatteo RP, Lewis JJ, Leung D, Muddan SS, Woodruff JM, Brennan MF. Two hundred gastrointestinal stromal tumors: recurrence patterns and prognostic factors for survival. *Annals of Surgery* 231(1):51-8, 2000.
34. Demetri GD, van Oosterom AT, Garret CR et al. Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of

imatinib: a randomised controlled trial. Lancet, 368(9544):1329-38, 2006.

35. Der-Silaphet T, Malysz J, Hagel S, Arsenault AL, Huizinga JD . *Interstitial cells of Cajal direct normal propulsive contractile activity in the mouse small intestine. Gastroenterology 114: 724-36, 1998.*
36. De Silva CM, Reid R. *Gastrointestinal stromal tumors (GIST): ckit mutations, CD117 expression, differential diagnosis and targeted cancer therapy with imatinib. Pathol Oncol Res;9:13-9, 2003.*
37. Drasch O. *Beitrage Zur Kenntniss deis feineren Baues des Dunndarms, insbesondere uber die Nerven desselben. S Kais Akad Wiss (Wien) 82:168-98, 1880.*
38. el-Naggar AK, Ro JY, McLemore D, Garnsey L, Ordoñez N, Mackay B. *Gastrointestinal stromal tumors: DNA flow-cytometric study of 58 patients with at least five years of follow-up. Mod Pathol 2:511-5, 1989.*
39. el-Rifai W, Sarlomo-Rikala M, Andersson LC, Knuutila S, Miettinen M. *DNA sequence copy number changes in gastrointestinal stromal tumors: tumor progression and prognostic significance. Cancer Res; 60:3899-903, 2000.*
40. Emory TS, Derringer GA, Sobin LH, O'Leary TJ. *Ki-67 (MBI-1)*

immunohistochemistry of prognostic factor in gastrointestinal smooth-muscle tumors. J Surg Pathol 2-239-42, 1997.

41. Emory TS, Sobin L, Lukes L, Lee DH, O'Leary TJ. Prognosis of gastrointestinal smooth-muscle (stromal) tumors. Dependence on anatomic site. *Am J Surg Pathol 23 (1): 82-7, 1999.*

42. Eng, L.F., and Bigbee, J.W. Immunohistochemistry of nervous system specific proteins. In *Advances in Neurochemistry, New York, B.W. Agranoff and M.H. Aprison. Eds. Plenum Publishing Corp., Vol 3, pp. 43-98, 1978.*

43. Enzinger F.M., Lattes, R. and Tortoloni, H. *Histological Typing of Soft Tissue Tumours. International Histological Classification of Tumours N° 3 . Geneva, World Health Organization. 1969.*

44. Erlandson RA, Klimstra DS, Wooddruff JM. Subclassification of gastrointestinal stromal tumors based on evaluation by electron microscopy and immunohistochemistry. *Ultrastr Pathol 20: 373-93, 1996.*

45. Evans HL. Smooth muscle neoplasm of the gastrointestinal tract: a study of 56 cases followed for a minimum of ten years. *Cancer 56: 2242-50, 1985.*

46. Eyden B, Chorneyko KA, Shanks JH, Menasce LP, Banerjee SS.
Contribution of electron microscopy and immunohistochemistry.
Ultrastruct Pathol, 26:269-285, 2002.
47. Farrugia G, Kim CH, Grant CS, Zinsmeister AR. *Leiomyosarcoma of the stomach. Determinants of long-term survival. Mayo Clin Proc* 67: 533-6, 1992.
48. Faussonne-Pellegrini MS, Pantalone D, Cortesini D. *An ultrastructural study of the interstitial cells of Cajal of the human stomach.*
J Submicrosc Cytol Pathol 21: 439-60, 1989.
49. Faussonne-Pellegrini MS, Pantalone D, Cortesini C. *Smooth muscle cells, interstitial cells of Cajal and myenteric plexus interrelations in the human colon.*
Acta Anat 139: 31-44, 1990.
50. Fletcher CDM, Berman JJ, Corless C, et al. *Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. Hum Pathol* 33(5); 459-65, 2002.
51. Flint A, Appelman HD, Beckwith AL. *DNA analysis of gastric stromal neoplasm: correlation with pathologic features. Surg Pathol* 2: 117-24, 1989.
52. Fonseca IB, Spitale LS, Gramática L, Cejas H, Piccinni D, Ghirardi G.

Tumores estromales gastrointestinales: Evolución conceptual. Rev FCM, UNC
63(1): 37-45, 2006.

53. *Franquemont DW. Differentiation and risk assessment of gastrointestinal stromal tumors. Am J Clin Pathol 103:41-7, 1995.*

54. *Franquemont DW, Frierson HF Jr. Muscle differentiation and Clinicopathologic features of gastrointestinal stromal tumors. Am J Surg Pathol 16:947-54, 1992.*

55. *Franquemont DW, Frierson HF Jr. Proliferating cell nuclear antigen immunoreactivity and prognosis of gastrointestinal stromal tumors. Mod Pathol 8:473-7, 1995.*

56. *Franquemont DW, Geary WA. Gastrointestinal stromal tumors and proliferating cell nuclear antigen. Prognostic challenges (Editorial). Am J Clin Pathol 100:369-70, 1993.*

57. *Fresno Forcelledo MF. Determinación inmunohistoquímica de CD117/c-kit en el GIST (tumor estromal gastrointestinal). Oncología 27(4): 114-17, 2004.*

58. Fuller CE, Williams GT. *Gastrointestinal manifestations of type I neurofibromatosis (von Recklinghausen's disease).*
Histopathology 19: 1-11, 1991.
59. Fusari R, Panasci A. *Sulle terminazione nervose nella mucosa e nelle ghiandole sierose della lingua dei mammiferi. Atti R Acad. Sci (Torino)*
25: 835-57, 1890.
60. Gerlach L. *Über den Auerbach'schen Plexus myentericus. Ber Verh Koehn Saechs Ges Wiss (Leipzig)* 25: 1-10, 1873.
61. Ghnassia JP, Wagner M, Velten M. *Stromal tumors of the digestive tract. Prognostic evaluation of a series of 36 cases. Ann Pathol* 16:27-32, 1996.
62. Giebel LB, Spritz RA. *Mutation of the KIT (mast/stem cell growth factor receptor) protooncogene in human piebaldism. Proc Natl Acad Sci USA* 88: 8696-9, 1991.
63. Goldblum JR, Appelman HD. *Stromal tumors of the duodenum. A Histologic and immunohistochemical study of 20 cases. Am J Surg Pathol*
19:71-80, 1995.

