

Diagnóstico diferencial de tumor estromal gastrointestinal canino*

Differential Diagnosis of Canine Gastrointestinal Stromal Tumor

Conrado de Oliveira Gamba¹, Juliana de Oliveira Silva¹, Liliane Cunha Campos¹, Vanessa Fátima Bernardes², Karine Araújo Damasceno¹, Cristina Maria de Souza¹, Cecília Bonolo de Campos¹ & Geovanni Dantas Cassali¹

ABSTRACT

Background: Stromal Gastrointestinal Tumors (GIST) are rare mesenchymal neoplasms that affect the wall of the gastrointestinal tract (GIT). Histologically this tumor shows a spindle, epithelioid or mixed aspect and routine hematoxylin and eosin (HE) staining does not allow adequate differentiation from other mesenchymal neoplasms. Histochemical and immunohistochemical techniques are useful tools in this differentiation. The aim of this study was to report a case of canine GIST, emphasizing the use of histochemical and immunohistochemical techniques to differentiate it from other histomorphologically similar mesenchymal neoplasms.

Case: A ten-year-old male Pinscher dog was submitted to surgical excision of a tumor in the pyloric region of stomach. The dog was euthanized 90 days after surgery. Tumor specimens were collected, fixed in 10% neutral buffered formalin solution and embedded in paraffin. Afterwards, 4 µm histological sections were obtained and stained with HE and Gomori's Trichrome (GT). For immunohistochemical analysis a biotin-peroxidase system was used and secondary antibodies were identified using Advance HRP. Cytokeratin (CK) AE1/AE3, *c*-KIT, vimentin, Ki-67, S-100 and Smooth Muscle Alfa Actin (SMA) expression were evaluated. For vimentin, CKAE1AE3, SMA, S100 and *c*-KIT antibodies, a semiquantitative method was used and neoplasms were classified as negative (-), positive with focal or multifocal staining (+) and positive with diffuse staining (++) . The proliferative index was calculated by counting nuclei positive for Ki-67 (anti-MIB-1) in a total of 1000 neoplastic cells. Macroscopically, the stomach fragment revealed an intramural nodule covered by mucosa and with a slightly lobulated surface. Microscopically, the neoplastic mass was located in the submucous layer of stomach and composed by a spindle cell proliferation forming intersecting fascicles. Neoplastic cells revealed vacuolated eosinophilic cytoplasm and multiple conspicuous nucleoli. Absence of chromatic affinity for GT was observed in this tumor. Immunohistochemical analysis revealed intense and diffuse cytoplasmic staining for vimentin (++) , moderate and diffuse staining for *c*-KIT (++) , moderate and multifocal staining for S-100 (+) and negative staining (-) for SMA and CK AE1/AE3. The proliferation index was 6.8%.

Discussion: GISTs are mesenchymal neoplasms that affect the GIT. The spindle aspect of this tumor is similar to other mesenchymal tumors of the GIT. A mesenchymal appearance associated with epithelioid areas was observed in this case report. Mesenchymal histogenesis was confirmed by positivity for vimentin and negativity for cytokeratin. GT evaluation revealed absence of muscular and collagenous components within the neoplasm, discarding the diagnosis of leiomyosarcoma or fibrosarcoma. The absence of smooth muscle tumor cells was confirmed by immunohistochemical negativity for SMA. In addition, multifocal and diffuse cytoplasmic immunostaining was observed for S-100 and *c*-KIT, respectively. According the literature, human and canine GISTs are positive for *c*-KIT and negative for S-100. The S-100 expression described in this study, has been reported in humans GISTs and is probably associated with neural differentiation. Therefore, histomorphological and immunohistochemical findings allowed a definitive diagnosis of canine GIST, differentiating the tumour from other mesenchymal neoplasms of the GIT.

Keywords: canine, gastrointestinal tract, GIST, immunohistochemistry.

Descritores: canino, trato gastrointestinal, GIST, imuno-histoquímica.

