

## I TUMORI STROMALI GASTRO-INTESTINALI (GIST) IN CANTON TICINO, 1999-2005: DEFINIZIONI, EPIDEMIOLOGIA, PATOLOGIA E BIOLOGIA MOLECOLARE

P. Mazzola, A. Spitale, M. Frattini, D. Soldini, A. Bordini, L. Mazzucchelli

I tumori stromali gastrointestinali ("gastrointestinal stromal tumors", GISTs) sono tumori rari (il tasso di incidenza è di circa 1.47 casi per 100'000 abitanti/anno, in Ticino), dal comportamento in parte aggressivo, comprendenti le più comuni forme di neoplasia non epiteliale insorgenti nella parete del tratto gastrointestinale. Talvolta si presentano come voluminose masse addominali, spesso asintomatiche, la cui diagnosi è frequentemente effettuata in fase avanzata mediante un esame radiologico, oppure in emergenza per un'improvvisa emorragia gastrointestinale, o casualmente in seguito ad altre cure.

In passato erano classificati come neoplasie benigne o maligne della muscolatura liscia, quali leiomiomi, leiomiomi cellulari, leiomioblastomi, leiomiosarcomi, oppure angiosarcomi o tumori del sistema nervoso autonomo gastrointestinale (GANT).<sup>1-4</sup> Successivamente, risultò evidente che i GISTs presentavano peculiarità morfologiche ed immunofenotipiche tali da distinguerli in una nuova entità.

### Anatomia-patologica

Attualmente si suppone che i GISTs originino dalle cellule interstiziali di Cajal oppure da una cellula staminale

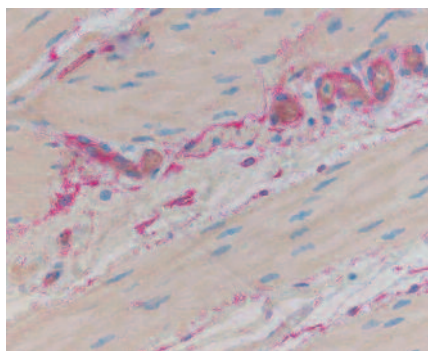
pluripotente del tratto gastrointestinale. Le cellule di Cajal sono localizzate prevalentemente nel plesso nervoso di Auerbach della parete intestinale (**Figura 1**), dove esercitano una funzione di controllo e regolazione della peristalsi gastrointestinale. Macroscopicamente i GISTs si presentano come masse di aspetto sferico a contorni bozzoluti che possono raggiungere diversi centimetri di grandezza e deformano la parete gastrica oppure intestinale. Non di rado, soprattutto nello stomaco, si osserva un'ulcera della mucosa sovrastante d'origine ischemica che può dar luogo ad emorragie importanti. La superficie di taglio si presenta tipicamente bianca, fibrosa e fascicolata (**Figura 2**), a volte con cavità centrale. All'esame istologico i GISTs possono presentarsi come neoplasie a cellule fusate, epitelioidi o miste (**Figura 3, A e B**). L'aspetto microscopico è tuttavia estremamente variato per cui viene raccomandato di verificare la diagnosi con indagini immunocistochemiche. In particolare, i GISTs esprimono CD117 (tyrosine kinase receptor kit, c-kit) nel 95% dei casi<sup>1,5</sup> e CD34 (un recettore di cellule staminali) nel 60-70% dei casi (**Figura 3, C e D**). Il profilo immunocistochemico è molto caratteristico

e permette di solito di escludere altre neoplasie intra-addominali con aspetti morfologici simili quali una fibromatosi oppure neoplasie leiomiomatose o schwannomi.