64. Golden T, Stout AP. Smooth muscle tumours of the gastrointestinal tract and retroperitoneal tissues. *Surg Gynecol Obstet.*; 73:704-10, 1941.
65. Gunther T, Schneider-Stock R, Hackel C, Pross M, Schulz HU, Lippert H, Roessner A. Telomerase activity and expression of hTRT and hTR in gastrointestinal stromal tumors in comparison with extragastrointestinal sarcomas. *Clin Cancer Res*; 6: 1811-8, 2000.
66. Hagger R, Finlayson C, Jeffrey I, Kumar D R. Role of the interstitial cells of Cajal in the control of gut motility. *Br J Surg* 84:445-50, 1997.
67. Hamazoe R, Shimizu N, Nishidoi H, Maeta M, Koga S. Gastric leiomyoblastoma in childhood. *J Pediatr Surg* 26: 225-7, 1991.
68. Hanani M, Louzon V, Miller SM, Faussonne-Pellegrini MS. Visualization of interstitial cells of Cajal in the mouse colon by vital staining. *Cell Tissue Res* 292: 275-82, 1998.
69. Handra-Luca A, Fléjou JF, Molas G, Sauvanet A, Belghiti J, Degott C, Terris B. Familial multiple gastrointestinal stromal tumours with associated abnormalities of the myenteric plexus layer and skeinoid fibers. *Histopathology* 39: 359-63, 2001.

70. Hendrickson R, Kempson RL. Smooth muscle tumours. *Gastrointestinal and Oesophageal Pathology*. In: Whitehead R, 1st ed. Edinburgh:Churchill, ed.Livingstone, pp 619-28, 1989.
71. Henle J. *Hanbuch der systematischen Anatomie des Menschen II. Eingeweidelehre*. F Vieweg und Sohn, Braunschweig, p 46, 1866.
72. Herrera GA, Cerezo L, Jones JE, Sack J, Grizzle WE, Pollack WJ, et al. *Gastrointestinal autonomic nerve tumors. "Plexosarcomas"*
Arch Pathol Lab Med 113: 846-53, 1989.
73. Hibi K., Takahashi T, Sekido Y., Ueda R., Hida T., Ariyoshi T, Takagi H, and Takahashi T. *Coexpression of stem cell factor and c-kit genes in small-cell lung cancer. Oncogene*; 6 2291-6, 1991.
74. Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, et al. *Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. Science* 279:577-80, 1998.
75. Hjermstad BM, Sobin LH, Helwig EB. *Stromal tumors of the gastrointestinal tract: myogenic or neurogenic?. Am J Surg Pathol* 11: 383-6, 1987.

76. Horie K, Fujita J, Takakura K et al. The expression of c-kit protein in human adult and fetal tissues. *Hum Reprod* 8:1955-62, 1993.
77. Huizinga JD, Thuneberg L, Kluppel, Malysz J, Mikkelsen HB, Bernstein A. W/kit gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity. *Nature* 373: 347-9, 1995.
78. Huizinga JD, Thuneberg L, Vanderwinden JM, Rumessen JJ. Interstitial cells of Cajal as targets for pharmacological intervention of gastrointestinal motor disorders. *Trends Pharmacol Sci*;18:393-403, 1997.
79. Iijima S, Maesawa Ch, Sato N, et al. Gastrointestinal stromal tumour of the oesophagus: significance of immunohistochemical and genetic analyses of the c-kit gene. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 14(4):445-8, 2002.
80. Ishida T, Wada I, Horiuchi H, Oka T, Machinami R. Multiple small intestinal stromal tumors with skeinoid fibers in association with neurofibromatosis 1 (von Recklinghausen's disease). *Pathol Int*, 46:689-95, 1996.
81. Isozaki K, Hirota S, Miyagawa J, Taniguchi M, Shinomura Y, Matsukawa Y.

- Deficiency of c-kit⁺ cells in patients with a myopathic form of chronic idiopathic intestinal pseudo-obstruction. Am J Gastroenterol 92:332-4, 1997.*
82. Jeffrey R, Joshi V, Griffin J, Lasota J, Miettinen M. *Gastrointestinal autonomic nerve tumors. Immunohistochemical and molecular Identity with gastrointestinal stromal tumor. Am J Surg Pathol 25 (8): 979-81, 2001.*
83. Jeng YM, Mao TL, Hsu WM. *Congenital interstitial cell of Cajal hyperplasia with neuronal intestinal dysplasia. Am J Surg Pathol, 24: 1568-72, 2000.*
84. Joensuu K, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M, et al: *Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI 571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. N Engl J Med, 344: 1052-56, 2001.*
85. Kenny SE, Connell MG, Rintala RJ, Vaillant C, Edgard DH, Loyd DA. *Abnormal colonic interstitial cells of Cajal in children with anorectal malformations. J Pediatr Surg 33: 130-2, 1998.*
86. Kenny SE, Vanderwinden JM, Rintala RJ, Connell MG, Lloyd DA, Vanderhaegen JJ, et al. *Delayed maturation of the interstitial cells of Cajal: a new diagnosis for Transient neonatal pseudoobstruction. Report of two cases. J Pediatr Surg: 33:94-8, 1998.*

87. Kim NG, Kim JJ, Ahn JY, Seong CM, Noh SH, Kim CB, Min JS, Kim H.

Putative chromosomal deletions on 9P, 9Q and 22Q occur preferentially in malignant gastrointestinal stromal tumors. Int J Cancer; 85:633-8, 2000.

88. Kindblom LG, Meis-Kindblom JM, Remotti HE, Aldenborg F.

Gastrointestinal pacemaker: GI PACT: gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal.

Am J Pathol 152: 1259-69, 1998.

89. Kitamura Y, Hirota S, Nishida T. Molecular pathology of c-kit proto-

Oncogene and development of gastrointestinal stromal tumors.

Ann Chir Gynaecol 87: 282-6, 1998.

90. Kiyabu MT, Bishop PC, Parker JW, Turner RR, Fitzgibbons PL. Smooth

muscle tumors of the gastrointestinal tract. Flow cytometric quantitation of DNA and nuclear antigen content and correlation with histologic grade.

Am J Surg Pathol 12:954-60, 1988.