INTRODUÇÃO

O Tumor Estromal Gastrointestinal (GIST) é uma neoplasia mesenquimal não-linfóide da parede do trato gastrointestinal (TGI) rara tanto na espécie humana quanto na canina [2,8]. Histologicamente as células podem apresentar aspecto fusiforme, epitelióide ou misto [6]. A neoplasia origina-se nas células de Cajal responsáveis pela coordenação da motilidade do TGI [2].

Em colorações de rotina como a Hematoxilina & Eosina (HE) o GIST não pode ser satisfatoriamente diferenciado de outros tumores mesenquimais mais frequentes no TGI como neoplasias de músculo liso, de origem neural e fibroblástica [1]. Essa diferenciação pode ser facilitada pelas técnicas histoquímicas e imuno-histoquímicas [1,3].

Diante disso, o objetivo deste trabalho é relatar e descrever um caso de GIST canino dando ênfase a técnicas histológicas e imuno-histoquímicas que permitem diferenciá-lo de neoplasias mesenquimais do TGI histomorfologicamente semelhantes.

RELATO DE CASO

Um cão macho, raça Pinscher, de dez anos de idade, apresentando vômito recorrente foi submetido ao exame de endoscopia, o qual revelou nódulo estomacal intramural comprimindo a região pilórica. Exérese cirúrgica foi imediatamente realizada. Noventa dias após a cirurgia o animal apresentou piora no quadro clínico com inapetência, perda de apetite e de peso. Por opção do proprietário o animal foi eutanasiado. O nódulo gástrico retirado foi encaminhado ao Laboratório de Patologia Comparada e os fragmentos obtidos foram fixados em formol 10% tamponado, processados por técnica histológica, incluídos em parafina, seccionados e corados por HE e Tricrômico de Gomori (TG). Para o procedimento imuno-histoquímico foi utilizado o sistema de revelação biotina-peroxidase com identificação a partir de anticorpo secundário e revelação polimérica¹. Avaliou-se a expressão de *c-KIT* (policlonal, Dako, 1:300)¹, Citoqueratina (CK) (clone AE1AE3, Dako, 1:100)¹, vimentina (clone V9, Dako, 1:50)¹, Ki-67 (clone Mib-1, Dako, 1:25)¹, S-100 (policlonal, Dako, 1:700)¹ e alfa actina de músculo liso (SMA) (clone 1A4, Dako, 1:100)¹. Para os anticorpos vimentina, CK, SMA, S100 e *c-KIT* utilizou-se avaliação semi-quantitativa classificando a neoplasia em negativa (-), positiva focal ou multifocal (+) e positiva difusa (++) [2]. O índice de proliferação celular foi

obtido pela contagem de núcleos positivos para Ki-67 em um total de 1000 células em aumento de 40x [4].

Macroscopicamente observou-se fragmento de estômago recoberto por mucosa apresentando nódulo intramural medindo 7,0 x 5,5 x 3,5 cm de superfície discretamente lobulada. Ao corte o nódulo apresentou-se firme e revelou massa sólida e homogênea de coloração esbranquiçada.

Microscopicamente observou-se massa neoplásica localizada na camada submucosa do estômago contendo proliferação de células fusiformes arranjadas em feixes dispostos em diversas direções (Figura 1A). As células caracterizaram-se por citoplasma abundante eosinofílico vacuolizado com nucléolos múltiplos e proeminentes. Células com aspecto epitelióide também foram observadas. A neoplasia apresentou índice mitótico baixo, em média 1,3 mitoses por campo de grande aumento (40x). Áreas de necrose e êmbolos tumorais intravasculares foram observados.

Os componentes da neoplasia apresentaram ausência de afinidade cromática para TG. A análise imuno-histoquímica revelou marcação citoplasmática intensa e difusa (++) para o anticorpo vimentina (Figura 1B), de intensidade moderada e difusa (++) para *c-KIT* (Figura 1C), de intensidade moderada e multifocal para S-100 (+) (Figura 1D) e negativa (-) para SMA e CK. O índice de proliferação celular observado foi de 6,8%.