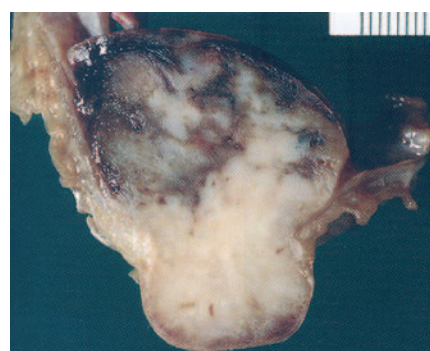
Proprio l'utilizzo di tecniche immunocistochemiche ha permesso alla fine degli anni '80 di distinguere i GISTs dalle neoplasie muscolari, in base alla peculiare espressione di CD34. Alla metà degli anni '90 venne per la prima volta descritta l'espressione di CD117, che oggi viene considerata tipica per questa neoplasia. Nel 1998 Hirota et al., attraverso la scoperta che la maggior parte dei GISTs è caratterizzata da una mutazione di c-kit, delucidarono i meccanismi patogenetici della neoplasia e aprirono la via a numerosissimi studi clinici con farmaci mirati su questo particolare recettore (vedi sotto).<sup>6</sup>

### Aspetti clinici e di biologia molecolare

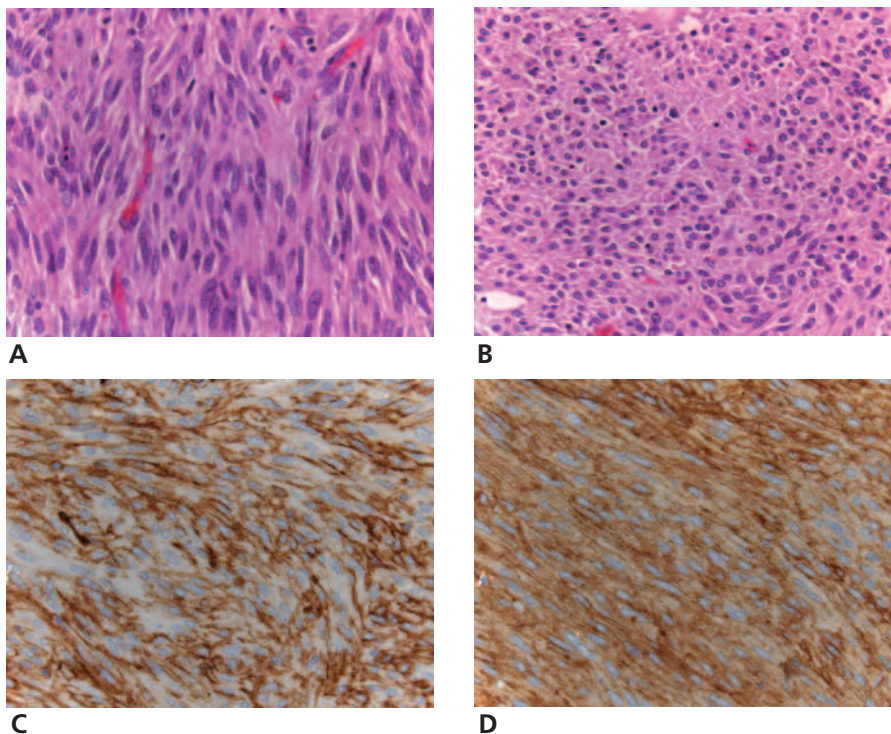
I GISTs insorgono generalmente in pazienti con un'età compresa tra 60-80 anni (intervallo: 20-90 anni, età mediana: 65 anni), si distribuiscono uniformemente tra uomini e donne, interessano soprattutto lo stomaco e l'intestino tenue. Altre localizzazioni, quali esofago, colon e retto, sono rare.