91. Klein E. *Contributions to the anatomy of Auerbach's plexus in the intestine of the frog and toad. Q J Microsc Sci* 13: 377-80, 1873.
92. Kluppel M, Huizinga JD, Malysz J, Bernstein A. *Developmental origin and kit-dependent development of the interstitial cells of Cajal in the mammalian small intestine. Dev Dyn* 211: 60-71, 1998.
93. Knapp RH, Wick MR, Goellner JR. *Leiomyoblastomas and their relationship to other smooth-muscle tumors of the gastrointestinal tract. An electronic-microscopic study. Am J Surg Pathol* 8: 449-61, 1984.
94. Koga H, Ochiai A, Nakanishi Y, et al. *Reevaluation of prognostic factors in gastric leiomyosarcoma. Am J Gastronterol* 90: 1307-12, 1995.
95. Langer JC, Berezin I, Daniel EE. *Hypertrophic pyloric stenosis: ultrastructural abnormalities of enteric nerves and the interstitial cells of Cajal J Pediatr Surg* 30:441-4, 1995.
96. Langton P, Ward SM, Carl A, et al. *Spontaneous electrical activity of interstitial cells of Cajal isolated from canine proximal colon, Proc Natl Acad*

Sci, 86(18):7280-4, 1989.

97. Lasota J, Corless CL, Heinrich MC, Miettinen M, et al. *Clinicopathologic profile of gastrointestinal stromal tumors (GISTs) with primary KIT exon 13 or exon 17 mutations: a multicenter study on 54 cases. Mod Pathol 21 (4): 476-84, 2008.*
98. Lasota J, Dansonka-Mieszkowska A, Stachura T, Schneider-Stock R, Kallajoki M, Steigen SE, Sarlomo-Rikala M, Boltze C, Kordek R, Roessner A, Stachura J, Miettinen M. *Gastrointestinal stromal tumors with internal tandem duplications in 3' end of KIT juxtamembrane domain occur predominantly in stomach and generally seem to have a favorable course. Mod Pathol 16: 1257-64, 2003.*
99. Lasota J, Jasinski M, Sarlomo-Rikala M, et al . *C-kit mutations occur preferentially in malignant vs benign GISTs and do not occur in leiomyomas and leiomyosarcomas. Am J Pathol 154: 53-60, 1999.*
100. Lasota J, Miettinen M. *Clinical significance of oncogenic KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumours. Histopathology 53 (3): 245- 66 , 2008.*

101. Lasota J, Wozniak A, Sarlomo-Rikala M, et al. Mutations in exons 9 and 13 of *Kit* gene are rare events in gastrointestinal stromal tumors: a study of two hundred cases. *Am J Pathol* 157: 1091-5, 2000.
102. Lauwers GY, Erlandson RA, Casper ES, Brennan MF, Woodruff JM. Gastrointestinal autonomic nerve tumors. A clinicopathologic immunohistochemical and ultrastructural study of 12 cases. *Am J Surg Pathol* 17: 887-97, 1993.
103. Lavin P, Hadju SI, Foote FW. Gastric and extragastric leiomyoblastomas. Clinicopathologic study of 44 cases. *Cancer* 29:305-11, 1972.
104. Leader M, Collins M, Patel J, Henry K. Antineuron specific enolase staining reactions in sarcomas and carcinomas: Its lack of neuroendocrine specificity. *J Clin Pathol* 39:1186-92, 1986.
105. Lecoin L, Gabella G, Le Dourain N. Origin of the *c-kit* positive interstitial cells in the avian bowel. *Development* 12: 725-33, 1996.
106. LeeYT. Leiomyosarcoma of the gastrointestinal tract: general pattern of metastasis and recurrence. *Cancer Trac Rev* 10:91-101, 1983.
107. Lee JR, Joshi V, Griffin JW Jr, Lasota J, Miettinen M. Gastrointestinal autonomic nerve tumor immunohistochemical and molecular identity with gastrointestinal stromal tumor. *Am J Surg Pathol*, 25: 979-87, 2001.
108. Lee JS, Nascimento AG, Farnell MB, Carney JA, Harmsen WS, Ilstrup DM. Epithelioid gastric stromal tumors (leiomyoblastomas). A study of fifty-five cases. *Surgery* 118:653-60, 1995.
109. Lerma E, Lee SJ, Tugues D, Oliva E, Gich I, Prat J. Ploidy of 36 stromal

tumors of the gastrointestinal tract. A comparative study with flow cytometry and image analysis. Anat Quant Cytol Histol 16: 435-40, 1994.

110. *Lerma E, Oliva E, Tugues D, Prat J. Stromal tumours of the gastrointestinal tract: a clinicopathological and ploidy analysis of 33 cases. Virchow Arch 424:19-24, 1994.*
111. *Lespi PJ, Drut R. Tumor autonómico gastrointestinal. Presentación de 5 casos. Patología 37: 111-5, 1999.*
112. *Levy AD, Patel N, About RM, Dow N, Miettinen M, Sobin LH. Gastrointestinal stromal tumors in patients with neurofibromatosis imaging features with clinicopathologic correlation. AJR Am J Roentgenol.;6:1629-36, 2004.*
113. *Levy AD, Patel N, About RM, Dow N, Miettinen M, Sobin LH: from the archives of the AFIP: abdominal neoplasms in patients with neurofibromatosis type I: radiologic-pathologic correlation. Radiographics.;25(2): 455-48, 2005.*
114. *Lewin K, Appelman H. Tumors of the esophagus and stomach. Atlas of tumor Pathology, Armed Forces Institute of Pathology, Third series, Fascicle 18, Washington DC, Edit. Rosai J, Sobin LH, pp 427, 1996*
115. *Longley BJ, Reguera MJ, Ma. Y. Classes of c-KIT activating mutations: proposed mechanisms of action and implications for disease classification and therapy. Leuk Res 25(7):571-6, 2001.*

116. Lux M, Rubin BP, Biase Tl, et al. *KIT extracellular and kinase domain mutations in gastrointestinal stromal tumors. Am J Pathol* 156: 791-5, 2000.
117. Ma CK, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. *Immunohistologic characterization of gastrointestinal stromal tumors: a study of 82 cases compared with 11 cases of leiomyomas. Mod Pathol* 6: 139-44, 1993.
118. Ma. CK, Peralta MN, Amin MB, Linden MD, Dekovich AA, Kubus JJ, Zarbo RJ. *Small intestinal stromal tumors. A clinicopathologic study of 20 cases with immunohistochemical assessment of cell differentiation and the prognostic role of proliferation antigens. Am J Clin Pathol*, 108: 641-51, 1997.
119. Mackay B, Ro J, Floyd C, Ordóñez NG. *Ultrastructural observations on smooth muscle tumors. Ultrastruc Pathol* 11:593-607, 1987.
120. Maeda H, Yamagata A, Nishikawa S, et al. *Requirement of c-kit for development of intestinal pacemaker system. Development* 116:369-75, 1992.
121. Maiorana A, Fante R, Cesinaro A, Fano R. *Synchronous occurrence of epithelial and stromal tumors in the stomach: a report of 6 cases. Arch Pathol Lab Med*, 124:682-86, 2000.
122. Martin JF, Bazin P, Feroldi J, Cabanne F. *Tumeurs myoïdes intra-murales des l'estomac. Considerations microscopiques a propos de 6 cas. Ann Anat Pathol (Paris)* 13: 25-33, 1960.