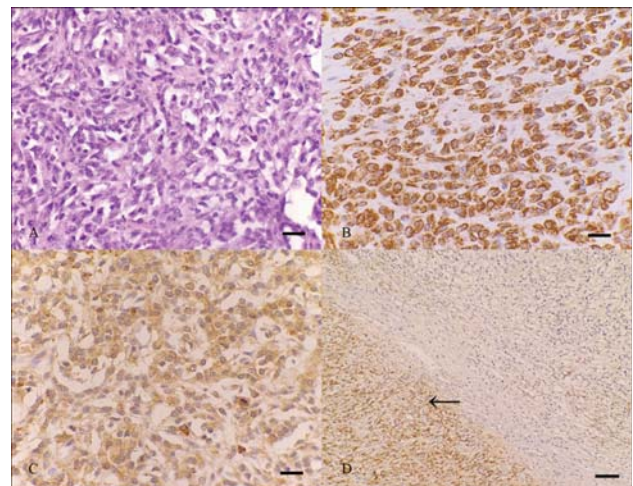


Figura 1. Tumor estromal gastrointestinal canino: A) Proliferação de células fusiformes arranjadas em feixes dispostos em diversas direções. Hematoxilina & Eosina [Barra: 30 µm]. B) Células neoplásicas apresentando imunomarcção citoplasmática intensa difusa para vimentina. Contracoloração Hematoxilina de Harris [Barra: 30µm]. C) Células neoplásicas apresentando imunomarcção citoplasmática difusa de intensidade moderada para *c-KIT*. Contracoloração Hematoxilina de Harris. [Barra: 30 µm]. D) Massa neoplásica apresentando imunomarcção citoplasmática focalmente extensa de intensidade moderada para S-100 (Seta). Contracoloração Hematoxilina de Harris [Barra: 60µm].

DISCUSSÃO

Os GIST são neoplasias mesenquimais que acometem o TGI descritas previamente em ruminantes, equinos, cães, gatos e humanos [5,7,9-11]. Seu aspecto fusiforme pode gerar dúvidas pela similaridade com outras neoplasias mesenquimais que acometem o TGI como os fibrossarcomas, leiomiossarcomas e schwannomas. Nesse sentido as técnicas histoquímicas e imuno-histoquímicas são extremamente úteis para determinação do diagnóstico definitivo do GIST.

Na neoplasia relatada observou-se aspecto predominantemente mesenquimal associado a áreas epitelióides multifocais. O caráter maligno da neoplasia foi evidenciado por invasão vascular, pleomorfismo celular e necrose. A positividade para vimentina e negatividade para citoqueratina permitiu a confirmação da histogênese mesenquimal. Marcação positiva para vimentina foi descrita em GISTs e neoplasias de músculo liso do TGI canino [2].

A avaliação de TG demonstrou ausência de componentes musculares e colagenosos no interior da neoplasia descartando a possibilidade de um fibrossarcoma e de leiomiossarcoma. Além disso, a análise imuno-histoquímica demonstrou negatividade para alfa actina de músculo liso que, segundo Frost *et al.* [5], é

difusamente expressa em neoplasias de músculo liso do TGI canino.

Na avaliação da expressão da proteína S-100 e *c-KIT* observaram-se positividade citoplasmática multifocal e difusa, respectivamente. Neoplasias de origem neural do TGI em humanos são caracterizadas por positividade difusa de intensidade forte de marcação para S-100 e ausência de expressão de *c-KIT* [12]. Os GISTs descritos em humanos, felinos, equinos e caninos [3,5,10] são caracterizados pela expressão difusa de *c-KIT* assim como observado no presente relato. A positividade focal para S-100 em GISTs humanos foi associada à diferenciação neural por Yamagushi et al. [12] o que corrobora com o achado do GIST canino descrito.