**Fig. 1:** Cellule di Cajal evidenziate in rosso con analisi immunocistochemiche per CD34. Le cellule di Cajal possiedono dei dendriti ed avvolgono cellule gangliari del plesso nervoso situato nella parete muscolare dell'intestino



**Fig. 2:** GIST dello stomaco con superficie di taglio bianca e fascicolata e zone emorragiche



**Fig. 3:** A e B: GIST con aspetti a cellule fusate ed a cellule epitelioidi  
C e D: esami immunohistochimici con espressione CD34 e CD117

È opinione ormai comune che il comportamento dei GISTs sia influenzato dalla sede di origine: le lesioni insorte nello stomaco sembrano infatti avere prognosi migliore rispetto a quelle insorte nell'intestino tenue. Oltre alla localizzazione primaria e alla presenza di metastasi sincrone, i fattori prognostici più significativi sono le dimensioni e

l'attività mitotica della neoplasia. È sulla base di tali fattori che è possibile suddividere i GISTs in differenti gradi di aggressività: rischio molto basso, basso, intermedio ed elevato, secondo la classificazione proposta durante il Workshop del 2001 organizzato dal U.S. National Institute of Health (**Tabella 1**).<sup>7</sup>

Grado di Aggressività	Dimensioni	Mitosi / 50 hpf
Molto basso (I)	< 2 cm	≤ 5
Basso (II)	2 - 4.9 cm	≤ 5
Intermedio (III)	< 5 cm	6-10
	5 - 9.9 cm	≤ 5
Elevato (IV)	≥ 5 cm	> 5
	≥ 10 cm	qualsiasi
	qualsiasi	>10

Hpf = "high power field": campo a forte ingrandimento al microscopio

**Tabella 1:** GISTs, aggressività del tumore.

La scelta di esprimere il comportamento biologico di tali neoplasie utilizzando le classi di rischio è dettata dalla loro nota aggressività biologica, senza che tale potenzialità aggressiva sia definibile a priori. Infatti la tendenza di tali tumori è quella di dare luogo a recidive anche dopo alcuni anni dalla prima diagnosi in sede intra-addominale, sia a livello della localizzazione originaria della neoplasia sia a livello del peritoneo e del fegato; pertanto è indicato in ogni caso un follow-up superiore ai 5 anni. Alla luce di casi con metastasi a 30 anni dalla diagnosi è tuttavia raccomandabile un follow-up ancora più lungo.

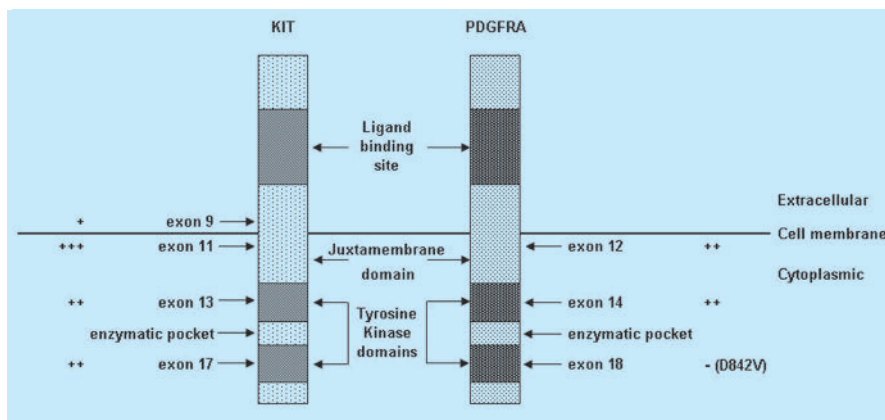
Dal punto di vista genetico, i GISTs rappresentano una malattia neoplastica "semplice": sono caratterizzati infatti soltanto da mutazioni a livello del gene c-kit o del gene PDGFRA, che inducono un'attivazione costitutiva del recettore senza interazione con un ligando. L'identificazione di queste alterazioni riveste un valore prognostico: i tumori recanti mutazioni nell'esone 9 o 11 di c-kit hanno un fenotipo più aggressivo rispetto a quelli con mutazioni in altri esoni di c-kit o a quelli con mutazioni nel gene PDGFRA.<sup>6, 8-9</sup>