123. Matsuda R, Takahashi T, Nakamura S, Sekido Y, Nishida K, Seto T, Sugiera T, Ariyoshi Y, Takahashi T and Ueda R. Expression of c-Kit protein in human solid tumors and in corresponding fetal and adult normal tissues. *Am J Pathol* 142, 339-46, 1993.
124. Matsumoto K, Min W, Yamada N, Asano G. Gastrointestinal autonomic nerve tumours: Immunohistochemical and ultrastructural studies in cases of gastrointestinal stromal tumor. *Pathol Int*,;47:308-11, 1997.
125. Mazur MT, Clark HB. Gastric stromal tumors reappraisal of histogenesis. *Am J Surg Pathol* 7: 507-19, 1983.
126. Medeiros F, Duensing A, Hornick JL, Oliveria AM, Fletcher JA, Fletcher CDM. KIT negative gastrointestinal stromal tumors (Abstract) *Mod Pathol*, 16:128 A. 2003.
127. Meyling HA. Structure and significance of the peripheral extension of the autonomic nervous system. *J Comp Neurol* 99:495-543, 1953.
128. Miettinen M. Gastrointestinal stromal tumors: An immunohistochemical study of cellular differentiation. *Am J Clin Pathol* 89: 601-10, 1988.
129. Miettinen M, El-Rifai W, H L Sobin L, Lasota J. Evaluation of malignancy and prognosis of gastrointestinal stromal tumors: a review. *Hum Pathol*; 33:478-83, 2002.
130. Miettinen M, Furlong M, Sarlomo-Rikala M, Burke A, Sobin L, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors intramural leiomyomas and leiomyosarcomas in the rectum and anus. A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 144 cases. *Am J Surg Pathol*, 25(9): 1121-33, 2001.
131. Miettinen M, Kopczynski J, Makhlouf HR, Sarlomo-Rikala M, Gyorffy H, Burke A, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors, intramural leiomyomas, and leiomyosarcomas in the duodenum.

Am J Surg Pathol, 27:625-41, 2003.

132. Miettinen M, Kraszewska E, Sobin LH, Lasota J. A nonrandom association between gastrointestinal stromal tumors and myeloid leucemia. *Cancer*, 112(3):645-49, 2008.
133. Miettinen M, , Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Arch* 438: 1-12, 2001.
134. Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors- new findings on their biology. A review. *Hum Pathol* 23: 1209-20, 1999.
135. Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Sobin LH, et al. Esophageal stromal tumors: A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 74 cases and comparison with esophageal leiomyomas and leiomyosarcomas. *Am J Surg Pathol* 24: 211-22, 2000.
136. [Miettinen M](#), [Sarlomo-Rikala M](#), [Lasota J](#). Gastrointestinal stromal tumours.[Review] [27 refs]. *Annales Chirurgiae et Gynaecologiae*. 87(4):278-81, 1998.
137. Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Sobin L, Lasota J. Gastrointestinal Stromal Tumors and Leyomiosarcomas in the Colon. A Clinicopathologic, Immunohistochemical, and Molecular Genetic Study of 44 Cases. *Am J Surg Pathol* 24 (10): 1339-52, 2000.
138. 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* 13:1134-42, 2000.

139. Miettinen M, Virolainen M, Sarlomo-Rikala M. Gastrointestinal stromal tumors- value of CD34 antigen in their identification and separation from true leiomyomas and schwannomas. *Am J Surg Pathol* 19: 207-16, 1995.
140. Mikhael AI, Bacchi CE, Zarbo RJ, Ma CK; Gown AM. CD34 expression in stromal tumors of the gastrointestinal tract. *Appl Immunohistochem* 2: 89-93, 1994.
141. Min KW. Small intestinal stromal tumors with skeinoid fibers. *Clinopathological, immunohistochemical, and ultrastructural investigations. Am J Surg Pathol* 16:145- 55, 1992.
142. Monihan JM, Carr NJ, Sobin LH. CD 34 immunoexpression in stromal tumours of the gastrointestinal tract and in mesenteric fibromatoses. *Histopathology* 25: 469-73, 1994.
143. Montgomery E, Tobertson MS, Causal M, Fisher C, Abraham SC. Beta-catenin immunohistochemistry separates mesenteric fibromatosis from gastrointestinal stromal tumor and sclerosing mesenteritis. *Am J Surg Pathol*, 26: 1296-1301, 2002.
144. Moore, B.W. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* 19: 739-44, 1965.
145. Moral Moral G, Gil Piedra F, Velasco Osés A, Seco Gil, JL, de la Plaza Galindo M, Santamaría García, JL. Tumores estromales del tubo digestivo. Valor pronóstico del índice mitótico.

Rev Esp Enferm Dig 90(5): 335-9, 1998.

146 Morson BC, Dawson IMP. *Gastrointestinal Pathology. Second, Edition.*

Oxford, London, Edinburgh. Edited by Blackwell scientific

publications, Melbourne. Vol. II. Section 3 pp. 368-71, 1974.

147. Morson BC, Dawson IMP. *Gastrointestinal Pathology. Fourth, Edition.*

Oxford, London, Edinburgh, Edited by Blackwell scientific publications,

Melbourne. Vol. II, Cap. 25, pp 384, 2003.

148. Moskaluk CR, Tian Q, Marshall Cr, et al. *Mutations of c-kit JM domain are found in a minority of human gastrointestinal stromal tumors.*

Oncogene 18: 1897-902, 1999.

