

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA**

FELIPE GUILHERME HAMOY KATAOKA

**INVESTIGAÇÃO DA AMPLIFICAÇÃO DO GENE C-MYC NO GIST DE
PACIENTES ATENDIDOS NO HUIBB, NO PERÍODO DE 1999 A 2009, EM
BELÉM-PA**

Belém

2011

FELIPE GUILHERME HAMOY KATAOKA

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
para obtenção do grau em Medicina pela
Universidade Federal do Pará.**

Orientador: Paulo Pimentel de Assumpção

**Co-Orientador: Ney Pereira Carneiro dos
Santos**

Belém

2011

FELIPE GUILHERME HAMOY KATAOKA

**INVESTIGAÇÃO DA AMPLIFICAÇÃO DO GENE C-MYC NO GIST DE
PACIENTES ATENDIDOS NO HUIBB, NO PERÍODO DE 1999 A 2009, EM
BELÉM-PA**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do grau em Medicina
pela Universidade Federal do Pará.**

Banca examinadora:

Paulo Pimentel de Assumpção

Aprovado em: ____/____/____

Conceito: _____

Belém

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Kataoka, Felipe Guilherme Hamoy.

Investigação da Amplificação do gene C – MYC no GIST de pacientes atendidos no HUIBB, no período de 1999 a 2009, em Belém, PA. Felipe Guilherme Hamoy Kataoka: Orientador: Paulo Pimentel de Assumpção — 2011.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Belém, 2011.

1. GIST, 2. Amplificação gênica, 3. FISH, 4. C - MYC.

CDD:

Aos meus pais, Milton e Mary, por todo amor, carinho, suporte e compreensão.
“Como é que está o teu TCC?”

A D. Maroca, pelo amor maternal e os anos de cuidados dedicados a mim e minha família.

A minha namorada Thaís Rocha pelo amor e compreensão; e suporte nos momentos de angústia e aflição.

Ao meu irmão Diego e a minha irmã Simony, pelos inúmeros pedidos de artigos científicos e orientações.

Aos amigos “chicaneiros” Marcelo Santos, Matheus Creão e Rodrigo Amorim que, cada um a sua maneira, sempre estiveram ao meu lado, apoiando e torcendo por meu sucesso.

As amigas, Hellen Fuzii e Liv Sarmento por partilharem seus conhecimentos e pelas palavras de incentivo.

Aos pacientes que, tacitamente, colaboraram e incentivaram essa pesquisa.

A todos que doravante possam se beneficiar de pesquisas como esta.

Felipe Guilherme Hamoy Kataoka.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me acompanhar e proporcionar as ferramentas para a busca do conhecimento.

A todos os familiares, que torcem por mim e acreditam em meu potencial.

Ao Dr. Paulo Assumpção, pela orientação e incentivo não somente no TCC, mas também pelo exemplo de prática e comportamento Médico.

Ao meu co-orientador Dr. Ney Santos pelo apoio e incentivo, auxiliando-me em quaisquer ocasiões que demandassem sua atenção.

Ao Dr. Rommel Burbano e a Dra. Sâmia Demacki pela colaboração e presteza, sem as quais esse trabalho, decerto, não seria possível.

Aos amigos da Faculdade, agora Médicos, que colaboraram decisivamente para a materialização desse projeto: Adriano Luz, Daniel Costa, Felipe Ribeiro, Leandro Bahia, Michel Calábria e Murilo Menezes.

A todos os Médicos que serviram de exemplo e me estenderam a mão no processo de formação Médica, em especial, os seguintes: Dr. Geraldo Ishak, Dr. Marcelo Dias, Dr. Alexandre Nogueira, Dr. Alexandre Lobato, Dr. Marcos Freire, Dra. Patrícia Freire e Dr. Fernando Fonseca.

A técnica de laboratório de Imuno-histoquímica Irenilce, pelos esforços direcionados à conclusão desta meta.

A funcionária do DAME/HUJBB D. Maria de Fátima do Nascimento Mota por sua gentileza e presteza em disponibilizar-me os prontuários necessários a pesquisa.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram, não somente para este trabalho, mas para minha formação médica como um todo.

“If I have seen further than others, it is by standing upon the shoulders of giants.”

Sir Isaac Newton (1642 – 1727)

...

“A esperança é o sol que brilha sobre a vida Humana”

RESUMO

Tumores Estromais Gastrointestinais (GIST) são os tumores estromais mais comuns do trato gastrointestinal. Ao contrário de outras neoplasias malignas não existem associações confirmadas que favoreçam o aparecimento da doença, mesmo para comportamentos sabidamente carcinogênicos, tais como fumo e álcool. O diagnóstico é determinado por estudo histológico e imuno-histoquímico e a terapia depende da possibilidade ou não de ressecção tumoral. Existindo essa possibilidade, a cirurgia permanece como tratamento padrão. Para o tratamento de doença avançada, terapia neoadjuvante, ou terapia adjuvante utiliza-se o mesilato de imatinib, uma pequena molécula inibidora de tirosino quinase com potente atividade contra o receptor transmembrana Kit. Atualmente, além dos inibidores de tirosino quinase, investigam-se estratégias terapêuticas anti-angiogênicas, estando esses agentes, contudo, ainda no plano das investigações clínicas. Posterior a cirurgia, o paciente deve ser controlado clínica e laboratorialmente e, também, por meio de exames de imagem visando avaliar se houve recorrência local ou metástases. O oncogene MYC (C - MYC) tem sido descrito como elemento chave em diversos processos carcinogênicos humanos e sua amplificação pode ser um preditor de agressividade e desfecho desfavorável. **Objetivo:** o presente trabalho investigou a amplificação de C – MYC em lâminas histológicas de pacientes com diagnóstico imunofenotípico de GIST, atendidos no Hospital Universitário João de Barros Barreto entre janeiro de 1999 e outubro de 2009. **Método:** estudo epidemiológico, descritivo-analítico, retrospectivo, de fonte secundária, realizado através da coleta de informações em prontuários médicos disponibilizados pelo DAME/HUJBB. Foram confeccionadas sete lâminas de pacientes com GIST e submetidas a hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), conforme o método descrito por Pinkel et al. (1986) com modificações introduzidas por Calcagno et al. (2005). **Resultados:** não foram encontradas aberrações numéricas, deleções e amplificações gênicas. **Conclusão:** os resultados negativos para amplificação de C – MYC sugerem que, talvez, esse não seja o mecanismo principal envolvendo sua participação na patogênese de GIST, demandando, contudo, novas investigações com casuísticas maiores para confirmar esse achado, ainda com poucos resultados positivos descritos na literatura.

Palavras-chave: GIST; amplificação gênica; FISH; C - MYC.

ABSTRACT

Gastrointestinal Stromal Tumors (GIST) is the most common stromal tumor of the gastrointestinal tract. Unlike other malignancies no associations that favor the onset of the disease are confirmed, even for know carcinogenic behaviors, such as tobacco smoke and alcohol. Diagnosis is determined by histological and immunohistochemical analysis and therapy depends on tumor resection's possibility. For treatment of advanced disease, neo-adjuvant care, or adjuvant care imatinib mesylate is used. It's a small molecule that inhibits tyrosine kinase with potent activity against transmembrane Kit receptors. Currently, in addition to tyrosine kinase inhibitors, anti-angiogenesis therapeutics are researched, however, those agents are still under clinical investigations. After surgery, the patient must be monitored by clinical, laboratorial and image exams in order to assess whether there was local recurrence or metastasis. The oncogene MYC (C - MYC) has been described as key element in several human carcinogenic processes and its amplification might be a predictor of aggressive and unfavorable outcome.

Aims: to investigate the C – MYC amplification in histological slides of immunophenotypic diagnosed GIST patients of Hospital Universitário João de Barros Barreto, between January 1999 and October 2009. **Methods:** Epidemiological, analytical, descriptive and retrospective study, of secondary sources, done by data acquirement from patient files available at the DAME/HUJBB. Seven histological slides of GIST patients were made and subjected to Fluorescence In Situ Hybridization (FISH), according to the method described by Pinkel et al (2005) and modified by Calgano et al (2005). **Results:** there were no numerical aberrations, deletions and amplifications. **Conclusions:** the negative results for C – MYC amplification suggests that, perhaps, this is not the main mechanism involving C - MYC in GIST pathogenesis demanding, however, further researches with bigger samples to confirm this find, still with few positive results described in literature.

Keywords: GIST; genomic amplification; FISH; C - MYC.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fig. 2.1** - Incidência e mortalidade por câncer para o ano de 2008 nas diferentes regiões do globo entre homens e mulheres.....Página 19
- Fig. 2.2** - Incidência estimada para a população brasileira para o ano de 2010 de acordo com o tipo de câncer, exceto pele não melanoma.....Página 21
- Fig. 2.3** - Ativação do receptor por mutações de ganho funcional (pontos azul, amarelo e vermelho) independente do ancoramento do ligante (L) induzir dimerização do receptor, autofosforilação de tirosinas e causar ativação das vias de sinalização a jusante. Localização de mutações primária (esporádico e hereditário) e secundária (detectado durante tratamento) de receptor alpha de KIT e PDGFR α esta indicada pelos pontos azul, amarelo e vermelho, respectivamente.....Página 28
- Fig. 2.4** - Ativação da proteína tirosino quinase. PI3K é recrutado a membrana por ancoramento direto, acarretando em ativação alostérica da subunidade catalítica. A ativação resulta na produção do segundo mensageiro PIP3, cujos produtos lipídicos recrutam uma série de proteínas sinalizadoras, incluindo Akt, a qual media a ativação e inibição de diversos alvos, resultando em sobrevivência celular, crescimento e proliferação, através de diversos mecanismos.....Página 30
- Fig. 2.5** - Ativação dos genes alvo de MYC pela interação entre MYC/MAX ou repressão por MAD/MAX.....Página 35
- Fig. 2.6** – Tipos histológicos: fusiforme, epitelióide e misto, respectivamente..Página 39
- Fig. 5.1** - Ensaio de FISH para GIST e controles: negativo e positivo.....Página 48
- Fig. 5.2** - Ensaio de FISH para adenocarcinoma gástrico precoce e células controle normais.....Página 49

LISTA DE TABELAS

Tab. 2.1 - Taxas brutas de incidência por 100 mil e números de casos por câncer, em homens, segundo localização primária* em Belém e no Estado do Pará.Página 21

Tab. 2.2 - Taxas brutas de incidência por 100 mil e números de casos por câncer, em mulheres, segundo localização primária* em Belém e no Estado do Pará.....Página 22

Tab. 2.3 - Esquema imuno-histoquímico para diagnóstico diferencial de células tumorais fusiformes do trato gastrointestinal.....Página 40

Tab. 2.4 - Risco de progressão da doença em GIST de acordo com o índice mitótico, tamanho e localização da neoplasia.....Página 40

Tab. 5.1 - Percentual de amplificações de C - MYC observadas para cada caso estudado em relação a diferentes números de alelos, bem como a validação do método mediante a apresentação dos resultados obtidos para controle negativo e para controle positivo.....Página 47

LISTA DE QUADROS

Quadro. 5.1 - Perfil dos casos analisados em relação a gênero, idade, sítio tumoral e padrão histopatológico.....Página 49

LISTA DE ABREVIATURAS

GIST – Tumor Estromal Gastrointestinal.

HUJBB – Hospital Universitário João de Barros Barreto.

OMS – Organização Mundial da Saúde

INCA – Instituto Nacional do Câncer.

EORTC – European Organisation for Research and Treatment of Câncer.

FISH – Fluorescence *In Situ* Hybridization.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1. PROBLEMA	16
1.2. OBJETIVOS	16
1.2.1. OBJETIVO GERAL	16
1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
1.3. JUSTIFICATIVA	17
2. REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER	18
2.2 EPIDEMIOLOGIA DO GIST	22
2.3 GIST	24
2.3.1. C-KIT E PDGFR α	27
2.3.2. C-MYC.....	34
2.3.3. MARCADORES MOLECULARES	38
2.3.4. DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO	38
2.3.5. TERAPIA GÊNICA.....	42
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	43
3.1 OBTENÇÃO DA AMOSTRA	45
3.2 HIBRIDIZAÇÃO POR FLUORESCÊNCIA IN SITU (FISH).....	45
3.3 ANÁLISE CITOGENÉTICA E MOLECULAR	45
3.4 CAPTURA E ANÁLISE DE IMAGENS.....	45
3.5 CONTROLES POSITIVOS E NEGATIVOS	46
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	46
4. ASPECTOS ÉTICOS	46
5. RESULTADOS	46
6. DISCUSSÃO	50
7. CONCLUSÕES	54
8.REFERÊNCIAS	55
APÊNDICES	68
APÊNDICE A.....	69
APÊNDICE B.....	70
ANEXOS	73
ANEXO A	74
ANEXO B.....	75

1. INTRODUÇÃO

Tumores Estromais Gastrointestinais (GIST) são os tumores mesenquimais mais comuns do trato gastrointestinal (REDDY; BOCI; CHARBONNEAU, 2007).

Contudo, são consideradas neoplasias raras e representam cerca de 1 a 3% de todos os tumores malignos do trato gastrointestinal, com incidência estimada em 10 – 20 casos para cada 1.000.000 de pessoas. Corresponde a 5% de todos os tipos de sarcoma e a 80% das neoplasias mesenquimais do trato gastrointestinal (MONTAGNINI et al, 2006; DEMATTEO et al, 2000; JOENSUU et al, 2002).