Desta forma, a neoplasia mesenquimal do TGI relatada foi diagnosticada como GIST. Utilização de anticorpos como SMA, CK, S-100, vimentina e *c-KIT* além da coloração especial TG se mostraram extremamente úteis na diferenciação entre as neoplasias mesenquimais ocorrentes no TGI.

NOTA INFORMATIVA

¹Dako North America, Inc. 6392 Via Real. Carpinteria, California 93013 USA.

Declaration of interest. Os autores declaram não haver conflito de interesses relacionados a este manuscrito.

REFERÊNCIAS

- 1 Abraham S.C. 2007. Distinguishing Gastrointestinal Stromal Tumors From Their Mimics: An Update. *Advances in Anatomic Pathologic*. 14(3): 178-188.
- 2 Bettini G., Morini M. & Marcato P.S. 2003. Gastrointestinal spindle cell tumours of the dog: histological and immunohistochemical study. *Journal of Comparative Pathology*. 129(4): 283-293.
- 3 De Silva C. M. & Reid R. 2003. Gastrointestinal stromal tumors (GIST): C-kit mutations, CD117 expression, differential diagnosis and targeted cancer therapy with Imatinib. *Pathology and Oncology Research*. 9(1):13-19.
- 4 Dutra A.P., Azevedo Júnior G.M., Schmitt F.C. & Cassali G.D. 2008. Assessment of cell proliferation and prognostic factors in canine mammary gland tumors. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 60(6): 1403-1412.
- 5 Frost D.J., Lasota J. & Miettinen M. 2003. Gastrointestinal Stromal Tumor and Leiomyomas in the Dog: A Histopathologic, Immunohistochemical and Molecular Genetic Study of 50 Cases. *Veterinary Pathology*. 40:42-54.
- 6 Guimarães J.L.M., Oppermann C.P., Marques D.S., Mattei J. & Massing D.K. 2008. Tumores Estromais Gastrointestinais (GIST). *Prática Hospitalar*. X(60): 122-129.
- 7 Hafner S., Harmon B.G. & King T. 2008. Gastrointestinal Stromal Tumors of the Equine Cecum. *Veterinary Pathology*. 38(3): 242-246.
- 8 Mazzola P., Spinale A., Banfi S., Mazzucchelli L., Frattini M. & Bordoni A. 2008. Epidemiology and molecular biology of gastrointestinal stromal tumors (GISTs): a population-based study in the South of Switzerland, 1999-2005. *Histology and Histopathology*. 23(11): 1379-1386.
- 9 Miettinen M., Kopczynski J., Makhlof H.R., Sarlomo-Rikala M., Gyorffy H., Burke A., Sobin L.H. & Lasota J. 2003. Gastrointestinal Stromal Tumors, Intramural Leiomyomas, and Leiomyosarcomas in the Duodenum: A Clinicopathologic, Immunohistochemical, and Molecular Genetic Study of 167 Cases. *American Journal of Surgical Pathology*. 27(5): 625-641.
- 10 Morini M., Gentilini F., Pietra M., Spadari A., Turba M.E., Mandrioli L. & Bettini G. 2011. Cytological, Immuno-

histochemical and Mutational Analysis of a Gastric Gastrointestinal Stromal Tumor in a Cat. *Journal of Comparative Pathology*. 145(2-3): 152-157.

11 Velarde R., Mentaberre G., Sanchez J., Marco I. & Lavin S. 2007. KIT-positive Gastrointestinal Stromal Tumor in Two Spanish Ibex (*Capra pyrenaica hispanica*). *The Veterinary Journal*. 177: 445-447.

12 Yamaguchi U., Hasegawa T., Masuda T., Sekine S., Kawai A., Chuman H. & Shimoda T. 2004. Differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumor and other spindle cell tumors in the gastrointestinal tract based on immunohistochemical analysis. *Virchows Archive*. 445(2): 142-150.