149. Muller E. *Zur Kenntniss der Ausbreitung und Endigungsweise der Magen*

Darm- und Pankreas-Nerven. Arch Mikrosk Anat 40: 390-409, 1892.

150. Nakahara M, Isozaki K, Hirota S et al. *A novel gain-of-function*

mutation of c-kit gene in gastrointestinal stromal tumors. Gastroenterology;
115:1090-5, 1998.

151. Nemiloff A. *Zur Frage der Nerven des Darmscanals bei den Amphibien.*

Trav Soc Imp Natur Petersbourg 32: 59-88, 1902.

152. Newman PL, Wadden C, Fletcher CDM. *Gastrointestinal stromal tumors:*

correlation of immunophenotype with clinicopathological features.

J Pathol 164: 107-17, 1999.

153. Ng EH, Pollock RE, Munsell MF, Atkinson EN, Romsdahl MM.
Prognostic factors influencing survival in gastrointestinal leiomyosarcomas. Implications for surgical management and staging. Ann Surg 215: 68-77, 1992.
154. Ng E, Pollock RE, Rohmsdahl MM. *Prognostic implication of patterns of failure for gastrointestinal leiomyosarcomas. Cancer* 69:1334-41, 1992.
155. Nishida T, Hirota S. *Biological and clinical review of stromal tumors in the gastrointestinal tract. Histopathology; 15: 1293-301, 2000.*
156. O'Brien P, Kapusta L, Dardick I, Axler J, Gnidec A *Multiple familial gastrointestinal autonomic nerve tumors and small intestinal neuronal dysplasia. Am J Surg Pathol, 23:198-204, 1999.*
157. Ojanguren J, Ariza A, Navas-Palacios JJ. *Gastrointestinal autonomic nerve tumor: further observations regarding an ultrastructural and immunohistochemical analysis of six cases. Hum Pathol, 27:1311-5, 1996.*
158. O'Leary T, Ernst S, Przygodzki R, Emory T, Sobin L. *Loss of heterozygosity at 1p36 predicts poor prognosis in gastrointestinal stromal/smooth muscle tumors. AFIP Letter 158(2): 19. 2000.*
159. Ortega Medina L; Saiz-Pardo Sanz M. *Cambio conceptual de los tumores del estroma gastrointestinal (GISTs) y criterios de malignidad. Oncología, 27(4): 237-41, 2004.*
160. Ortiz-Hidalgo C, Leon Bojorge B, Albores-Saavedra J. *Stromal tumor of the gallbladder with phenotype of interstitial cells of Cajal. A previously unrecognized neoplasm. Am J Surg Pathol 24(10):1420-3, 2000.*

161. Oyama T, Watanabe H, Iwafuchi M, Maejima T, Ajioka Y. Diagnostic value of proliferating cell nuclear antigen for myogenic tumors of the stomach. *Gastroenterol Jpn* 28:193-200, 1993.
162. Palomino Portilla EA. Tumores Estromales Gastrointestinales. *Enfermedades del Aparato Digestivo* 6(2): 19-25, 2003.
163. Patel R, Goldblum JR, Antonescu CR. Mutational analysis of c-kit in extragastrointestinal tract stromal tumors (EGIST): a molecular study of six cases (Abstract) *Mod Pathol* 16: 18 A-19 A, 2003.
164. Paterno E, Avagnina A, Simian S, Elsner B. Immunohistochemical identification of mesenchymal tumors of the gastrointestinal tract. *Medicina* 46:657-61, 1986.
165. Pauls K, Merkelbach-Bruse S, That D, Büttner R & Wardelmann. PDGFR α - and c-Kit-mutated gastrointestinal stromal tumours (GISTs) are characterized by distinctive histological and immunohistochemical features. *Histopathology* 46, 166-75, 2005.
166. Perez-Atayde AR, Schamberg RC, Kozakewich HW. Neuroectodermal differentiation of the gastrointestinal tumors in the Carney triad. An ultrastructural and immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol* 17: 706-14, 1993.

167. Persson S, Kindblom LG, Angervall L, Tisell LE. *Metastasizing gastric epithelioid leiomyosarcomas (leiomyoblastomas) in young individuals with long-term survival. Cancer 70: 721-32, 1992.*
168. Pike AM, Lloyd RV, Appelman HD. *Cell markers in gastrointestinal stromal tumors. Hum Pathol 19: 830-4, 1988.*
169. Pizzimbono CA, Higa E, Wise L. *Leiomyoblastoma of the lesser sac. Case report and review of the literature. Am Surg 39: 692-9, 1973.*
170. Plaat BE, Hollema H, Molenaar WM, Broers GH, Pijpe J, Mastik MF, Hoekstra HJ, van den Berg E, Scheper RJ, van der Graaf WT. *Soft tissue leiomyosarcomas and malignant gastrointestinal stromal tumors: differences in clinical outcome and expression of multidrug resistance proteins. J Clin Oncol, 18:3211- 20, 2000.*
171. Ranchod M, Kempson RL S. *Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract and retroperitoneum: a pathologic analysis of 100 cases. Cancer 39:255-62, 1977.*
172. Ray R, Tahan SR, Andrews C, Goldman H. *Stromal tumors of the stomach. Prognostic value of the PCNA index. Mod Pathol; 7: 26-30, 1994.*
173. Reith JD, GoldblumJR, Lyles RH, et al. *Extragastrointestinal (soft tissue) stromal tumors: an analysis of 48 cases with emphasis on histologic predictors of outcome. Mod Pathol; 13:577-85, 2000.*
174. Ridell RH, Petras RE, Geraint TW, Sobin LH. *Tumors of the intestines. Atlas of Tumor Pathology, Armed Forces Institute of Pathology, Third series, Fascicle 32, Washington DC, Edit. Rosai J, Sobin LH, pp 330-6, 2003.*

175. Roy M, Sommers SC. *Metastatic potential of gastric leiomyosarcoma. Pathol Res Pract* 185:874-7, 1989.
176. Rosai J. *Stromal tumors. Ackerman's Surgical Pathology, ed 8. St. Louis, Mosby, Vol I, Chapter 11, pp.691-3, 1996.*
177. Rosai J. *Stromal tumors. Ackerman's Surgical Pathology, ed 9. St. Louis, Mosby, , Vol I, Chapter 10, pp.674-80, 2004.*
178. Rosai J. *Stromal tumors. Ackerman's Surgical Pathology, ed 9. St. Louis, Mosby, , Vol 1, Chapter 10, pp.734-35, 2004.*
179. Rossi G, Valli R, Bertolini F, Marchioni, Cavazza A, Mucciarini M, Migaldi M, Federico M, Trentini GP & Sgambato A. *PDGFR expresión in differential diagnosis between KIT-negative gastrointestinal stromal tumours and other primary soft-tissue tumours of the gastrointestinal tract. Histopathology* 46, 522-31, 2005.
180. Rubin, BP, Fletcher, JA, Fletcher, CD. *Molecular insights into the histogenesis and patogénesis of gastrointestinal stromal tumors. Int J Surg Pathol*;8:5, 2000.
181. Rudolph P, Chiaravalli AM, Pauser U, Oschlies J, Hillemanns M, Gobbo M, Marichal, Eusebi V, Hofler H, Capella C, Kloppner G. *Gastrointestinal mesenchymal tumors – immunophenotypic classification and survival analysis. Virchows Arch*, 441:238-48, 2002.