Tryggvason et al (2005), em estudo realizado na Islândia abrangendo um período de 14 anos, estimaram que a incidência anual de GIST é de 1,1 casos por 100.000. Para Nilsson et al (2005), em estudo de base populacional realizado na Suécia ocidental, a incidência anual é de 14,5 por milhão e a prevalência é de aproximadamente 129 casos por milhão. Ainda segundo essa pesquisa, para os vários grupos de risco, a prevalência foi estimada da seguinte maneira: muito baixo risco (22,2 por milhão), baixo risco (51,9 por milhão), risco intermediário (24,2 por milhão), alto risco (22,2 por milhão) e abertamente maligno (8,7 por milhão).

A maioria dos pacientes acometidos pela doença possui mais de 50 anos, mais precisamente entre 60 e 70 anos, sendo incomum a instalação da doença nos extremos de idade, especialmente durante os 20 primeiros anos. O diagnóstico é feito em média entre 55 e 63 anos e a frequência por gênero é relativamente equilibrada, sendo de 52% em homens e 48% em mulheres, variando de acordo com raça, etnia, local geográfico e ocupação. Todavia, dentre os pacientes com doença metastática, o número de homens ultrapassa consideravelmente o de mulheres e é mais comum entre jovens (MONTAGNINI et al, 2006; STEIGEN; EIDE, 2008; CICHOŹ-LACH; KASZTELAN-SZCZERBIŃSKA; SŁOMKA, 2008).

O sítio primário de acometimento da lesão obedece a seguinte ordem de frequência, respectivamente: estômago, intestino delgado, intestino grosso, reto e ânus e esôfago. Mesentério, omento, retroperitônio e outras porções do trato digestivo raramente são sítios para GIST. Fígado e mesentério são os locais mais comuns de

metástases, sendo as linfonodais bastante raras, podendo, também, albergar sítios primários de lesão. A recente identificação de positividade para Kit em células semelhantes às células intersticiais de Cajal sugere que tais unidades estão mais difundidas no organismo do que comumente apreciamos, podendo contribuir para a difusão de GIST por fora das paredes gastrointestinais (MONTAGNINI et al, 2006; DIRNHOFER; LEYVRAZ, 2009; BRACONI; BRACCI; CELLERINO, 2008; QUEK; GEORGE, 2009; CORLESS; FLETCHER; HEINRICH, 2004).

Os sinais e sintomas de GIST dependem do sítio primário da lesão, mas, invariavelmente, estão relacionados ao trato gastrintestinal e ao efeito de massa dentro da cavidade abdominal, que pode causar: desconforto, saciedade precoce, massa palpável, sintomas secundários oriundos de sangramento tumoral e anemia associada, ulcerações de mucosa, obstrução intestinal, perfuração, disfagia, náusea, vômitos, perda de peso e distensão abdominal (MONTAGNINI et al, 2006; QUEK; GEORGE, 2009).

Cerca de metade dos casos de GIST são diagnosticados em pacientes clinicamente sintomáticos, sendo que 2/3 queixam-se de sintomas inespecíficos devido à massa abdominal ou ruptura de tumor. Cerca de 1/5 dos tumores é descoberto incidentalmente por endoscopia, métodos de imagem ou cirurgias por outras razões e, em torno de 1/10, por autópsia (DIRNHOFER; LEYVRAZ, 2009; DEMETRI et al, 2007).

Atualmente, ao invés de segregar GIST em categorias distintas de benignidade e malignidade, considera-se que todos tenham potencial de malignidade. Os índices mais aceitos para predizer o desfecho, dentre os diversos fatores analisados, são: tamanho do tumor e taxa de mitoses. Além desses parâmetros histológicos, fatores clínicos e patológicos adicionais têm sido descritos como influenciadores da sobrevida global e/ou da progressão livre de doença: localização tumoral, sexo masculino, ressecções R1 ou ruptura de tumor e, em menor grau, o subtipo da célula patológica (QUEK; GEORGE, 2009; DIRNHOFER; LEYVRAZ, 2009).

A determinação genética de uma patologia se dá através de mutações com herança mendeliana simples. Todavia, permanecem relativamente obscuras as razões pelas quais uma doença pode variar seu espectro clínico nos indivíduos com a mesma mutação. As explicações plausíveis baseiam-se em fatores ambientais, de risco ou proteção, ou na

existência de uma segunda mutação, ou polimorfismo, o qual estaria interferindo na evolução da doença (ROCHA et al, 2007).

1.1. PROBLEMA

É mister desenvolver estudos a nível local que permitam, por meio da identificação de características genéticas peculiares aos tumores estromais gastrointestinais, ampliar o conhecimento sobre o comportamento dessa neoplasia e, dessa forma, garantir o estabelecimento de condutas mais precisas e afinadas a realidade local.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GERAL

Analisar a ocorrência de alterações numéricas no gene C - MYC em uma amostra de pacientes com diagnóstico de GIST do Hospital Universitário João de Barros Barreto.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever dados de gênero, idade, localização tumoral e padrão histopatológico relacionadas ao tumor de pacientes com GIST atendidos no HUIBB;
- Avaliar a existência de ampliações gênicas de C - MYC por FISH em pacientes com GIST atendidos no HUIBB;
- Avaliar a existência de perdas ou deleções gênicas por FISH em pacientes com GIST atendidos no HUIBB.

1.3. JUSTIFICATIVA

As novas drogas terapêuticas, utilizadas de forma adjuvante ou neo-adjuvante, permanecem com impacto reduzido quando utilizadas de maneira exclusiva. Sendo assim, a cirurgia continua sendo a principal arma terapêutica para GIST (MONTAGNINI et al, 2006).

A despeito do avanço terapêutico ocorrido na última década, o manejo dos pacientes permanece desafiador, uma vez que a carcinogênese é um processo complexo que envolve múltiplas etapas e ocorre, em parte, de maneira subclínica. Nesses termos, a medicina molecular ganha força, uma vez que, ao modificar o paradigma “celular” para o “molecular”, permite superar as limitações do exame morfológico que não refletem suficientemente toda a heterogeneidade de eventos moleculares subjacentes aos processos neoplásicos e que são responsáveis por comportamentos biológicos significativamente diversos entre tumores com aspecto histológico semelhante (MONTAGNINI et al, 2006; KOWALSKI, 2006; STIEPCICH, 2008).

No que tange GIST, para a patologia molecular, o desafio atual é compreender a progressão da doença apesar do uso de inibidores de tirosino quinase, os quais, para alguns pacientes, demonstram-se bastante eficazes com benefícios clínicos duráveis. Sabe-se que os mecanismos de resistência estão relacionados ao surgimento de mutações secundárias nos receptores de tirosino quinase (ITALIANO; BUI, 2008).

Nesse contexto, a utilização de técnicas vanguardistas que permitam identificar diferentes tipos de mutações genéticas e determinar o real papel da adjuvância e neo-adjuvância nos grupos de pacientes para atribuir terapêutica adequada individualmente, poderão prever a resposta e a evolução do paciente antes mesmo da execução do tratamento (MONTAGNINI et al, 2006).

Tais considerações subsidiam a relevância do estudo proposto, sobretudo pelo seu ineditismo no contexto regional, bem como pela possibilidade de seus resultados servirem, futuramente, para a definição de condutas e protocolos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

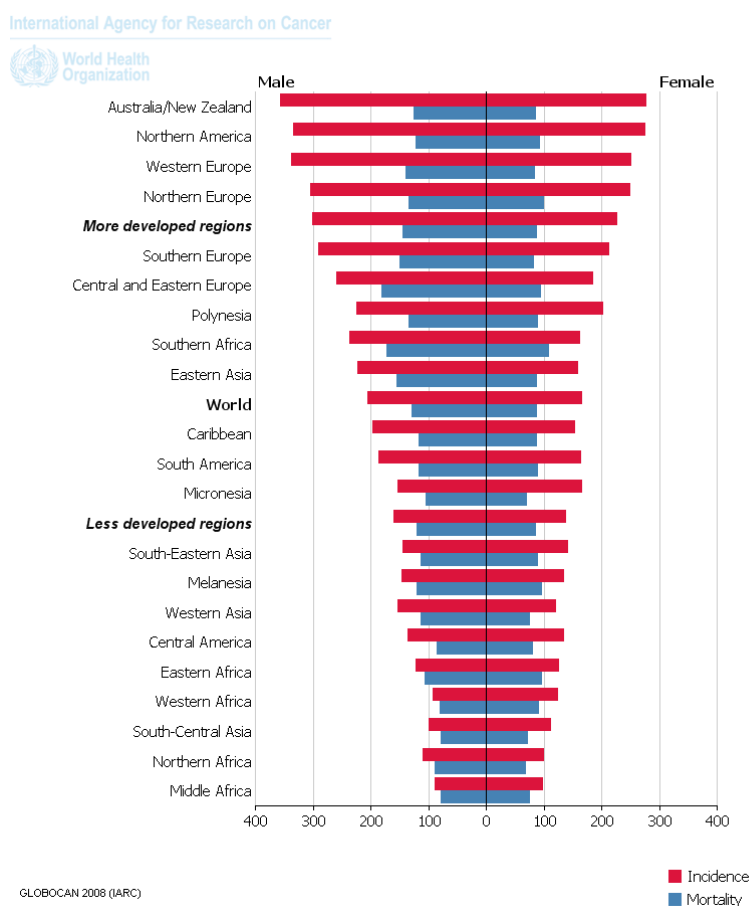
2.1. EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER

O câncer possui etiologia multifatorial e é conseqüente de alterações moleculares que garantem as células modificações em seu comportamento, resultando em alterações na fisiologia celular, cujos desdobramentos culminam na gênese de células imortalizadas, transformadas e capazes de gerar metástases. O processo de desenvolvimento neoplásico pode ser dividido em três etapas: iniciação, promoção e progressão. A primeira corresponde às modificações no genótipo da célula que levam a imortalização e a segunda a geração de clones com vantagens proliferativas que promoverão a progressão tumoral (FERREIRA; CASTRO, 2008).

A tumorigênese reflete uma progressiva transformação da célula normal para célula maligna em que, a despeito dos mecanismos de reparo do DNA, a transformação genômica ocorrida permite que a alteração se perpetue para células filhas de maneira que os mecanismos de controle da divisão e proliferação celular tornam-se descontrolados, gerando células capazes de se dividir e proliferar de maneira irrestrita. Tal capacidade é obtida mediante a subversão de sinais antiproliferativos, evasão de apoptose, escape da imunidade inata do organismo e indução de angiogênese intratumoral. Além disso, no câncer, ocorrem mutações graduais e progressivas que favorecem a instabilidade genômica contribuindo para a aquisição de novas capacidades a célula cancerígena (ibid).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica o câncer dentro do grupo das doenças não comunicantes, sendo o responsável por 21% (7.6 milhões) das mortes desse grupo e estima que mais de dois terços dessas mortes ocorram em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, explicado, parcialmente, pelo aumento da expectativa de vida e diminuição das mortes por doenças cardiovasculares e infectocontagiosas. (Figura 2.1). Nos países subdesenvolvidos os cânceres de pulmão e mama figuram como causas de desfecho trágico, no entanto os cânceres de etiologia relacionada a infecções (e.g: cervix, estômago e fígado) predominam no que concerne às taxas de incidência. Nos países em desenvolvimento observam-se padrões intermediários, com destaque aos cânceres de fígado, esôfago e colo-retal. Nos países desenvolvidos, os cânceres de próstata e mama são os mais diagnosticados em homens e

mulheres, respectivamente, tendo em seguida os cânceres de pulmão e colo-retal como os tipos mais comuns em ambos os sexos. Tais estatísticas evidenciam que os tipos predominantes em países desenvolvidos guardam melhor prognóstico do que os mais prevalentes em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento (WHO, 2011; FERLAY et al, 2010).



Fonte: FERLAY et al, 2010.

Figura 2.1 - Incidência e mortalidade por câncer para o ano de 2008 nas diferentes regiões do globo entre homens e mulheres.