Il trattamento primario è rappresentato dalla resezione chirurgica, avendo cura di ottenere un'asportazione completa di tutta la lesione con conferma microscopica di margini di resezione indenni. Infatti, da alcuni studi è emerso che la completezza della resezione chirurgica è un fattore prognostico indipendente, essendo associata ad un decremento significativo della mortalità per recidiva.<sup>6</sup> Per quanto concerne i trattamenti chemioterapici, da alcuni anni è stato introdotto un nuovo farmaco a bersaglio molecolare, l'Imatinib (Gleevec® o STI571), che inibisce l'attività del dominio tirosin-chinasico del gene c-kit o del gene PDGFRA. Secondo alcune linee-guida, tale farmaco dovrebbe essere

somministrato in caso di resezione chirurgica non radicale, oppure in presenza di metastasi alla diagnosi non operabili oppure in caso di recidiva.<sup>10-13</sup> Indagini di biologia molecolare sono fondamentali nel predire l'efficacia del trattamento con Imatinib (**Figura 4**): pazienti recanti mutazioni a livello dell'esone 11 di c-kit manifestano la migliore risposta clinica; coloro che hanno mutazioni nell'esone 13 mostrano una buona risposta; infine quelli con mutazioni nell'esone 9 hanno una risposta intermedia, anche se dati recenti sembrano indicare che tali pazienti mostrino un deciso miglioramento quando ricevono una dose doppia di farmaco (800 mg).<sup>14</sup> Per quanto riguarda il gene PDGFRA, tutte le mutazioni conferiscono buona sensibilità al farmaco, ad eccezione di una specifica, localizzata nell'esone 18 (D842V), che, viceversa, conferisce resistenza ad Imatinib. Pazienti in cui non vi sono mutazioni né nel gene c-kit né nel gene PDGFRA, al contrario, hanno generalmente una peggior risposta a tale farmaco.<sup>5</sup> Infine, pazienti che sono portatori di 2 mutazioni geniche sono generalmente insensibili ad Imatinib, ma possono essere opportunamente indirizzati al trattamento con Sunitinib (Sutent), un farmaco di nuova generazione che è attualmente oggetto di attive indagini da parte della comunità scientifica.

**Epidemiologia e dati relativi al Canton Ticino**

Nonostante il crescente interesse per i GISTs, sia per il loro significato clinico e per la loro natura biologica, sia per una più precisa caratterizzazione della malattia legata alla disponibilità di una terapia diretta verso un bersaglio molecolare specifico, il numero di studi epidemiologici su questi tumori è ancora limitato, in parte perché si tratta di un'entità piuttosto nuova dal punto di vista clinico e morfologico, in parte per la loro rarità, e infine perché



**Fig. 4:** Siti di mutazione di KIT e PDGFRA nei GISTs: indicazione semiquantitativa della probabilità di risposta terapeutica all'Imatinib Gleevec®, (espressa in + oppure -).

la loro registrazione come entità separata non è ancora pratica comune di un gran numero di Registri Tumori su base di popolazione. Infatti, al momento, sono disponibili informazioni complete solo su alcune popolazioni del Nord Europa (Islanda, Svezia Occidentale, Norvegia) e dell'Europa Meridionale (provincia di Girona, Spagna).<sup>15-17</sup> Al fine di fornire un contributo all'epidemiologia dei GISTs (con particolare riguardo all'Europa Centrale, di cui non è disponibile alcun risultato), sia attraverso l'analisi degli indicatori di incidenza e dei principali fattori prognostici sopra descritti, che con indagini di biologia molecolare, è stato condotto uno studio retrospettivo utilizzando la casistica su base di popolazione del Registro Tumori del Canton Ticino e conservata presso l'Istituto cantonale di patologia di Locarno, nel periodo 1999-2005. Sono stati identificati in Ticino 100 possibili casi di GIST, attraverso una ricerca per codice topografico, una per codice morfologico e una per specifici termini od espressioni, come riportato in letteratura.<sup>2</sup> Di questi, 57 sono stati esclusi dall'analisi, 5 perché non residenti in Ticino al momento della diagnosi e 52 perché non rispondenti ai criteri diagnostici di GIST. Per i rimanenti 43 casi di GIST, l'espressione per