182. Rumessen JJ. *Ultrastructure of interstitial cells of Cajal at the colonic submuscular border in patients with ulcerative colitis.*
Gastroenterology 111: 1447-55, 1996.
183. Rumessen JJ, Mikkelsen HB, Ovortrup K, Thuneberg L. *Ultrastructure of interstitial cells of Cajal in circular muscle of human small intestine.*
Gastroenterology 104:343-50, 1993.
184. Rumessen JJ, Mikkelsen HB, Thuneberg L. *Ultrastructure of interstitial cells of Cajal associated with deep muscular plexus of human small intestine.*
Gastroenterology 102:56-68, 1992.
185. Rumessen JJ, Peters S, Thuneberg L. *Light and electron microscopical studies of interstitial cells of Cajal and muscle cells at the submucosal border of the human colon. Lab Invest 68: 1437-46, 1993.*
186. Rumessen JJ, Thuneberg L. *Interstitial cells of Cajal in human small intestine. Ultrastructural identification and organization between the main smooth muscle layers. Gastroenterology 100: 1417-31, 1991.*
187. Sakurai S, Oguni S, Hironaka M, Fukayama M, Morinaga S, Saito K.
Mutations in c-kit gene exons 9 and 13 in gastrointestinal stromal tumors

among japanese. Jpn J Cancer Res 92(5): 494-8, 2001.

188. Salazar H, and Totten RS. *Leiomyoblastoma of the stomach. An ultrastructural study. Cancer 25: 176-85, 1970.*
189. Samar ME, Avila RE, Ruiz E. *Edic. 2. Técnicas Histológicas: Fundamentos y Aplicaciones. Córdoba. Argentina. Seis-C Impresiones, p 16, 2004.*
190. Sanders KM. *A case for interstitial cells of Cajal as pacemakers and mediators of neurotransmission in the gastrointestinal tract. Gastroenterology 111:492-515, 1996.*
191. Sarlomo-Rikala M, El-Rifai W, Latineen T, Andersson LC, Miettinen M, Knuutila S. *Different patterns of DNA copy number changes in gastrointestinal stromal tumors, leiomyomas, and schwannomas. Hum Pathol, 29:476-81, 1998.*
192. Saul SH, Rast Ml, Brooks JJ. *The immunohistochemistry of gastrointestinal stromal tumors. Evidence supporting origin from smooth muscle. Am J Surg Pathol 11: 464- 73, 1987.*
193. Sbaschnig RJ, Cunningham RE, Sobin LH, O'Leary TJ. *Proliferating-cell nuclear antigen immunocytochemistry in the evaluation of gastrointestinal smooth-muscle tumors. Mod Pathol 7:780-3, 1994*
194. Schaldenbrand JD, Appelman HD. *Solitary solid stromal gastrointestinal tumors in von Recklinghausen 's disease with minimal smooth muscle differentiation. Human Pathol 15: 229-32, 1984.*

195. Schimamoto T, Haruma K, Sumii K, Kajiyama G, Tahara E
Flow cytometric DNA analysis of gastric smooth-muscle tumors.
Cancer 70: 2031-4, 1992.
196. Schimamoto T, Haruma K, Tanaka S, Todo H, Yoshihara M, Sumii K,
Kajiyama G. *Usefulness of nucleolar organizer region staining in gastric
myogenic tumors: correlation with ploidy by DNA flow cytometric.*
Oncology 50:52-6, 1993.
197. Shanks JH, Harris M, Banerjee SS, Eyden BP. *Gastrointestinal autonomic
nerve tumours : a report of nine cases. Histopathology* 29: 11-21, 1996
198. Shidham VB, Chivukula M, Gubta D, Rao RN, Komorowski R.
*Immunohistochemical comparison of gastrointestinal stromal tumor and solitary
fibrous tumor. Arch Pathol Lab Med, 126:1189-92, 2002.*
199. Shiu MH, Farr GH, Papachristou DN, Hajdu SI. *Myosarcomas of the
stomach: natural history, prognostic factors and management.*
Cancer 49: 177-87, 1982
200. Shiu MH, Farr GH, Egeli RA, Quan SHG, Hajdu SI. *Myosarcomas of the
small and large intestine. A clinicopathologic study. J Surg Oncol* 24:267-72,
1983.
201. Sircar K, Hewlet BR, Huizinga JD, Chorneyko, Berezin I, Riddell RH
Interstitial cells of Cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors.
Am J Surg Pathol 23 (4): 377-89, 1999 .
202. Starr GF, Dockerty MB. *Leiomyomas and leiomyosarcomas of the small
intestine. Cancer* 8:101-11, 1955

203. Stefansson, K., and Wollman, R.L., and Jercovich, M.S-100 protein in soft tissue tumors derived from Schwann cells and melanocytes. *Am J Pathol* 106:261-8, 1982.
204. Stefansson, K., Wollman, R.L., and Moore B.W. Distribution of S-100 protein outside the central nervous system. *Brain Res* 234: 309-17, 1982.
205. Sternberg, S. *Diagnostic Surgical Pathology, Third edition, Edit Lippincott Williams & Wilkins. Vol 2, Chapter 32, pp. 1337, 1999.*
206. Stirling W, MacDonald JF. The minute structure of the palatine nerves of the frog, and the termination of nerves in blood-vessels and glands. *J Anat Physiol* 17: 293-307, 1883
207. Stout AP. Bizarre smooth muscle tumours of the stomach.; *Cancer* 15: 400-9, 1962
208. Suster S. Gastrointestinal stromal tumors. *Semin Diagn Pathol* 13: 297-313, 1996.
209. Suster S, Sorace D, Moran C. Gastrointestinal stromal tumors with prominent myxoid matrix. Clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural study of nine cases of a distinctive morphologic variant of myogenic stromal tumor. *Am J Surg Pathol* 19(1): 59-70, 1995.
210. Suster S, Fletcher CD. Gastrointestinal stromal tumors with prominent