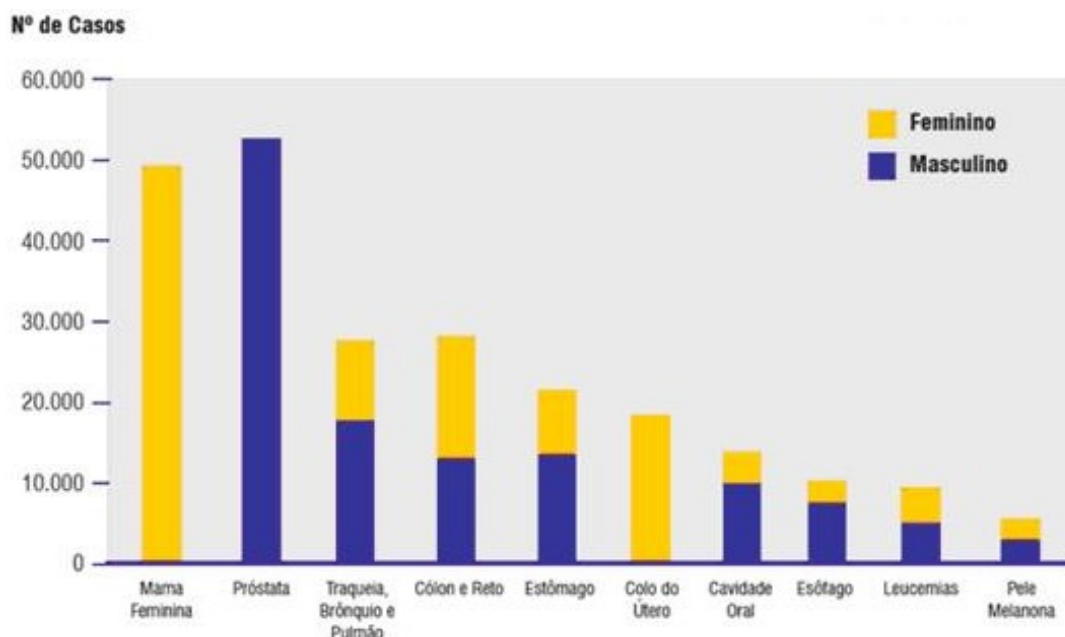
No ano de 2008 ocorreram aproximadamente 12.7 milhões de novos casos em todo o mundo e as estimativas para 2030, baseado os padrões atuais, apontam aumento na incidência da doença, chegando à cifra de 21,4 milhões de casos. Tais dados sugerem fortemente que o câncer permanecerá como uma importante causa de morbidade e mortalidade pelas próximas décadas em todo o globo e, combinado ao envelhecimento

populacional, o aumento das taxas de prevalência é inevitável, a despeito de ações atuais e futuras ou níveis de investimento (WHO, 2011).

O Brasil encontra-se no padrão intermediário, típico dos países em desenvolvimento, no que concerne a distribuição epidemiológica do câncer. Tal fato sugere um período de transição entre os cânceres associados a baixos níveis sócio-econômicos e os relacionados a níveis mais elevados de educação e renda. Sendo o câncer uma doença multifatorial, essa distribuição, decerto, decorre da exposição a diferentes estímulos ambientais relacionados aos processos de urbanização e desigualdades sociais característicos de nações nesse estágio de desenvolvimento (KOIFMAN; KOIFMAN, 2003).

De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), no Brasil, as estimativas para o ano de 2010 serão também válidas para 2011 e aponta para a ocorrência de 489.270 casos novos de câncer, sendo o câncer de próstata e de pulmão os mais incidentes no sexo masculino e o de mama e colo do útero os mais incidentes no sexo feminino, excetuando-se o câncer de pele do tipo não melanoma. Tal perfil é semelhante ao observado no restante da América Latina. Desse total, 236.240 casos novos são do sexo masculino e 253.030 do sexo feminino (INCA, 2009).

A ordem decrescente de incidência do câncer na população brasileira segue o seguinte ordenamento: câncer de pele do tipo não melanoma (114 mil casos novos), próstata (52 mil), mama feminina (49 mil), cólon e reto (28 mil), pulmão (28 mil), estômago (21 mil) e colo do útero (18 mil). (Figura 2.2) (ibid).



Fonte: INCA, 2009.

Figura 2.2 - Incidência estimada para a população brasileira para o ano de 2010 de acordo com o tipo de câncer, exceto pele não melanoma.

As **tabelas 2.1 e 2.2** demonstram, respectivamente, as estimativas para o ano 2010 das taxas brutas de incidência por 100 mil e de número de casos, em homens e mulheres no Estado do Pará e na cidade de Belém (ibid).

TABELA 2.1 - Taxas brutas de incidência por 100 mil e números de casos por câncer, em homens, segundo localização primária* em Belém e no Estado do Pará.

Localização Primária Neoplasia Maligna	Estimativa dos Casos Novos			
	Estado		Capital	
	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta
Próstata	700	17,91	330	43,49
Traqueia, Brônquio e Pulmão	250	6,65	130	16,67
Estômago	420	10,82	190	25,15
Colón e Reto	130	3,36	70	9,25
Cavidade Oral	120	3,17	60	8,39
Esôfago	60	1,53	30	3,64
Leucemias	140	3,70	50	6,51
Pele Melanoma	30	0,79	**	1,27
Outras Localizações	720	18,53	210	27,84
Subtotal	2.570	66,15	1.080	143,18
Pele não Melanoma	870	22,41	510	67,98
Todas as Neoplasias	3.440	88,68	1.590	210,44

*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10

**Menor que 15 casos.

Fonte: INCA, 2009.

TABELA 2.2 - Taxas brutas de incidência por 100 mil e números de casos por câncer, em mulheres, segundo localização primária* em Belém e no Estado do Pará.

Localização Primária Neoplasia Maligna	Estimativa dos Casos Novos			
	Estado		Capital	
	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta
Mama Feminina	640	16,77	400	47,90
Colo do Útero	790	20,82	330	39,36
Cólon e Reto	160	4,14	90	11,19
Traqueia, Brônquio e Pulmão	140	3,83	70	8,88
Estômago	230	6,15	120	14,94
Leucemias	120	3,08	50	5,50
Cavidade Oral	70	1,73	40	4,68
Pele Melanoma	20	0,41	**	1,03
Esôfago	20	0,47	**	1,08
Outras Localizações	950	25,04	620	74,36
Subtotal	3.140	82,76	1.740	208,69
Pele não Melanoma	1.140	29,99	380	45,17
Todas as Neoplasias	4.280	112,78	2.120	253,86

*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10

**Menor que 15 casos

Fonte: INCA, 2009.

2.2. EPIDEMIOLOGIA DO GIST

GIST são neoplasias raras e representam cerca de 1 a 3% de todos os tumores malignos do trato gastrointestinal, com incidência estimada em 10 – 20 casos para cada 1.000.000 de pessoas. Corresponde a 5% de todos os tipos de sarcoma e a 80% das neoplasias mesenquimais do trato gastrintestinal (MONTAGNINI et al, 2006; DEMATTEO et al, 2000; JOENSUU et al, 2002).

Tryggvason et al (2005), em estudo realizado na Islândia abrangendo um período de 14 anos, estimaram que a incidência anual de GIST é de 1,1 casos por 100.000. Para Nilsson et al (2005), em estudo de base populacional realizado na Suécia ocidental, a incidência anual é de 14,5 por milhão e a prevalência é de aproximadamente 129 casos por milhão. Ainda segundo essa pesquisa, para os vários grupos de risco, a prevalência foi estimada da seguinte maneira: muito baixo risco (22,2 por milhão), baixo risco (51,9 por milhão), risco intermediário (24,2 por milhão), alto risco (22,2 por milhão) e abertamente maligno (8,7 por milhão).

Nos Estados Unidos, o rápido acréscimo de pacientes aos ensaios clínicos de fase II e III do STI – 571 (mesilato de Imatinib) levaram a revisão das estimativas informais da incidência anual de novos casos clinicamente detectáveis de, 300 a 500 casos por ano para, talvez, 5000 a 6000 casos por ano (FLETCHER et al, 2002).

O estudo de Rubin et al (2011) revela que nesse país a incidência anual média foi de 0,32 por 100.000; a prevalência anual em 15 anos foi de 1.62 por 100.000; e a sobrevida média em três anos para os casos diagnosticados entre 1993 e 2002 foi de 73%. Ainda segundo esse estudo GIST estão associados a cuidados médicos substanciais, com custos que ultrapassam a cifra de US\$ 100.000. Nesses termos, os tratamentos que reduzem ou atrasam a recorrência podem reduzir, sobremaneira, o fardo da doença.

O estudo European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) analisou dados de 14 diferentes países e calculou a taxa de incidência em aproximadamente 4-5 casos por milhão por ano. A prevalência de GIST clinicamente significativo – inoperável, metastático, ou de alto risco – chega a 20-30%, equivalente a aproximadamente 3-4 casos por milhão (LACH, SZCZERBIŃSKA, SŁOMKA, 2008). No Brasil, até o momento, inexistem dados epidemiológicos específicos acerca de GIST (CERSKI, 2010).

A maioria dos pacientes acometidos pela doença possui mais de 50 anos, mais precisamente entre 60 e 70 anos, sendo incomum a instalação da doença nos extremos de idade, especialmente durante os 20 primeiros anos. O diagnóstico é feito em média entre 55 e 63 anos e a frequência por gênero é relativamente equilibrada, sendo de 52% em homens e 48% em mulheres, variando de acordo com raça, etnia, local geográfico e ocupação. Todavia, dentre os pacientes com doença metastática, o número de homens ultrapassa consideravelmente o de mulheres e é mais comum entre jovens (MONTAGNINI et al, 2006; STEIGEN; EIDE, 2008; CICHÓŻ-LACH; KASZTELAN-SZCZERBIŃSKA; SŁOMKA, 2008).

2.3. GIST

De acordo com Stout (1962) tumores estromais do trato gastrointestinal foram classificados, a partir da década de 1940, como neoplasmas de células musculares lisas, sendo referidos por diversas entidades, tais como: leiomiosarcoma, leiomioblastoma e leiomiomas bizarros, até a década de 1960. No fim dessa década, com o advento da microscopia eletrônica, a origem da entidade passou a ser questionada, pois se percebeu, apenas, apresentações ocasionais de músculo liso em células com GIST (QUEK; GEORGE, 2009).

No início da década de 1980, com o advento da imunohistoquímica, observou-se que faltavam a esses tumores apresentações imunofenotípicas características de músculo liso e, inversamente, uma proporção razoável era positiva para a proteína S-100, um marcador de diferenciação neuroectodérmica. Nesses termos, Mazur e Clark (1983 apud MONTAGNINI et al, 2006) sugeriram que o sistema nervoso mientérico seria uma possível fonte e introduziram o termo genérico “tumor estromal” (QUEK; GEORGE, 2009).

Em 1989 uma apresentação de GIST exibindo características neurais autonômicas foi descrita e designada “plexosarcoma” e, posteriormente, tumor gastrintestinal de nervo autonômico (GANT). Sendo assim, no início da década de 1990 inexistia compreensão nas linhas de diferenciação desses tumores, posto que alguns eram claramente neurogênicos, outros miogênicos, outros com diferenciação bidirecional e outros de fenótipo nulo (LINHARES; VALADÃO, 2006; QUEK; GEORGE, 2009).

Em 1994 uma proporção considerável de GANT foi descrita como imunopositiva para o antígeno CD34, uma glicofosfoproteína expressa em células tronco linfohematopoiéticas e células progenitoras em desenvolvimento primário, que logo foi alçado à condição de marcador de GIST. Nos anos seguintes, todavia, percebeu-se que não mais que 70% dos casos eram realmente positivos para CD34. Porém, tal achado elevou a possibilidade de que esses tumores estivessem relacionados às células intersticiais de Cajal, também conhecidas como células precursoras do trato gastrointestinal. Tais células possuem características imunofenotípicas e ultra-estruturais tanto de células musculares lisas, como de células do sistema nervoso

autônomo e são responsáveis pela motilidade intestinal. Funcionam como interface entre o sistema nervoso autônomo e a musculatura lisa (QUEK; GEORGE, 2009; KRAUSE et al, 1996; CICHÓŻ-LACH; KASZTELAN-SZCZERBIŃSKA; SŁOMKA, 2008; LINHARES; VALADÃO, 2006).

A publicação de Hirota et al (1998) estabeleceu duas descobertas chave para a compreensão de GIST: a expressão quase que universal de receptores de tirosino quinase, KIT, e a presença de mutações ativadoras no proto-oncogene C - KIT, localizado no cromossomo 4q11-21. A pesquisa revelou mutações na região entre os domínios transmembrana e de tirosino quinase em que, todas as proteínas mutantes Kit, eram constitutivamente ativadas sem o ligante Kit, o fator de células tronco (SCF). Além disso, o papel oncogênico de Kit foi confirmado quando se executou a transferência de DNA complementar de mutantes C - KIT, os quais foram capazes de induzir transformações em células linfóides “murine”. O estudo em questão também confirmou a positividade para CD34 e Kit nas células intersticiais de Cajal e GIST, sugerindo proximidade morfológica entre essas entidades.

Na década de 1990 inúmeras descobertas ocorreram no que tange ao entendimento e terapêutica de GIST, culminando, no ano de 2000, com o advento dos inibidores de tirosino quinase, mais precisamente do mesilato de Imatinib, cujos resultados melhoraram, sobremaneira, a qualidade e sobrevida dos pacientes, estabelecendo-o enquanto terapia padrão, juntamente com a cirurgia. Contudo, apesar dos inegáveis benefícios, tal terapêutica é passível de sofrer resistência primária e secundária, sinalizando a necessidade de desenvolver novas investigações, principalmente enquanto terapia adjuvante e neo-adjuvante (DIRNHOFER; LEYVRAZ, 2009).

Embora raros GIST podem ocasionalmente ter apresentação pediátrica e familiar. A apresentação pediátrica ocorre preferencialmente em mulheres e as evidências sugerem que essa configuração seja biologicamente distinta da apresentação adulta, pois, muito embora o tipo Kit selvagem da apresentação pediátrica mantenha níveis de ativação Kit similar ao Kit mutante do adulto, a resposta a terapia padrão com Imatinib é inferior, o que sugere que o mecanismo biológico envolvido, responsável pela oncogênese, quiçá, possa ser alternativo (MONTAGNINI et al, 2006; JANEWAY et al, 2007; QUEK; GEORGE, 2009).