il CD117 è risultata molto forte in 40 casi, debole in 2 e non valutabile in un caso per la mancanza del repere. In tabella 2 sono riportate le principali caratteristiche cliniche dei GISTs in Ticino. La distribuzione tra i sessi non presenta significative differenze: 19 uomini (44.2%) e 24 donne (55.8%). L'età mediana alla diagnosi è pari a 64 anni (range: 39-96). La maggior parte dei GISTs insorge nello stomaco (60.5%) e nell'intestino tenue (25.6%). Il diametro mediano del tumore è pari a 6.0 cm (range: 0.4-22.0). I tumori insorti in sede gastrica sono generalmente di dimensioni inferiori rispetto a quelli insorti in sede non-gastrica (4.3 vs 8.0 cm). La distribuzione dei casi secondo il rischio di malignità è la seguente: 9 pazienti (21%) rientrano nello stadio I, corrispondente ad un rischio di malignità molto basso; 11 (26%) nello stadio II (basso rischio di malignità); 6 (14%) nello stadio III (rischio intermedio) e 17 (39%) nello stadio IV (elevato rischio di malignità). Il 19% dei casi è stato individuato casualmente in seguito a procedure chirurgiche per altre cause. Solo 4 pazienti (9.3%) presentano metastasi a distanza al momento della diagnosi. Il tasso di incidenza standardizzato per età sulla popolazione europea è pari a 1.47 casi

	Ticino 1999-2005	Svezia Occidentale 1983-2000 <sup>15</sup>	Girona (Spagna) 1994-2001 <sup>17</sup>	Islanda 1990-2003 <sup>16</sup>
Numero di pazienti	43	288	46	57
Età				
mediana (anni)	64	69	63	66
range	(39 - 96)	(10 - 92)	(26 - 90)	(24 - 90)
Sesso				
donne	24 (55.8%)	144 (50%)	24 (52.2%)	24 (42.1%)
uomini	19 (44.2%)	144 (50%)	22 (47.8%)	33 (57.9%)
Dimensioni della neoplasia				
mediana (cm)	6.0 cm	7.0 cm	-	4.6 cm
range	(0.4 - 22.0)	(0.5 - 35.0)		(0.4 - 20.0)
Classi di rischio NIH				
I	9 (21%)	48 (16.7%)	15 (32.6%)	13 (24.1%)
II	11 (26%)	96 (33.3%)	14 (30.4%)	18 (33.3%)
III	6 (14%)	55 (19%)	17 (37.0%)†	10 (18.5%)
IV	17 (39%)	89 (31%)		13 (24.1%)
Localizzazione primaria				
Esogago	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (3.5%)
Stomaco	26 (60.5%)	170 (59%)	23 (50.0%)	35 (61.4%)
Intestino tenue	11 (25.6%)	97 (33.7%)	20 (43.5%)	17 (29.8%)
Colon-retto	4 (9.3%)	18 (6.3%)	1 (2.2%)	2 (3.5%)
Altro *	2 (4.6%)	3 (1.0%)	2 (4.3%)	1 (1.8%)
Tassi di incidenza (standard: popolazione Europea)	1.47	1.45	0.9	1.1

\* appendice, retroperitoneo, omento

† per Girona (Spagna), i casi ad alto rischio e altamente invasivi sono stati considerati insieme.

**Tabella 2:** Caratteristiche cliniche dei GISTs in Ticino (1999-2005) e in altri studi europei su base di popolazione.

	Ticino, 1999-2005	Norvegia del Nord, 1974-2003 <sup>18</sup>	Joensuu H. <sup>19</sup>
<i>c-kit</i> esone 9	5%	6%	5-15%
<i>c-kit</i> esone 11	60%	65%	60-70%
<i>c-kit</i> esone 13	0%	3%	~ 1%
<i>c-kit</i> esone 17	0%	1%	~ 1%
<i>PDGFRA</i> esone 12	5%	2%	~ 1%
<i>PDGFRA</i> esone 14	0%	-	rare, <1%
<i>PDGFRA</i> esone 18	5%	8%	~ 5%
Wild Type	27.50%	15%	10-15%

**Tabella 3:** Confronto tra le caratteristiche molecolari in Ticino (Europa Centrale), in Norvegia del Nord (Europa Settentrionale) e in una meta-analisi non su base di popolazione.

ogni 100.000 abitanti per l'intero periodo in studio. Anche quando si considerano due periodi distinti, si osserva una sostanziale stabilità del tasso di incidenza (1.44 nel periodo 1999-2002 e 1.51 nel 2003-2005).