- signet-ring cell features. Mod Pathol, 9:609-13, 1996.*
211. Suzuki H, Sugihira N. Prognostic value of DNA ploidy in primary gastric leiomyosarcoma. *Br J Surg* 80: 1549-50, 1993.
212. Tadataka Y. *Textbook of Gastroenterology, Third edition and Atlas of Gastroenterology, Edit. Lippincott Williams and Wilkins. 1999.*
213. Tallquist G, Salmela H, Lindstrom BL. Leiomyoblastoma of the stomach. A clinicopathological study of 10 cases. *Acta Pathol Microbiol Scand* 17: 194-202, 1967.
214. Taniguchi M, Nishida T, Hirota S, et al. Effect of c-kit mutation on prognosis of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 59: 4297-300, 1999.
215. Thompson EM, Evans DJ. The significance of PGP 9,5 in tumours: An immunohistochemical study of gastrointestinal stromal tumors. *Histopathology* 17:175-7, 1990.
216. Thomsen TL, Robinson TL, Lee JCF, et al. Interstitial cells of Cajal generate a rhythmic pacemaker current. *Nature Med* 4: 848-51, 1998.
217. Thuneberg L. Interstitial cells of Cajal: intestinal pacemaker cells?. *Advances in Anatomy, Embriology and Cell Biology. Edited by F Beck, W Hild, J van Limborgh, R, Ortmann, JE Pauly, TH Schiebler. Berlin, Heidelberg, New York. Springer Verlag pp 1-130, 1982.*
218. Torishi S, Gerthoffer WT, Kobayashi S, Sanders K. Identification and classification of interstitial cells in the canine proximal colon by ultrastructure and immunocytochemistry. *Histochemistry*;101:169-83, 1994.

219. Tornoczky T, Kalman E, Hegedus G, et al. High mitotic index associated with poor prognosis in gastrointestinal autonomic nerve tumour. *Histopathology*, 35:121, 1999.
220. Torihashi S, Horisawa M, Watanabe Y. c-Kit immunoreactive interstitial cells in the human gastrointestinal tract. *J Auton Nerv Syst*; 75:38-50, 1999.
221. Trupiano JK, Stewart RE, Misick C, Appelman HD, Goldblum JR. Gastric stromal tumors: a clinicopathologic study of 77 cases with correlation of features with nonaggressive and aggressive clinical behaviors. *Am J Surg Pathol*; 26:705-14, 2002.
222. Tsushima K, Rainwater LM, Goellner JR, van Heerden JA, Lieber MM. Leiomyosarcomas and benign smooth muscle tumors of the stomach: Nuclear DNA patterns studied by flow cytometry. *Mayo Clin Proc* 62:275-80, 1987.
223. Tsutsumi Y, Kubo H. Immunohistochemistry of desmin and vimentin in smooth muscle tumors of the digestive tract. *Acta Pathol Jpn* 38:455-69, 1988.
224. Tsuura Y, Hiraki H, Watanabe K, Igarashi S, Shimamura K, Kukuda T, Suzuki T and Seito Y. Preferential localization of c-Kit product and tissue mast cells, basal cells of skin, epithelial cells of breast, small cell lung carcinoma and seminoma/dysgerminoma in human, immunohistochemical study of formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Virch Arch* 424, 135-41, 1994.
225. Tworek JA, Appelman HD, Singleton TP, Greenson JK. Stromal tumors of the jejunum and ileum. *Mod Pathol* 10: 200-9, 1997.
226. Tworek JA, Goldblum JR, Weiss SW, et al. Stromal tumors of the anorectum: a clinicopathologic study of 22 cases.

- Am J Surg Pathol* 23: 946-54, 1999.
227. Ueyama T, Guo K.J, Hashimoto H, Daimaru Y, Enjoji M. A clinicopathologic and immunohistochemical study of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer* 69: 947-55, 1992.
228. Vanderwinden JM, Rumessen JJ, Liu H, et al. Interstitial cells of Cajal in human colon and in Hirschprung's disease. *Gastroenterology* 111: 901-10, 1996.
229. van de Rijn M, Rouse RV. CD34. A review. *Appl Immunohistochem* 2:71-80, 1994.
230. Von Kolliker. Beitrage zur Kenniss der glatten Muskeln. *Z Wiss Zool* 1:48-87, 1849.
231. Vrettou E, Karkavelas G, Christoforidou B, Meditskou S, Papadimitriou CS. Immunohistochemical phenotyping and PCNA detection in gastrointestinal stromal tumors. *Anticancer Res* 15:943-9, 1995.
232. Walker P, Dvorak AM. Gastrointestinal autonomic nerve (GAN) tumor. Ultrastructural evidence for a newly recognized entity. *Arch Pathol Lab Med* 110: 309-16, 1986.
233. Walsh TH, Mann CV. Smooth muscle neoplasms of the rectum and anal canal. *Br J Surg* 71: 597-9, 1984.
234. Wang L, Vargas H, French SW. Cellular origin of gastrointestinal stromal tumors: a study of 27 cases. *Arch Pathol Lab Med*, 124: 1471-5, 2000.

235. Ward SM, Torihashi S. Morphological changes during ontogeny of the canine proximal colon. *Cell Tissue Res*; 282:93-108, 1995.
236. Wardelmann E, Neidt J, Bierhoff E, Speidel N, Manegold C, Fischer HP, Pfeifer U, Pietsch T. C-kit mutations in gastrointestinal stromal tumors occur preferentially in the spindle rather than in the epithelioid cell variant. *Mod Pathol*, 15: 125-136, 2002
237. Welsh RA, Meyer AT. Ultrastructure of gastric leiomyoma. *Arch Pathol* 87:71-81, 1969.
238. Weiss RA, Mackay B. Malignant smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract: an ultrastructural study of 20 cases. *Ultrastruct Pathol* 2: 231-40; 1981.
239. Wijsman JH, Van Dierendonck JH, Keijzer R, van de Velde CJ, Cornelisse CJ Immunoreactivity of proliferating cell nuclear antigen compared with bromodeoxyuridine incorporation in normal and neoplastic rat tissue. *J Pathol* 168:75-83, 1992.
240. Wilson JM, Melvin DB, Gray GF, Thorbjarnarson B. Primary malignancies of the small bowel. A report of 96 cases and review of the literature. *Ann Surg*, 180:175-79, 1974.