A apresentação familiar tem sido reportada na literatura na condição de mutações herdadas em Kit e PDGFR α , possivelmente, como uma herança autossômica dominante. As famílias afetadas com esse subtipo podem apresentar: doença multifocal e, em certos casos, associadas à hiperpigmentação cutânea e de membrana mucosa; doença dos mastócitos; urticária pigmentosa; e hiperplasia fusiforme difusa no plexo mioentérico do trato gastrointestinal (QUEK; GEORGE, 2009).

Carney (1999 apud QUEK; GEORGE, 2009) reportou uma associação entre GIST gástrico, condromas pulmonares e paraganglioma extra-adrenal, cuja associação compõe a tríade de Carney, que consiste em uma síndrome tumoral familiar rara, típica de mulheres jovens, e de mecanismo genético desconhecido. De acordo com Corless; Fletcher; Heinrich (2004), os estudos preliminares a respeito da tríade de Carney sugerem que o GIST em questão não ancore mutações em Kit ou PDGFR α .

O estudo de Miettinen; Lasota; Sobin (2005) ao analisar 44 pacientes concluiu que GIST em pacientes jovens não está associado à neurofibromatose tipo 1 ou ocorrências familiares e, somente um paciente possuía evidências da tríade de Carney, sugerindo que a síndrome não está associada à maioria dos casos de GIST de início precoce. Todavia, o estudo afirma que existe uma similaridade demográfica próxima nos pacientes portadores de GIST pediátrico gástrico, com ou sem sinais, ou tríade de Carney, o que sugere que esses grupos, talvez, estejam relacionados.

No que concerne a fatores de risco para GIST, até o momento, diferente da maioria das neoplasias malignas, inexistem associações confirmadas que favoreçam o aparecimento da doença, mesmo para comportamentos sabidamente carcinogênicos, tal qual o consumo de fumo e álcool (AGIST, 2011).

A localização primária das lesões, em termos gerais, apresenta a seguinte ordem: estômago (50 - 70%), intestino delgado (20 - 30%), intestino grosso (10%), reto e ânus (7%) e esôfago (5%). Retroperitônio, omento, mesentério e outros segmentos do trato digestivo raramente são sítios para GIST. Fígado e mesentério são locais habituais de metástases, sendo as linfonodais bastante infreqüentes, podendo, todavia, albergar sítios

primários de lesão. O recente reconhecimento de positividade para Kit em células semelhantes às células intersticiais de Cajal sugere que tais unidades estão mais difundidas no organismo do que observamos, podendo contribuir para a difusão de GIST externamente as paredes gastrointestinais (MONTAGNINI et al, 2006; DIRNHOFER; LEYVRAZ, 2009; BRACONI; BRACCI; CELLERINO, 2008; QUEK; GEORGE, 2009; CORLESS; FLETCHER; HEINRICH, 2004).

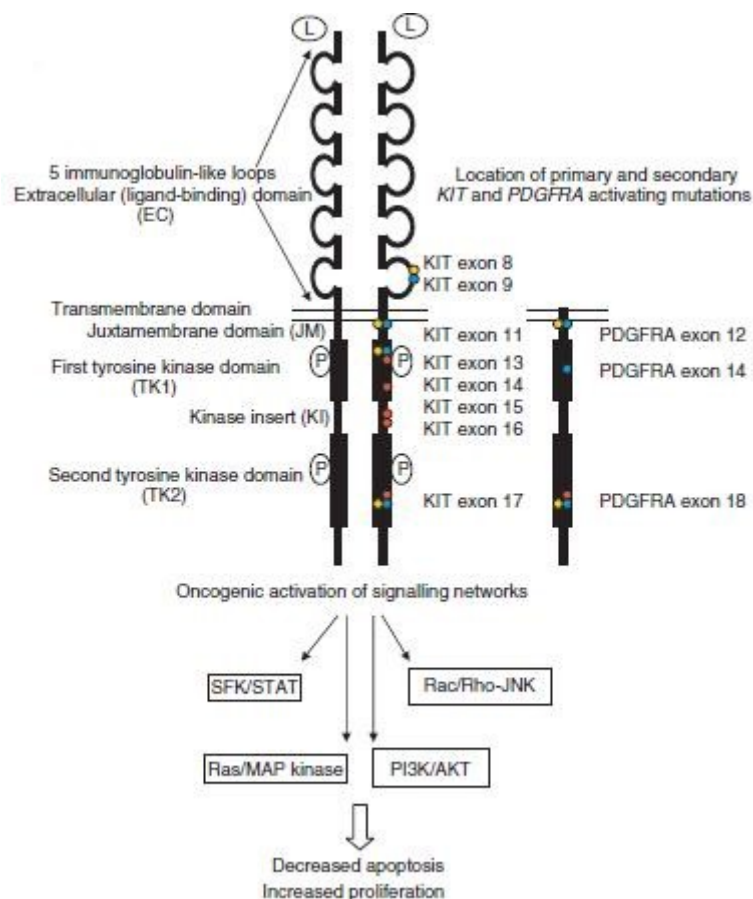
Sinais e sintomas de GIST dependem do sítio primário da lesão, porém, invariavelmente, estão relacionados ao trato gastrointestinal e ao efeito de massa dentro da cavidade abdominal, podendo acarretar: saciedade precoce, desconforto, sintomas secundários oriundos de sangramento tumoral e anemia associada, massa palpável, ulcerações de mucosa, obstrução intestinal, perfuração, disfagia, náusea, vômitos, perda de peso e distensão abdominal (MONTAGNINI et al, 2006; QUEK; GEORGE, 2009).

Hodiernamente, ao invés de segregar GIST em benignos e malignos, considera-se que todos tenham potencial de malignidade. Os índices mais aceitos para prever o desfecho, dentre os diversos elementos analisados, são: tamanho e taxa de mitoses. Além desses parâmetros histológicos, fatores clínicos e patológicos adicionais têm sido descritos como influenciadores da sobrevida global e/ou da progressão livre de doença: localização tumoral, sexo masculino, ressecções R1 ou ruptura de tumor e, em menor grau, o subtipo da célula patológica (QUEK; GEORGE, 2009; DIRNHOFER; LEYVRAZ, 2009).

2.3.1. C-KIT E PDGFR α

O progresso clínico na abordagem da doença, até então refratária a terapias sistêmicas, deu-se a partir da descoberta do papel dos receptores de tirosino quinase, KIT e PDGFR α , no processo de oncogênese. Ambos são glicoproteínas transmembrana homologas e pertencem a subclasse III da família de receptores de tirosino quinase, cujas apresentações características são (Figura 2.3): a presença de cinco domínios semelhantes ao das imunoglobulinas no domínio extracelular, que se conecta ao domínio citoplasmático através de uma região transmembrana; domínio citoplasmático com região justamembrana; e domínio tirosino quinase dividido em região de

ancoramento de adenosina trifosfato (TK1) e região fosfotransferase (TK2). A presença de 70 a 100 resíduos de inserção de domínio quinase, longos e hidrofílicos, na região citoplasmática tem importante papel na geração de sinais (FLETCHER; RUBIN, 2007; CORLESS; FLETCHER; HEINRICH, 2004; SAFDAR; SHER, 2007; LASOTA; MIETTINEN, 2008).



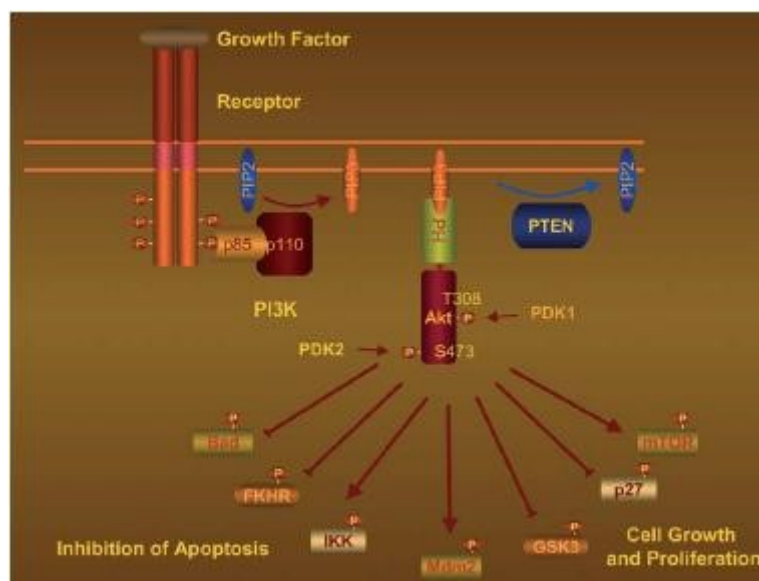
Fonte: LASOTA; MIETTINEN, 2008.

Figura 2.3 – Ativação do receptor por mutações de ganho funcional (pontos azul, amarelo e vermelho) independente do ancoramento do ligante (L) induzir dimerização do receptor, autofosforilação de tirosinas e causar ativação das vias de sinalização a jusante. Localização de mutações primária (espontâneo e hereditário) e secundária (detectado durante tratamento) de receptor alpha de KIT e PDGFR α esta indicada pelos pontos azul, amarelo e vermelho, respectivamente.

KIT, de 145-kd, é expresso através do proto-oncogene C - KIT, localizado no cromossomo 4q11-21, que codifica a proteína CD117 (C - KIT). Atua como receptor para SCF - *stem cell factor* – o qual apresenta diversas designações na literatura, tais como: fator de crescimento de mastócitos (COPELAND et al, 1990; ANDERSON et al, 1990 apud SAFDAR; SHER, 2007), ligante kit (HUANG et al, 1990 apud SAFDAR; SHER, 2007) e fator de aço (WITTE et al, 1990 apud SAFDAR; SHER, 2007). Trata-se de um homodímero não covalente, composto de dois protômeros ligeiramente encravados que atuam por dimerização através de interações polares e apolares. O ancoramento de SCF em KIT induz uma rápida e completa ativação, por meio de autofosforilação, da tirosino quinase catalítica para transdução de sinal (ZHANG, Z. et al, 2000; CORLESS; FLETCHER; HEINRICH, 2004; SAFDAR; SHER, 2007; DIRNHOFER; LEYVRAZ, 2009).

Tal fato culmina com a cascata de fosforilação dos resíduos de tirosina ocorrendo em múltiplas moléculas de sinalização a jusante e ativação de percursos de transdução de sinais como Ras / MAP quinase, Rac / Rho-JNK, PI3K / AKT e das redes de sinalização SFK / STAT (LASOTA; MIETTINEN, 2008).

O percurso do fosfatidilinositol – 3 – quinase (PI3 K), composto por uma subunidade regulatória e uma catalítica, interage sobre C-KIT levando a ativação de AKT, uma proteína moduladora da função de numerosos substratos envolvidos na regulação da sobrevivência celular, progressão do ciclo celular e crescimento celular (Figura 2.4). Em seguida dá-se a inibição de Bad, um fator pró apoptótico, promovendo, assim, em última instância, a sobrevivência celular (LASOTA; MIETTINEN, 2008; VARA et al, 2004).



Fonte: VARA et al, 2004.

Figura 2.4 – Ativação da proteína tirosino quinase. PI3K é recrutado a membrana por ancoramento direto, acarretando em ativação alostérica da subunidade catalítica. A ativação resulta na produção do segundo mensageiro PIP3, cujos produtos lipídicos recrutam uma série de proteínas sinalizadoras, incluindo Akt, a qual media a ativação e inibição de diversos alvos, resultando em sobrevivência celular, crescimento e proliferação, através de diversos mecanismos.

Em suma, a estimulação desregulada do receptor de tirosino quinase que cursa com a ativação da via supracitada, mais JAK e MAP, promove a proliferação celular, crescimento tumoral e inibição de apoptose (BRACONI; BRACCI; CELLERINO, 2008).

Pelo fato de C - KIT desempenhar importante papel na eritropoiese, linfopoiese, desenvolvimento e função dos mastócitos, gametogênese e melanogênese e, estar envolvido, intimamente, com a regulação da divisão celular, suas alterações têm sido implicadas na origem de alguns neoplasmas humanos, como: tumores de mastócitos, tumores de células germinativas, carcinomas de ovário, melanomas malignos, câncer de pulmão de células pequenas, neuroblastoma, carcinoma de mama e GIST, sendo que, somente nesse último grupo de tumores, detectou-se mutações no domínio justamembranar (SAFDAR; SHER, 2007; GONZÁLES et al, 2004; HIROTA et al, 1998).

De acordo com Lasota e Miettinen (2008) as seguintes mutações já foram identificadas em KIT e PDGFR α em GIST: deleção, substituição, duplicação, inserção e mutação complexa, incluindo deleção - inserção. Tais mutações podem ser classificadas em primária e secundária. A primeira ocorre quando a mutação é detectada em tumores ainda não tratados com inibidores de tirosino quinase e a segunda ocorre no decorrer da terapia. Chen et al (2004) apontam que, tanto as mutações primárias quanto as secundárias, afetam o mesmo alelo.