Confrontando i risultati dei principali parametri clinici della casistica del Ticino con quelli degli altri paesi dell'Europa del Nord, come Islanda e Svezia Occidentale, e dell'Europa del Sud, come Girona (Spagna)<sup>15-17</sup>, non si notano significative differenze. (**Tabella 2**)

Le analisi di biologia molecolare sono state condotte su 40 casi, in quanto due sono stati esclusi a causa del materiale non adeguato. Nel complesso, 29 casi (72.5%) hanno mostrato mutazioni a livello del gene *c-kit* o nel gene *PDGFRA*. Nel dettaglio, 26 casi sono risultati mutati nel gene *c-kit*, 4 casi nel gene *PDGFRA*, un caso è risultato portatore di una doppia mutazione. Le mutazioni sono state principalmente osservate nell'esone 11 di *c-kit* (24 casi). Nell'esone 9 di *c-kit* e negli esoni 12 e 18 di *PDGFRA* sono state osservate mutazioni in 2 casi ciascuno. Non sono state individuate alterazioni negli esoni 13, 14 e 17 del gene *c-kit* e nell'esone 14 di *PDGFRA* (**Tabella 3**).

Alcune annotazioni interessanti peculiari del Ticino ottenute per confronto con i dati della letteratura<sup>18-19</sup>, riferibili solo ai dati mondiali non su base di popolazione, sono:

- il numero dei pazienti senza mutazione è maggiore (27% vs 15%),
- vi è un'alta incidenza di mutazioni a livello dell'esone 12 di *PDGFRA*,
- le mutazioni nell'esone 11 di *c-kit* sono esclusivamente mutazioni puntiformi (in un numero molto elevato) o delezioni di piccole porzioni, mai inserzioni.

Queste peculiarità possono essere riconducibili a fattori ambientali.

Questo studio su base di popolazione rappresenta il primo contributo di epidemiologia nell'Europa Centrale che include anche un'analisi approfondita di biologia molecolare dei tumori stromali gastrointestinali.

Nonostante la scarsa conoscenza di tali neoplasie ponga ancora diversi interrogativi relativi alla loro istogenesi e classificazione, con questo studio si è voluto evidenziare la loro importanza, in quanto rappresentano un modello per l'utilizzo di farmaci biologici (nel caso specifico, l'Imatinib) che hanno come obiettivo un preciso bersaglio molecolare. Si deve altresì sottolineare che i risultati forniti dall'analisi mutazionale dei geni Kit e PDGFRA, effettuate presso l'Istituto cantonale di patologia di Locarno ([www.ti.ch/icp](http://www.ti.ch/icp)) su materiale fissato in formalina ed incluso in paraffina, rappresentano un'ottima indicazione

- dal punto di vista prognostico, dell'andamento della malattia (più o meno aggressiva, suggerendo quindi controlli di follow-up più o meno ravvicinati);
- dal punto di vista predittivo, dell'efficacia della risposta clinica ad Imatinib;
- per stabilire il corretto dosaggio del farmaco.

In ottemperanza alle più recenti linee-guida internazionali ed in considerazione dei potenziali benefici per i pazienti, si raccomanda pertanto di effettuare le analisi mutazionali al momento della diagnosi sul pezzo operatorio e in ogni caso prima del trattamento chemioterapico.