241. Wurlitzer FP, Mares AJ, Isaacs H Jr, Handling BH, Woolley MM. Smooth muscle tumors of the stomach in childhood and adolescence. *J Pediatr Surg* 8: 421-7, 1973.
242. Yamataka A, Kato Y, Tibboel D, Murata Y, Sueyoshi N, Fujimoto T, Nishiye H, Myrano T. A lack of intestinal pacemaker (c-kit) in aganglionic bowel of patients with Hirschsprung's disease. *J Pediatr Surg* 30:441-4, 1995.
243. Yan H, Marchettini P, Acherman Y, Gething SA, Brun E, Sugarbaker PH. Prognostic assessment of gastrointestinal stromal tumor. *Am J Clin Oncol Cancer Clin Trials*; 26:221-8, 2003.
244. Yantis RK, Rosenberg AE, Selig MK, Nielsen GP. Gastrointestinal stromal tumors: an ultrastructural study. *Int J Surg Pathol*, 10: 101-113, 2002.
245. Yantis RK, Spiro I, Compton C, Rosemberg AE. Gastrointestinal stromal tumor versus intra-abdominal fibromatosis of the bowel wall. A clinically important differential diagnosis. *Am J Surg Pathol* 24 (7):947-57 2000.
246. Yarden Y, Kuang WJ, Yang-Feng T, Coussens L, Munemitsu S, Dull JT, Chen E, Schlessinger J, Francke U, Ulrich A. Human proto-oncogene c-Kit: a new cell surface receptor tyrosine kinase for a unidentified ligand. *EMBO J* 6: 3341-51. 1987.
247. Young HM, Ciampoli D, Southwell BR. Newgreen DF. Origin of interstitial cells of Cajal mouse intestine. *Dev Biol* 180: 97-107. 1996.

248. Yu CC-W, Fletcher CDM, Newman PL, et al. 1996. *A comparison of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining, nucleolar organizer region (AgNOR) staining, and histological grading in gastrointestinal stromal tumors. J Pathol 116:147-52, . 1992.*
249. Yung-Ming J, Tsui-Lien M, Weng-Ming H, Shiu-Feng H and Hey-Chi H *Congenital interstitial cell of Cajal hyperplasia with neuronal intestinal dysplasia. Am J Surg Pathol 24(11):1568-72, 2000.*
250. Zhang Z, Zhang R, Joachimiak A, et all. *Crystal structure of human stem cell factor: Implication for stem factor receptor dimerization and activation. Pro Natl Acad Sci USA 97: 7732-7, 2000.*
251. Zukerberg LR, Cinti S, Dickersin GR *Mitochondria as a feature of smooth muscle differentiation: A study of 70 smooth muscle tumors. J Submicrosc Cytol Pathol 22:335-44, 1990.*

ANEXOS

ABREVIATURAS

AEC: Aminoetilcarbazol

AFIP (Armed Forces Institute of Pathology): Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas)

Bcl-2: Proteína 2 del linfoma de células B.

cga: campo de gran aumento (40 X).

CIC: células intersticiales de Cajal o células marcapasos gastrointestinales.

CIC-IM: Célula intersticial de Cajal intramuscular.

CIC-PM: Célula intersticial de Cajal en plexo mioentérico.

CIC-PMP: Célula intersticial de Cajal en plexo muscular profundo.

CIC-SM: Célula intersticial de Cajal en región submuscular.

cma: campo de mayor aumento.

CUC: Colitis ulcerosa crónica.

DAB: Diaminobencidina.

Des: Desmina.

EGFR (epidermic growth factor receptor): receptor de factor de crecimiento epidérmico.

EGIST (extragastrointestinal stromal tumor): Tumor estromal extra-gastrointestinal.

FDA (Food Drug Administration): Administración de Drogas y Alimentos de EEUU.

GANT(gastrointestinal autonomic tumor): Tumores del sistema nervioso autónomo gastrointestinal.

GIMT: Tumores mesenquimáticos gastrointestinales.

GIPACT: (gastrointestinal pacemaker tumor) Tumores gastrointestinales de células marcapasos.

GISTs: (gastrointestinal stromal tumors): Tumores estromales gastrointestinales.

H&E: Hematoxilina-Eosina.

Ig G: Inmunoglobulina G.

IHQ: Inmunohistoquímica.

kDa: kilo Dalton.

KPBS: Solución salina de Potasio y Fosfato Bufferado.

LMC: Leucemia Mieloide Crónica.

mM: milimolar

ME: Microscopio Electrónico.

mg/mL: miligramos por microlitro.

μ g/mL: micro gramo por micro litro.

mmol/L: milimol por litro.

MO: Microscopio Optico.

mol/L: moles por litro.

NSE: Enolasa neurona específica.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PAS: Acido peryodico de Schiff.

PCNA: Antígeno de proliferación celular nuclear.

PDGFR (platelet derivated growth factor receptor): receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas.

PGP 9,5: Genes de proteínas del producto 9,5.

pH: menos logaritmo de la concentración de protones (hidrogeniones – H_3O^+).

Ph.: Filadelfia.

receptor c-Kit: receptor tirosin-quinasa.

SCF (stem cell factor): Factor de células madre.

SMA: Actina de músculo liso.

SMT-UMP: Tumores de músculo liso de potencial maligno incierto.

GLOSARIO

Acrónimo: es una forma de abreviación, es decir, un término formado por la primera letra de cada palabra en una frase.

Alelos: son las formas alternativas del programa de un gen

Aneuploide: célula que posee un complemento cromosómico que no es múltiplo exacto del número haploide (23 cromosomas)

Anticuerpo: también conocidos como inmunoglobulinas. Son glucoproteínas del tipo gamma globulina. Pueden encontrarse en forma soluble en la sangre o en otros fluidos corporales. Son empleados para identificar y neutralizar elementos extraños.

Antígeno: toda sustancia capaz de desencadenar una respuesta inmune.

Apoptosis: Muerte celular inducida por un programa intracelular (“muerte celular programada”) Las células activan enzimas que degradan el propio ADN y las proteínas nucleares y citoplasmáticas.

Bcl 2: inhibidor de apoptosis