As mutações oncogênicas em KIT e PDGFR α ativam os receptores de tirosino quinase através de uma fosforilação constitutiva, as quais, de acordo com a localização, podem ser divididas em duas categorias: mutações no domínio receptor regulatório, extracelular e justamembranar, as quais não afetam os aminoácidos que diretamente formam o sítio enzimático, mas sim as porções da molécula que regulam a atividade quinase; e mutações no domínio enzimático, tirosino quinase um e dois (exon 13, 17 para KIT). Em GIST, a grande maioria das mutações ocorre no exon 11 e no exon nove. O exon 11 é responsável pelo domínio justamembranar e mutações nesse domínio afetam sua função regulatória e promovem ativação quinase espontânea. Enquanto que no exon nove, responsável pelo domínio extracelular, alternativamente, as mutações podem, ao romper a antidimerização, levar a uma homodimerização espontânea do receptor. Ademais, mutações no exon nove de KIT parecem ter sinalizações intracelulares mais diversas do que as do exon 11 (LONGLEY; REGUERA; MA, 2001; LASOTA; MIETTINEN, 2008; DUENSING et al, 2004).

Em PDGFR α as mutações primárias ocorrem no exon 12, responsável pelo domínio justamembranar, e nos exons 14 e 18, responsáveis pelos domínios tirosino quinase um e dois. Mutações secundárias foram descritas para: domínios tirosino quinase um e dois de KIT (exons 13, 14 e 17); inserção quinase (exons 15 e 16); e domínio tirosino quinase dois de PDGFR α (exon 18) (LASOTA; MIETTINEN, 2008).

Segundo Heinrich et al (2003) as mutações em KIT e PDGFR α aparentam ser mecanismos oncogênicos alternativas e mutuamente exclusivos. Somente uma mutação, KIT ou PDGFR α , deve ser encontrada em GIST primário e em metástases

subseqüentes. Lasota e Miettinen (2008) reportam, no entanto, tumores primários com mutações secundárias silenciosas em KIT, missense ou nonsense.

Estudos mutagênicos de KIT demonstraram que pequenas deleções, inserções, ou mutações pontuais na região justamembranar, cuja função visa inibir a dimerização do receptor na presença de SCF, perturbam esse funcionamento, permitindo a dimerização do receptor independentemente da presença de ligante (CORLESS; FLETCHER; HEINRICH, 2004).

No que concerne as freqüências nas mutações do exon 11 existe um amplo espectro que, segundo Corless; Fletcher; Heinrich (2004), varia de 20% a 92%, sendo os de maior rendimento os oriundos de estudos baseados em cDNA obtidos de tumores congelados. A pesquisa de Rubin et al descobriu mutações somáticas em 44 tumores (92%), das quais 34 (71%) eram mutações em região justamembranar. Na maioria dos estudos com DNA genômico extraído de tecidos tumorais embebidos em parafina o espectro de freqüências foi bastante inferior, na faixa de 20% a 57% (CORLESS; FLETCHER; HEINRICH, 2004; MOSKALUK et al, 1999; SINGER, 2002).

Deleções e inserções costumeiramente afetam a primeira porção do exon, particularmente os códons 557 ao 559. Mutações pontuais são limitadas a apenas quatro códons no interior do exon (557, 559, 560 e 576), ao passo que duplicações são observadas próximas ao término do exon (CORLESS; FLETCHER; HEINRICH, 2004).

Lux et al (2000) foram os primeiros a descrever a mutação no domínio extracelular de KIT: a inserção de seis nucleotídeos que resulta na duplicação de Ala501 e tir502. Tal mutação foi confirmada por Hirota et al (2001) em alguns subconjuntos de GIST e demonstrado que a isoforma resultante de KIT tem uma quinase constitutivamente ativada.

A freqüência de mutações no domínio quinase I em KIT é consistentemente baixa, variando de 0,8% a 4,1% e existem evidências de que essa mutação resulta, no receptor, em ativação independente de ligante. Todavia não é claro se a homodimerização espontânea é o mecanismo em questão (CORLESS; FLETCHER; HEINRICH, 2004; HEINRICH et al, 2003).

Deleções “in-frame” é o tipo mais comum de mutação primária de KIT em GIST, tendo sido observadas quase que exclusivamente no exon 11. Consistem na perda de três a 30 ou mais nucleotídeos e levam a deleções ou, em alguns casos, a deleções-inserções. As substituições únicas de nucleotídeos são a segunda mutação de KIT mais comum em GIST e em sua grande maioria afetam o exon 11. Tipicamente, essas mutações aglomeram-se em quatro códons, contudo outras substituições, em outras localidades, já foram observadas. Existem relatos na literatura de mutações de nucleotídeo único nos exons 13 e 17 (LASOTA; MIETTINEN, 2008; RUBIN et al, 2001; LUX et al, 2000).

Duplicações são o terceiro tipo mais comum de mutações de KIT em GIST e já foram identificadas no exon 9 e no exon 11, onde são estruturalmente heterogêneas. Seu tamanho varia de um a 18 códons. Inserções em KIT são muito raras e somente foram encontradas no exon 11, mais especificamente no códon 558. Da mesma maneira, enquadram-se as mutações complexas, em uma ou mais deleções ou duplicações de nucleotídeos coexistem com pequenas inserções (LASOTA; MIETTINEN, 2008; MOSKALUK et al, 1999).

Em PDGFR α a substituição única de nucleotídeos são as mutações mais comuns, sendo a maioria identificada no exon 18. Contudo, os exons 12 e 14 também podem ser mutados, sendo esse último de ocorrência extremamente rara. Em seguida está às deleções “in-frame” no exon 18 e 12. Duplicações e inserções são raras e somente três duplicações e uma inserção foram identificadas em PDGFR α para o exon 12. Mutações complexas foram reportadas para o exon 18 (LASOTA; MIETTINEN, 2008; LASOTA; STACHURA; MIETTINEN, 2006; HEINRICH et al, 2003).

No que tange a localização tumoral e o perfil mutagênico, sabe-se que uma grande maioria das duplicações no exon 11 foram diagnosticadas no estômago, enquanto que a maioria das duplicações do exon 9 ocorrem no intestino, porém nenhuma correlação significativa entre essas mutações e a morfologia do tumor foram estabelecidas. Todavia, é certo que os mutantes do exon 11 mais comumente são do tipo fusiforme que epitelial (LASOTA; MIETTINEN, 2008; WARDELMANN et al, 2002).

GIST do intestino delgado apresentam frequência duas vezes maior de mutantes do exon 17 se comparados aos GIST gástricos e mutantes dos exons 9, 13 e 17 costumam ter morfologia fusiforme, muito embora existam descrições de variantes epiteliais em GIST intestinais com essas mutações, o que se acredita representar uma transformação maligna e, portanto, não deve ser considerada semelhante ao tumor gástrico. As mutações de PDGFR α ocorrem quase que exclusivamente no estômago e omento, muito embora haja relatos de GIST intestinais e mesentéricos com essa modificação (LASOTA, 2008 apud LASOTA; MIETTINEN, 2008; DIRNHOFER; LEYVRAZ, 2009).

2.3.2. C - MYC

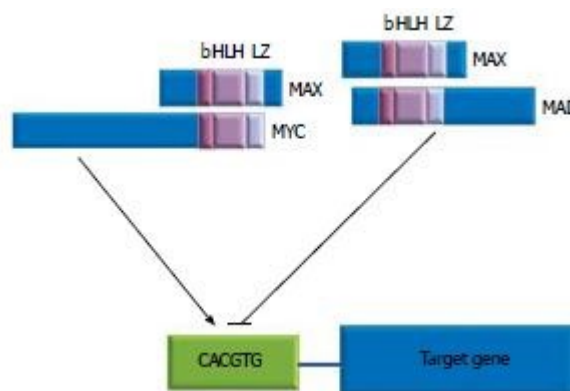
O oncogene MYC (C-MYC) tem sido descrito como elemento chave em diversos processos carcinogênicos humanos e é, sabidamente, um importante regulador da proliferação, crescimento, diferenciação celular e apoptose. Presente em genomas de diferentes organismos, de moscas a humanos, participa mais especificamente da regulação do ciclo celular, parada do crescimento celular, adesão celular, metabolismo, biogênese dos ribossomos, síntese protéica e função mitocondrial (CALGAGNO et al, 2008; VITA; HENRIKSSON, 2006; FERNANDEZ et al, 2003; OSTER et al, 2002).

Faz parte da família de oncogenes MYC, sendo homólogo do oncogene retroviral v-Myc. Em roedores foram identificados os genes B-Myc e S-Myc e, em neoplasias humanas, já foram amplificados outros dois genes: N-MYC – amplificado de neuroblastomas – e L-MYC – amplificado de carcinoma pulmonar oat cells (SHEINESS; BISHOP, 1979; KOHL et al., 1983; SUGIYAMA et al., 1989; MELKOUMIAN et al., 2002; NAU et al., 1985; INGVARSSON et al., 1988).

Localiza-se na região cromossômica 8q24.1, tem 3 exons, possui 5359 pares de bases nucleotídicas e codifica uma fosfoproteína nuclear (ENTREZ GENE, 2008). Sua transcrição é controlada por quatro promotores: P0, P1, P2 e P3, sendo a contribuição de P1 da ordem de 75-90% e a de P2 da ordem de 10-25%, no que concerne a formação de RNAm citoplasmáticos de MYC (STEWART et al., 1984; TAUB et al., 1984) O promotor 3 colabora apenas com 5% e o promotor 0, presente apenas em humanos, possui atividade semelhante (BENTLEY; GROUDINE, 1988; RAY; ROBERT-

LÉZÉNÈS, 1989).

Possui controle direto da replicação do DNA, uma vez que interage com o complexo pré replicativo e localiza sítios precoces de síntese de DNA. Todavia, para adquirir atividade de ligação ao DNA, necessita se heterodimerizar com MAX, uma proteína expressa constitutivamente, sendo que os dímeros MYC/MAX ligam-se a promotores específicos de genes alvo e, assim, estimulam suas transcrições (Figura 2.5) (PERSSON; LEDER, 1984 apud CALGAGNO et al, 2008; DOMINGUEZ-SOLA et al, 2007 apud CALGANO et al, 2008; COWLING; COLE, 2006 apud CALGANO et al, 2008).



Fonte: CALGAGNO et al, 2008.

Figura 2.5 – Ativação dos genes alvo de MYC pela interação entre MYC/MAX ou repressão por MAD/MAX.

MYC/MAX, além de ativar a transcrição, promovem proliferação celular e transformação. O gene para a proteína MAX, a despeito do estágio de proliferação celular, é expresso em níveis basais e, na forma de homodímero, pode bloquear o efeito biológico do complexo supracitado por ocupação competitiva dos sítios de ligação. Nesses termos, em células quiescentes (G_0), onde os níveis de MYC são mínimos, esta favorecida a formação de homodímeros de MAX e, conseqüentemente, a repressão da transcrição. (DANG, 1999). Todavia, em resposta a estímulos para crescimento celular, os níveis de MYC se elevam demasiadamente, facilitando a formação dos heterodímeros MYC/MAX, os quais, por sua vez, podem ativar a transcrição de genes de crescimento celular. O complexo MAD/MAX, formado com outra proteína, reprime

a transcrição e bloqueia as transformações induzidas por MYC (MARIS; MATTHAY, 1999).

Fatores de crescimento e componentes da matriz extracelular, bem como fatores internos de ativação do ciclo celular regulam a atividade de MYC, sendo, durante o desenvolvimento embrionário normal, essencial a expressão de MYC (FERNANDEZ et al., 2003). A proteína MYC e seu RNAm tem meia-vida efêmera, sendo ambos expressos em níveis constantes durante o ciclo celular. A fosforilação de MYC também é descrita de forma invariável ao longo do ciclo celular (HANN et al., 1985; THOMPSON et al., 1985).

Dentre os vários tipos de cânceres em que o gene MYC está implicado, destaca-se o câncer gástrico, cuja participação parece ser fundamental no processo carcinogênico. A amplificação do locus C-MYC pode ser um preditor de agressividade e desfecho desfavorável no adenocarcinoma gástrico do tipo intestinal, além de ter importante papel no desenvolvimento e progressão dessa neoplasia (CALGANO et al, 2010)

Calgano et al (2005, 2006) observaram que a amplificação de MYC é uma alteração genética comum em amostras de adenocarcinoma gástrico de indivíduos do norte do Brasil, variando o ganho de MYC na faixa de 43% a 83% das células em paciente com mais de 40 anos. Tal estudo sugere inclusive que a alteração clonal de MYC seja considerada como um fator de risco para o câncer gástrico (CALGANO et al, 2010).

A presença de metástases está associada com maior expressão de MYC, sendo detectados maiores níveis de RNAm de MYC nesse estágio de doença do que em lesões primárias. (KOZMA, 2001; YANG, 2004; ONODA, 1996). Han et al (1999) detectaram que pacientes com expressão de altos níveis de MYC possuem sobrevida livre de doença comprometida, o que sugere que a expressão de MYC pode representar um subtipo agressivo de câncer gástrico (CALGANO et al, 2008).