**Bibliografia**

- 1 Graadt van Roggen JF, van Velthuysen MLF, Hogendoorn PCW. The histopathological differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumors. *J. Clin. Pathol* 2001;54:96-103.
- 2 Miettinen M, Majidi M, Lasota J. Pathology and diagnostic criteria of gastrointestinal stromal tumors (GIST): a review. *Eur J Cancer* 2002;38(suppl):39-51.
- 3 Yamada T. Textbook of gastroenterology, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003. 1434.
- 4 Rubin BP. Gastrointestinal stromal tumors: an update. *Histopathology* 2006;48(1):83-96.
- 5 Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: definition, clinical, histological, immunohistochemical and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virch Arch* 2001;438:1-12.
- 6 Hirota S, Isozaki H, Moriyama Y, Hashimoto K, Nishida T, Ishiguro S, Kawano K, Hanada M, Kurata A, Takeda M, Muhammad Tunio G, Matsuzawa Y et al. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998; 279:577-80.
- 7 Fletcher CDM, Berman JJ, Corless CL, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ, Miettinen M, O'Leary TJ, Remotti H, Rubin BP, Shmookler B, Sobin LH, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Hum. Pathol* 2002;33:459-65.
- 8 Rubin BP, Singer S, Tsao C, Duensing A, Lux ML, Ruiz R, Hibbard MK, Chen CJ, Xiao S, Tuveson DA, Demetri GD, Fletcher CD et al. KIT activation is a ubiquitous feature of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 2001;61:8118-21.
- 9 Corless CL, Schroeder A, Griffith D, Town A, McGreevey L, Harrell P, Shiraga S, Bainbridge T, Morich J, Heinrich MC. PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors: frequency, spectrum and in vitro sensitivity to imatinib. *J Clin Oncol* 2005; 23(23):5357-64.
- 10 Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, Van den Abbeele AD, Eisenberg B, Roberts PJ, Heinrich MC, Tuveson DA, Singer S, Janicek M, Fletcher JA, Silverman SG, et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med* 2002;347:472-80.
- 11 Corless CL, Fletcher JA, Heinrich MC. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2004;22(18):3813-25.
- 12 Penzel R, Aulmann S, Moock M, Schwarzbach M, Rieker RJ, Mechttersheimer G. The location of KIT and PDGFRA gene mutations in gastrointestinal stromal tumors is site and phenotype associated. *J Clin Pathol* 2005;58:634-9.
- 13 Andersson J, Bümbling P, Meis-Kindblom JM, Sihto H, Nupponen N, Joensuu H, Odén A, Gustavsson B, Kindblom L-G, Nilsson B. Gastrointestinal stromal tumors with KIT exon 11 deletions are associated with poor prognosis. *Gastroenterology* 2006; 130:1573-81.
- 14 Verweij J. Seminario "GIST as a paradigm for drug development". IOSI, 05 settembre 2007.
- 15 Nilsson B, Bümbling P, Meis-Kindblom JM, Oden A, Dortok A, Gustavsson B, Sablinska K, Kindblom LG. Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era. A population-based study in Western Sweden. *Cancer* 2005; 103(4):821-9.
- 16 Tryggvason G, Gislason HG, Magnusson MK, Jonasson JG. Gastrointestinal stromal tumors in Iceland, 1990-2003: the Icelandic GIST study, a population-based incidence and pathologic risk stratification study. *Int J Cancer* 2005;117(2):289-93.
- 17 Rubió J, Marcos-Gragera R, Ortiz MR, Miró J, Vilardell L, Gironès J, Hernandez-Yagüe X, Codina-Cazador A, Bernadó L, Izquierdo A, Colomer R. Population-based incidence and survival of gastrointestinal stromal tumors (GIST) in Girona, Spain. *Eur J Cancer* 2007;43(1):144-8.
- 18 Steigen SE, Eide TJ, Wasag B, Lasota J, Miettinen M. Mutations in gastrointestinal stromal tumors - a population-based study from Northern Norway. *APMIS* 2007; 115(4):289-98.
- 19 Joensuu H. Gastrointestinal stromal tumor (GIST). *Ann Oncol* 2006;17(10):280-6. Review.