O estudo de Tatsuta et al (1994) avaliou a expressão de RNAm de MYC por hibridização *in situ* de 31 lesões gástricas. Os pacientes com lesões limítrofes com ou

sem super expressão de MYC foram acompanhados por endoscopias seriadas e biópsias gástricas. Os resultados apontaram que 46% dos pacientes com lesões elevadas tinham super expressão de MYC e adenocarcinoma, ao passo que, em pacientes com lesões elevadas sem super expressão de MYC, nenhum câncer foi encontrado. O período de acompanhamento dos pacientes foi em média de 15 meses (CALGANO et al, 2008).

Desregulação de MYC

MYC regula a transcrição dos seus alvos através de diversos mecanismos: recrutamento de histonas, proteínas moduladoras de cromatina, fatores de transcrição basais e metiltransferase de DNA. Os produtos protéicos dos genes alvos de MYC medeiam os efeitos a jusante, sendo MYC rapidamente degradado quando MAX dimeriza com a família MAD - antagonistas de MYC - Tal controle pode ocorrer na transcrição (iniciação e alongação), pós transcrição (translação e estabilidade de RNAm), ou pós translação (estabilidade protéica) (AYER; KRETZNER; EISENMAN, 1993; SEARS, 2004; MCMAHON, 1998 apud CALGANO et al, 2008).

Segundo Prochownik e Li (2007) a oncoproteína MYC, somada ao seu papel transformador direto, pode mediar instabilidade genômica por meio de espécies reativas de oxigênio, ou pela promoção de instabilidade cromossômica total, levando a tetraploidia e aneuploidia. MYC ao induzir iniciação incorreta da replicação, quebra de DNA, alterações em seu reparo e mutações pontuais, causa remodelamento da configuração nuclear 3D de telômeros e cromossomos, criando, dessa forma, condições topológicas para instabilidade genômica (LOUIS, 2005).

As alterações em MYC são amiúde induzidas por: mutações pontuais, amplificação gênica, translocação cromossômica, inserção viral no locus de MYC, resistência a proteína MYC por proteólise mediada por ubiquitina e transcrição, ou translação aprimorada por vias sinalizadoras de outros oncogenes (VITA; HENRIKSSON, 2006).

A super expressão de MYC esta associada com mais de 50% dos cânceres humanos e é freqüentemente associada a um pior prognóstico e fenótipos mais invasivos. Evidenciou-se que a expressão desregulada de MYC pode levar ao

crescimento celular e angiogênese, reduzir adesão celular, promover metástases e instabilidade genômica. Por outro lado, a perda da proteína MYC não somente inibe a proliferação e o crescimento celular, mas também acelera a diferenciação, aumenta a adesão celular e leva a uma resposta excessiva a danos do DNA. Tais fatos, amparados em estudos em modelos animais, sugerem MYC como um alvo potencial para terapia de cânceres humanos. Todavia, ainda é incerta se essas drogas serão úteis (BURBANO et al, 2006; ADHIKARY; EILERS, 2005).

2.3.3. MARCADORES MOLECULARES

São proteínas, ou porções de proteínas, oriundas do tumor, sangue, ou outros materiais biológicos, produzidas diretamente pelo tumor ou pelo organismo em resposta a doença. Funcionam como indicadores da presença de câncer, uma vez que sua aparição, ou variação de concentração estão relacionadas à origem e desenvolvimento de células neoplásicas (ALMEIDA et al, 2007; CAPELOZZI, 2001).

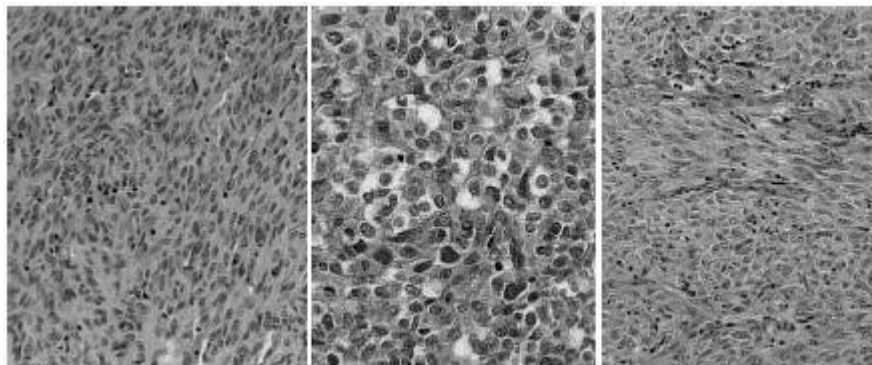
Sua aferição ou caracterização se dá por meios bioquímicos, imunohistoquímicos e por testes genéticos, os quais podem detectar: oncogenes, alterações genéticas e genes supressores de tumor. Além de auxiliar enquanto método diagnóstico, tais marcadores servem também para estadiamento, avaliação de resposta terapêutica, ocorrência de recidivas e desfecho clínico (ALMEIDA et al, 2007).

2.3.4. DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO

Cerca de metade dos casos de GIST são diagnosticados em pacientes clinicamente sintomáticos, sendo que 2/3 queixam-se de sintomas inespecíficos devido à massa abdominal ou ruptura de tumor. Cerca de 1/5 dos tumores é descoberto incidentalmente por endoscopia, métodos de imagem ou cirurgias por outras razões e, em torno de 1/10, por autópsia. (DIRNHOFER; LEYVRAZ, 2009; DEMETRI et al, 2007). Em casos de suspeita de GIST, a ultrassonografia endoscópica é uma ferramenta bastante útil, por permitir a realização de biópsias dirigidas (SINAIS, 2011).

A suspeita diagnóstica ocorre, amiúde, pela avaliação histológica, posto que a grande maioria dos casos possui apresentação notavelmente uniforme, sendo descritas

na literatura três apresentações possíveis: tipo fusiforme (70%), tipo epitelióide (20%) e tipo misto (Figura 2.6) (FLETCHER et al, 2002).



Fonte: FLETCHER et al, 2002.

Figura 2.6 – Tipos histológicos: fusiforme, epitelióide e misto, respectivamente.

O tipo fusiforme é composto por células eosinofílicas relativamente uniformes, dispostas em fascículos curtos, sendo o citoplasma mais pálido e o núcleo mais ovóide ou curto e, freqüentemente, com uma cromatina vesicular, quando comparados ao usualmente observado em neoplasias de músculo liso. Os de tipo epitelióide são compostos por células redondas com citoplasma de eosinofilia variável, até mesmo ausente, mas, semelhante às de tipo fusiforme, tendem a apresentar núcleos redondos a ovóides com cromatina vesicular. Este tipo de tumor, particularmente, apresenta uma arquitetura aninhada, o que aumenta o risco de confundi-los com neoplasias epiteliais ou melanocíticas. As lesões mistas podem exibir transições abruptas entre os dois tipos citados, ou uma mistura complexa desses tipos celulares (ibid).

O diagnóstico final, todavia, é determinado por estudo histológico e imuno-histoquímico através de biópsias das lesões, ou do estudo das peças resultantes da ressecção cirúrgica. Dentre os marcadores para diagnóstico diferencial dos tumores mesenquimais, destacam-se: CD34 (glicoproteína da superfície celular presente em células precursoras de tecido mielóide e linfóide, presente em 60 a 70% dos GIST e ausente em tumores de origem epitelial); CD 117 ou C - KIT (receptor da membrana tirosino quinase. Presente em até 95% dos casos é considerado o marcador mais importante, sendo sua presença obrigatória para o diagnóstico); actina (marcador específico de células nervosas, presentes no leiomioma e no leiomiosarcoma. Não é específico de células musculares, podendo estar presente em 15 a 60% dos GIST);

Proteína S-100 (marcador específico de células nervosas, presente no schwannoma e no GANT e ausente no GIST) (Tabela 2.3) (SINAIS, 2011).

TABELA 2.3 – Esquema imuno-histoquímico para diagnóstico diferencial de células tumorais fusiformes do trato gastrointestinal.

	Kit (CD 117)	CD 34	ACTINA	DESMINA	S – 100
GIST	+	+(60% a 70%)	+(50% a 40%)	Muito raro	5% +
Tumor de músculo liso	-	+(10% a 15%)	+	+	Raro
Schwanoma	-	+	-	-	+
Fibromatose	Incerto*	Raro	+	Céls. Raras	-

* A maioria, mas nem todos os autores relatam que Fibromatose é negativa para Kit.

Fonte: Adaptação de FLETCHER et al, 2002.

Em 2007 os GIST foram classificados, de acordo com as diretrizes do *National Comprehensive Network Cancer*, em relação ao risco de progressão da doença, índice mitótico, localização e tamanho tumoral (Tabela 2.4) (Liegl, Hornick, Lazar (2009) apud CERSKI, 2010).

TABELA 2.4 – Risco de progressão da doença em GIST de acordo com o índice mitótico, tamanho e localização da neoplasia.

Parâmetros Tumorais	Tamanho	Risco de Progressão da Doença (%)			
		Gástrico	Duodeno	Jejuno/Ileo	Reto
	≤ 2 cm	0	0	0	0
Índice Mitótico	>2 ≤5 cm	Muito baixo (1.9)	Baixo (8.3)	Baixo (4.3)	Baixo (8.5)
≤ 5 por 50 CGA	> 5 ≤10 cm	Baixo (3.6)	Dados Insuficientes	Moderado (24)	Dados Insuficientes
	>10 cm	Moderado (10)	Alto (34)	Alto (52)	Alto (57)
	≤ 2 cm	0	Dados Insuficientes	Alto	Alto (54)
Índice Mitótico	>2 ≤5 cm	Moderado (16)	Alto (50)	Alto (73)	Alto (52)
> 5 por 50 CGA	>5 ≤10 cm	Alto (55)	Dados Insuficientes	Alto (85)	Dados Insuficientes
	>10 cm	Alto (86)	Alto (86)	Alto (90)	Alto (71)

Fonte: Liegl, Hornick, Lazar (2009) apud Cerski, 2010.

Atualmente a terapia de GIST depende de sua situação em relação à possibilidade ou não de ressecção tumoral. Tal como outras neoplasias sólidas, possui o indicador clínico patológico de estadiamento proposto pela *American Joint Committee on Cancer*, conhecido como TNM (tumor, nódulo, metástase) (**ANEXO B**). Existindo essa possibilidade, a cirurgia permanece como tratamento padrão e deve ter como meta extirpar completamente o tumor, preservando a pseudo-cápsula, com margens microscópicas negativas. Todos os esforços devem ser executados para garantir a ausência de doença residual, todavia margens excessivamente amplas não se mostram benéficas. A abordagem laparoscópica pode ser realizada para tumores pequenos a intermediários, menores que cinco centímetros. A linfadenectomia é justificável somente para os casos em que haja evidente comprometimento linfonodal, posto que GIST raramente são implicados em metástases pelos linfonodos, sendo a via hematológica, usualmente para o fígado, a via de disseminação preferencial (LINHARES; VALADÃO, 2006; DIRNHOFER; LEYVRAZ, 2009; GOLD; DEMATTEO, 2006).

Tumores de tamanho inferior a dois cm, sem possibilidade de diferenciação diagnóstica, podem ter conduta expectante, desde que sejam reavaliados a cada três meses e, em caso de crescimento, a cirurgia deve ser indicada. Se maiores que dois cm, ou confirmados como GIST, a cirurgia esta indicada por conta dos riscos de malignidade da lesão. Não se preconiza quimioterapia e radioterapia convencionais, uma vez que para essas neoplasias a resposta não é satisfatória (SINAIS, 2011).

Para o tratamento de doença avançada, terapia neo-adjuvante, ou terapia adjuvante utiliza-se o mesilato de imatinib, uma pequena molécula inibidora de tirosino quinase com potente atividade contra o receptor transmembrana KIT. Ele ocupa o ATP “binding pocket” de KIT, protegendo assim a fosforilação do substrato, sinalização a jusante e inibe a proliferação celular e sua sobrevivência. Apresenta maior responsividade a mutações no exon 11 do que no 9 e deve ser substituído para a segunda linha de tratamento, sunitinib, após progressão de doença mesmo com altas doses de imatinib, ou intolerância ao medicamento de primeira linha. O sunitinib é um inibidor multiquinase e representa o tratamento padrão aos pacientes refratários ao imatinib. Atualmente, além dos inibidores de tirosino quinase, estudam-se estratégias terapêuticas anti-

angiogênicas, estando esses agentes, no entanto, ainda no plano das investigações clínicas (QUEK; GEORGE, 2009; ITALIANO; BUI, 2008; DIRNHOFER; LEYVRAZ, 2009, BRACONI; BRACCI; CELLERINO, 2008).

Após a cirurgia, o paciente deve ser controlado clínica e laboratorialmente e, também, por meio de exames de imagem (e.g: Tomografia computadorizada, Ressonância magnética por imagem, Tomografia por emissão de pósitrons e Ultrassom) visando avaliar se houve recorrência local ou metástases (AGIST, 2011).

2.3.5. TERAPIA GÊNICA

A doença neoplásica é oriunda do acúmulo de mutações decorrentes, principalmente da exposição a agentes genotóxicos do meio ambiente, sendo esse um evento progressivo e didaticamente dividido em duas fases: iniciação e promoção. A primeira fase caracteriza-se pela ocorrência da mutação, bem como pela alteração da velocidade de divisão celular, já a segunda consiste na evolução do processo, onde o tumor tornar-se-á observável. Os descendentes desta célula mutada recebem a denominação de clones neoplásicos (SQUIRE et al., 1998; VOGELSTEIN, KINZLER, 1998).

Oncogenes, genes de estabilidade e genes supressores de tumor, são os alvos da carcinogênese. Mutações em seus sítios representam fator crítico para desenvolvimento de doença neoplásica (YANG et al, 2010). Nesses termos, na última década, diversos receptores de tirosino-quinases foram identificados enquanto partícipes ativos na patogênese de variados cânceres humanos, com destaque para EGRF, ERBB-B2, K - RAS e C - MYC (QIN et al., 2006; HÖPFNER; SCHUPPAN; SCHERÜBL, 2008).

Hodiernamente, medicamentos que atuam em proteínas envolvidas na regulação da proliferação e/ou apoptose celular são a vanguarda nas terapias contra o câncer. Tal abordagem: sobre as diversas vias de sinalização que compõe o processo tumoral, combinadas a terapias convencionais, têm um futuro extremamente promissor (VITA, HENRIKSSON, 2006).

O gene MYC têm sido amplamente estudado, tornando-o um dos genes mais cobiçados enquanto alvo para as terapias anti-câncer. O motivo principal que o torna digno de tal papel, baseia-se no fato de que as proteínas transcritas por ele são fundamentais para regular: proliferação celular, apoptose e diferenciação. Uma vez que sua ação se dá em diferentes níveis, as estratégias terapêuticas poderiam atuar tanto inibindo a via de proliferação celular quanto aumentando a de apoptose. Além disso, julgando que o gene MYC está implicado em uma gama de tumores, o desenvolvimento de drogas específicas para esse gene poderão beneficiar um grande número de pacientes (ibid).

Sendo assim, é de grande importância elucidar o papel dos oncogenes na carcinogênese, posto que tais descobertas fomentarão o desenvolvimento de novas linhas terapêuticas, melhorando sobremaneira o tratamento e manejo das diferentes neoplasias humanas (ibid).

A análise genética e citogenética ganham a força, à medida que se fazem necessários a realização de diagnósticos cada vez mais precoces e buscam-se bases cada vez mais sólidas para explicar as alterações ao nível de células, tecidos, órgãos e sistemas (KOWALSKI et al., 2006).

No que tange GIST, para a patologia molecular, o desafio atual é compreender a progressão da doença apesar do uso de inibidores de tirosino quinase, os quais, para alguns pacientes, demonstram-se bastante eficazes com benefícios clínicos duráveis. Sabe-se que os mecanismos de resistência estão relacionados ao surgimento de mutações secundárias nos receptores de tirosino quinase (ITALIANO; BUI, 2008).

3. CASUÍSTICA E MÉTODO

- Tipo de Estudo:

O método utilizado na pesquisa foi o epidemiológico, descritivo, do tipo transversal de fonte secundária, tendo sido submetido à apreciação do Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário João de Barros Barreto. Todos os pacientes da presente pesquisa foram estudados segundo os preceitos da Declaração

de Helsinque e do Código de Nuremberg, respeitadas as Normas de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (Res. CNS 196/96) do Conselho Nacional de Saúde.

- Local do Estudo:

A pesquisa foi realizada no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB), Laboratório de Anatomia Patológica do HUJBB e Laboratório de Citogenética Humana da Universidade Federal do Pará.

- População de Referência e de Estudo:

A população do estudo conteve os pacientes atendidos no Hospital Universitário João de Barros Barreto com diagnóstico imunofenotípico de GIST, no período de 1999 a 2009. Foram compilados os dados de todos os pacientes que se integraram nos critérios de inclusão e exclusão desta pesquisa, atendidos no período estabelecido. Foram verificados 12 prontuários, dos quais apenas 09 tinham diagnóstico imunofenotípico de GIST. Destes, 02 foram excluídos por preenchimento incorreto/incompleto de informações médicas e/ou por ausência de laudo imunofenotípico que confirmasse a presença de GIST.

- Período ao qual o projeto destinou-se a pesquisar:

A pesquisa obteve informações dos pacientes atendidos no período de janeiro de 1999 a outubro de 2009.

- Critérios de inclusão:

- Ter sido atendido no HUJBB no período de janeiro de 1999 a outubro de 2009;
- Possuir diagnóstico de GIST confirmado por imunofenotipagem.

- Critérios de exclusão:

- Não apresentar comprovação imunofenotípica de GIST;
- Todo prontuário cuja análise esteja prejudicada pelo mal preenchimento dos

dados clínico-cirúrgicos do paciente;

- Ausência de outras neoplasias diagnosticadas;

- Variáveis a serem estudadas

No estudo, foram analisadas as seguintes variáveis (**APÊNDICE B**): sexo, idade dos pacientes, localização tumoral, padrão histopatológico e amplificação de C - MYC.

3.1. OBTENÇÃO DA AMOSTRA

As amostras foram obtidas através de lâminas histológicas a partir de blocos parafinados, oriundos do Laboratório de Imuno-histoquímica do Serviço de Anatomia Patológica do HUIBB, sendo em seguida submetidas ao FISH no Laboratório de Citogenética Humana da Universidade Federal do Pará.

3.2. HIBRIDIZAÇÃO POR FLUORESCÊNCIA IN SITU (FISH)

Núcleos interfásicos tumorais, fixados em lâminas histológicas, foram hibridados com sonda única, comercial, diretamente marcada para a região do gene MYC (8q24). O protocolo utilizado foi o de Pinkel et al. (1986) com modificações introduzidas por Calcagno et al. (2005).

3.3. ANÁLISE CITOGENÉTICA E MOLECULAR

A análise citogenética molecular foi realizada em microscópio de fluorescência OLYMPUS BX41, com filtro triplo DAPI/FITC/TRICT.

3.4. CAPTURA E ANÁLISE DE IMAGENS

Os sistemas de captura e de análise de imagens utilizado foi o da Applied Spectral Imaging. Para cada amostra, foram analisados 200 núcleos interfásicos.

3.5. CONTROLES POSITIVOS E NEGATIVOS

Linfócitos de sangue periférico e células da linhagem HL60 foram utilizados como controle negativo e positivo, respectivamente, para amplificação do gene MYC.

3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Não submetido a tratamento estatístico por apresentar um número reduzido de casos, limitando-se a descrição dos achados sob investigação.

4. ASPECTOS ÉTICOS

O estudo levou em consideração os princípios éticos básicos das diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa em seres humanos. Foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos do Hospital Universitário João de Barros Barretos, filiado ao CONEP (Comitê Nacional de Ética em Pesquisa) de Brasília (DF), conforme resolução 196/96, havendo sigilo absoluto quanto ao meio de identificação dos pacientes pertencentes à amostra estudada.

A presente pesquisa obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa na reunião do dia 30/03/2010, protocolo nº 4113/09. (ANEXO A).

5. RESULTADOS

Foram analisadas amostras parafinadas de sete pacientes atendidos no HUIBB com diagnóstico imunofenotípico de GIST.

A **tabela 5.1** apresenta o percentual de amplificações de C - MYC observadas para cada caso estudado em relação a diferentes números de alelos, bem como a validação do método mediante a apresentação dos resultados obtidos para controle negativo e para controle positivo. A análise levou em conta a observação de 200 células em cada amostra analisada.

O controle negativo apresentou 98,5% de amplificação para dois alelos, ao passo que o controle negativo obteve amplificação total da ordem de 85,5%, o que denota alta amplificação para C - MYC.

Em todos os casos observou-se marcação em apenas dois alelos. Tal fato pode ser considerado dentro dos padrões de normalidade, se consideramos como patológico uma perda superior a 10%, ou um ganho superior a 20%.

No caso sete, a despeito de uma amplificação da ordem de 89%, não podemos considerá-la como patológica, uma vez que não se observam perdas ou ganhos relevantes nos outros casos analisados.

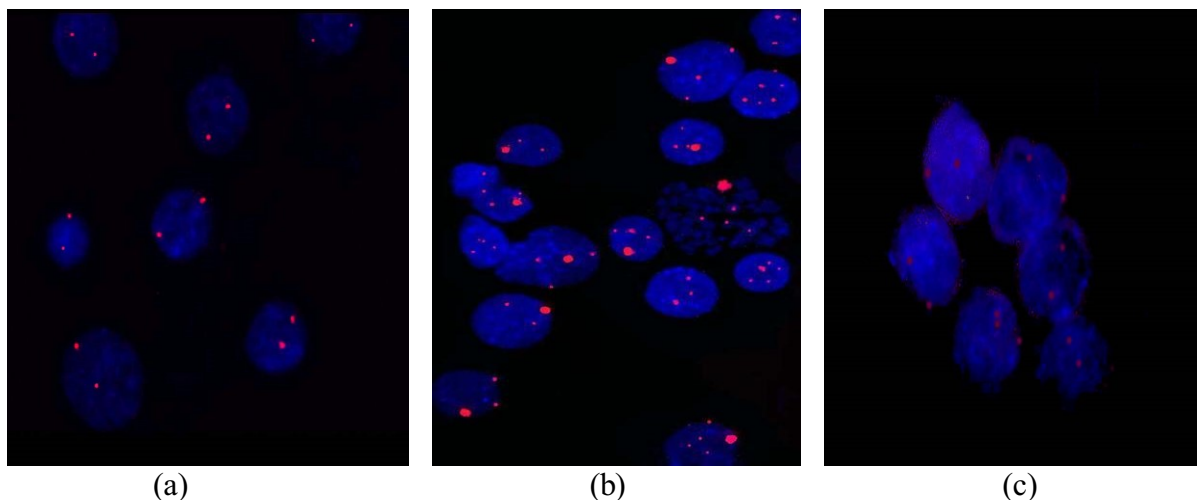
TABELA 5.1 – Percentual de amplificações de C - MYC observadas para cada caso estudado, bem como a validação do método mediante a apresentação dos resultados obtidos para controle negativo e para controle positivo.

CASOS	Número de sinais/ Porcentagem de núcleos						
	1	2	3	4	5	≥6	HA ^c
Controle Negativo ^a	1	98.5	0.5	–	–	–	–
Controle Positivo ^b	0	4	1.5	1.5	2	5.5	85.5
Caso 1	1	95	1,5	2,5	-	-	-
Caso 2	0,5	90	5	4,5	-	-	-
Caso 3	4	90	3,5	2,5	-	-	-
Caso 4	3,5	93	2,5	1	-	-	-
Caso 5	2	94,5	3	0,5	-	-	-
Caso 6	3,5	92,5	3	1	-	-	-
Caso 7	4,5	89	4,5	2	-	-	-

^aLinfócitos; ^bCélulas HL60; ^cAlta amplificação.

Fonte: O autor.

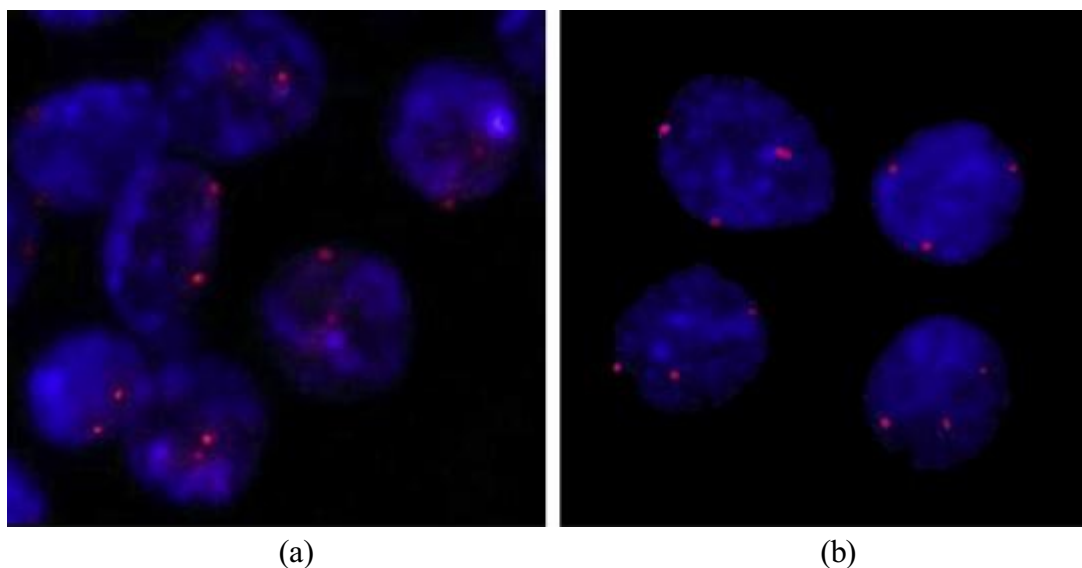
A **figura 5.1** expõe o ensaio de FISH para GIST e controles: negativo e positivo.



Fonte: O autor.

Figura 5.1. - Ensaio de FISH para GIST e controles: negativo e positivo. (a) Controle negativo: núcleos de linfócitos em interfase apresentando dois sinais MYC; (b) Controle Positivo: núcleos de células HL60 em interfase apresentando alteração numérica dos sinais de MYC; (c) GIST: núcleos em interfase apresentando dois sinais de MYC.

A título de comparação acerca do que seria um resultado positivo para FISH, citamos a publicação de RAIOL et al (2008) que investigou a inter relação entre alterações numéricas do gene MYC e sua expressão protéica em indivíduos do norte do Brasil com adenocarcinoma gástrico precoce. Os resultados obtidos demonstram três sinais e imunorreatividade de MYC em todas as amostras analisadas, o que levou os autores a concluir que, no câncer gástrico precoce, as alterações numéricas de MYC ocorrem no início da carcinogênese e, nesses termos, poderia ser utilizado como alvo terapêutico (Figura 5.2).



Fonte: RAIOL et al, 2008.

Figura 5.2. – Ensaio de FISH para adenocarcinoma gástrico precoce e células controle normais. (a) Controle negativo: núcleos em interfase apresentando dois sinais MYC; (b) adenocarcinoma gástrico: núcleos em interfase apresentando três sinais de MYC.

No que concerne aos dados relativos a gênero, idade, localização tumoral e padrão histopatológico, obtivemos o explicitado no quadro abaixo (Quadro 5.1).

1	F	50	RETROPERITÔNIO	IGNORADO
2	M	59	ESTÔMAGO	FUSIFORME
3	F	61	ESTÔMAGO	FUSIFORME
4	F	47	ESTÔMAGO	FUSIFORME
5	M	20	INTESTINO GROSSO	FUSIFORME
6	F	50	ESTÔMAGO E OMENTO	FUSIFORME
7	F	53	ESTÔMAGO	MISTO

Fonte: O autor.

Quadro 5.1. – Perfil dos casos analisados em relação a gênero, idade, sítio tumoral e padrão histopatológico.

6. DISCUSSÃO

Representando cerca de 1 a 3% de todos os tumores malignos do trato gastrointestinal, GIST correspondem a 5% de todos os tipos de sarcoma e a 80% das neoplasias mesenquimais do trato gastrointestinal (MONTAGNINI et al, 2006; DEMATTEO et al, 2000; JOENSUU et al, 2002). São responsáveis por um espectro de tumores com extrema variação do ponto de vista clínico e patológico e nenhum achado histológico ou parâmetro clínico pode prever o prognóstico (TORNILLO et al, 2005).

A maioria dos pacientes acometidos pela doença possui mais de 50 anos, com média de idade entre 60 e 70 anos, sendo incomum a instalação da doença nos extremos de idade, especialmente durante os 20 primeiros anos. O diagnóstico é feito em média entre 55 e 63 anos e a frequência por gênero é relativamente equilibrada, sendo de 52% em homens e 48% em mulheres, variando de acordo com raça, etnia, local geográfico e ocupação (MONTAGNINI et al, 2006; STEIGEN; EIDE, 2008; CICHÓŻ-LACH; KASZTELAN-SZCZERBIŃSKA; SŁOMKA, 2008).

Em nossa casuística a maior parte dos pacientes enquadraram-se na faixa etária superior aos 50 anos, porém inferior a média descrita na literatura que, conforme observado, gira em torno dos 60 aos 70 anos. Registramos apenas um caso em paciente jovem e nossa média de detecção diagnóstica foi semelhante ao observado por outros estudos. Ao contrário de outras publicações, no que concerne ao gênero, obtivemos um predomínio do sexo feminino (cinco pacientes em sete).

Tais observações acerca de sexo e idade demandam atenção, haja vista estarmos em uma região reconhecidamente de alta incidência para neoplasias do trato digestivo, em especial o adenocarcinoma gástrico. Raiol et al (2008) e Lima et al (2004) afirmam que no norte do Brasil, o Estado do Pará apresenta uma alta incidência dessa neoplasia e sua capital, Belém, está ranqueada como a 11ª em termos de taxa de incidência de câncer gástrico, dentre todas as cidades do mundo em que tais dados são disponíveis. Leal et al (2011) em recente publicação acerca de alterações múltiplas em linhagens de câncer gástrico confirmaram a amplificação de MYC enquanto um dos mecanismos mais comuns da oncogênese de tumores do estômago. É necessário salientar que tais

achados não podem, simplesmente, ser extrapolados para GIST, uma vez que se trata de tumores diferentes no que concerne a origem e patogenia.

Em termos gerais, o sítio primário de acometimento da lesão obedece a seguinte ordem: estômago (50 - 70%), intestino delgado (20 – 30%), intestino grosso (10%), reto e ânus (7%) e esôfago (5%). Mesentério, omento, retroperitônio e outras porções do trato digestivo raramente são sítios para GIST. A recente identificação de positividade para Kit em células semelhantes às células intersticiais de Cajal sugere que tais unidades estão mais difundidas no organismo do que comumente apreciamos, podendo contribuir para a difusão de GIST por fora das paredes gastrointestinais (MONTAGNINI et al, 2006; DIRNHOFER; LEYVRAZ, 2009; BRACONI; BRACCI; CELLERINO, 2008; QUEK; GEORGE, 2009; CORLESS; FLETCHER; HEINRICH, 2004). Em nosso estudo observamos, conforme a maior parte das publicações, predomínio em topografia gástrica, havendo apenas um caso para, respectivamente: retroperitônio, intestino grosso e omento, sendo essa última associada ao estômago.

No que tange a avaliação histológica, a despeito de uma descrição ignorada, observamos apenas uma descrição de tipo misto, sendo todo o resto da amostra classificado como fusiforme, corroborando a estatística vigente. De acordo com Fletcher et al (2002), a frequência dos padrões histológicos apresenta-se da seguinte maneira: tipo fusiforme (70%), tipo epitelióide (20%) e tipo misto (FLETCHER et al, 2002).

Do ponto de vista epidemiológico, tais achados não devem ser interpretados com significância estatística, dado ao limitado número de casos, sendo sugerida a execução de novos estudos com esse perfil utilizando casuísticas maiores.

Aberrações cromossômicas frequentes têm sido identificadas por estudos citogenéticos e por hibridização genômica comparativa, todavia os genes alvos dessas modificações permanecem desconhecidos, bem como as possíveis associações com o comportamento clínico. Até o momento a literatura médica descreve, além das aberrações citogenéticas e das mutações em Kit e PDGFR α , as seguintes aberrações moleculares: perda de heterozigose de p16 e p14, metilação de p15, perda homozigótica do gene Hox11L1 e amplificação de C-MYC, MDM2, EGFR1 e CCND1.

Hodiernamente, carecem informações sobre o papel dos oncogenes individualmente e sua prevalência de amplificação (TORNILLO et al, 2005; YANG et al, 2008).

O oncogene MYC (C-MYC) é, sabidamente, um importante regulador da proliferação, crescimento, diferenciação celular e apoptose. Participe da regulação do ciclo celular, parada do crescimento celular, adesão celular, metabolismo, biogênese dos ribossomos, síntese protéica e função mitocondrial, têm sido descrito como elemento chave em diversos processos carcinogênicos humanos (CALGAGNO et al, 2008; VITA; HENRIKSSON, 2006; FERNANDEZ et al, 2003; OSTER; HO; SOUCIE; PENN, 2002).

Tornillo et al (2005) investigaram através de FISH a amplificação gênica de HER2, EGFR1, c - MYC, CCND1 e MDM2, obtendo resultado positivo para C - MYC em apenas três casos dos 90 analisados. O estudo concluiu, ao analisar os genes individualmente, que amplificações dos genes CCND1 e MDM2 são detectadas apenas em tumores malignos ou de alto risco, podendo ter relevância prognóstica em GIST, enquanto que os outros genes - raramente amplificados - não demonstraram correlação com malignidade, sugerindo que outros proto oncogenes ainda desconhecidos poderiam ser o alvo das amplificações. A pesquisa demonstrou que a amplificação gênica é um evento freqüente em um subconjunto de GIST, no entanto não observou associação significativa entre a presença de amplificação gênica e o tipo histológico do tumor, bem como em relação a sua localização.

Yang et al (2008) estudaram o significado clínico potencial da amplificação dos oncogenes: C-MYC, MDM2, GLI1, CDK4, HER2, EGFR1, CCND1, FGF3 e EMS através de FISH e obtiveram, semelhante ao estudo supra citado, a amplificação de C - MYC em três casos dentre 90 analisados. Os resultados obtidos demonstram que a amplificação gênica ocorre em um subgrupo de GIST, com destaque para os oncogenes MDM2 e CCND1.

A ausência de positividade para amplificação de C - MYC no presente estudo, a despeito da limitação numérica dos casos analisados, é compatível com os resultados obtidos por outros grupos com linhas de pesquisa semelhante, uma vez que nesses grupos a amplificação de C - MYC também não foi expressiva, muito embora exista e

possa ter algum papel relevante na evolução da doença.

Entretanto, é sabido que o oncogene C - MYC pode atuar na tumorigênese através de outros mecanismos além da amplificação gênica. Burbano et al (2006) afirmam que, no câncer gástrico do tipo difuso, além da amplificação, MYC, pode sofrer translocação. A oncoproteína MYC, somada ao seu papel transformador direto, pode mediar instabilidade genômica por meio de espécies reativas de oxigênio, ou pela promoção de instabilidade cromossômica total, levando a tetraploidia e aneuploidia (PROCHOWNIK; LI, 2007). MYC ao induzir iniciação incorreta da replicação, quebra de DNA, alterações em seu reparo e mutações pontuais, causa remodelamento da configuração nuclear 3D de telômeros e cromossomos, criando, dessa forma, condições topológicas para instabilidade genômica (LOUIS, 2005).

As alterações em MYC são amiúde induzidas por: mutações pontuais, amplificação gênica, translocação cromossômica, inserção viral no locus de MYC, resistência a proteína MYC por proteólise mediada por ubiquitina e transcrição, ou translação aprimorada por vias sinalizadoras de outros oncogenes (VITA; HENRIKSSON, 2006). A perda da proteína MYC também é nociva, pois, não somente inibe a proliferação e o crescimento celular, mas pode acelerar a diferenciação, aumentar adesão celular e guiar uma resposta excessiva de danos ao DNA (BURBANO et al, 2006).

O fato de não terem sido evidenciadas em nossas amostras alterações numéricas de C - MYC, não excluem a eventual participação desse importante oncogene na carcinogênese de GIST. Não obstante o pequeno número amostral, insuficiente para excluir a existências de alterações numéricas, o mecanismo patogênico mediado por C - MYC poderia decorrer de outros eventos genéticos, não identificáveis pelo método aqui utilizado. Nesse sentido, cita-se a ocorrência de translocações, ou inserções, conforme descrito por Calcagno et al (2005) para adenocarcinomas gástricos do tipo difuso de Lauren. Ressalta-se que translocações envolvendo o gene C - MYC constituem importante mecanismo carcinogênico em outros tumores humanos, em especial no linfoma.

O conhecimento e adequada caracterização de translocações em outras neoplasias, como leucemia mielóide crônica, proporcionaram o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras, dirigidas a alvos moleculares específicos do tumor, modificando inteiramente a abordagem terapêutica e seus resultados, com benefícios incontestáveis aos pacientes.

Diante do exposto, é mister estimular a investigação adicional da participação do gene C-MYC na carcinogênese do GIST, sobremaneira, por meio da aplicação de outras técnicas citogenéticas e moleculares.

É indubitável que a vanguarda das pesquisas no campo da oncologia reside na compreensão molecular da doença, tornando-se essencial o desenvolvimento de estudos que elucidem os mecanismos implicados em sua evolução. Este é um trabalho pioneiro na literatura mundial investigando o gene C – MYC em pacientes portadores de GIST.

7. CONCLUSÕES

Não foram identificadas alterações numéricas do gene C - MYC nos casos de GIST investigados. Todavia, em vista do limitado número amostral e da possibilidade da carcinogênese mediada por C – MYC ser oriunda de outros mecanismos diferentes da amplificação gênica, não se exclui a participação desse gene na oncogênese de GIST.

8. REFERÊNCIAS

ADHIKARY, S.; EILERS, M. Transcriptional regulation and transformation by Myc proteins. **Nat Rev Mol Cell Biol.** v.6, n.8, p. 635-645, 2005.

AGIST. **Sobre o GIST.** São Paulo: Novartis Oncologia, fev. 2011, 40 p.

ALMEIDA, J.R.C. Revisão de Literatura: Marcadores Tumorais. **Rev. Bras. de Cancerologia**, v. 53, p. 305-316, 2007.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST).** USA: ACS, 2010, 32 p.

ANDERSON, D.M., et al. **Molecular cloning of mast cell growth factor, a hematopoietin that is active in both membrane bound and soluble forms.** 1990 apud SAFDAR, Ali, SHER, A. Role of c-kit/SCF in cause and treatment of gastrointestinal stromal tumors (GIST). **Gene.** v.401, n.1-2, p.38-45, 2007.

AYER, D.E.; KRETZNER, L.; EISENMAN R.N. Mad: a heterodimeric partner for Max that antagonizes Myc transcriptional activity. **Cell.** v.72, p.211-722, 1993.

BENTLEY, D.L.; GROUDINE, M. Sequence requirements for premature termination of transcription in the human c-myc gene. **Cell**, v.2, n.53, p. 245-56, 1988.

BRACONI, C.; BRACCI, R.; CELLERINO, R. Molecular Targets in Gastrintestinal Stromal Tumors (GIST) Therapy. **Current Cancer Drug Targets.** v.8, n. 5, p. 359-366, 2008.

BURBANO, R.R.; et al. *C-MYC* Locus Amplification as Metastasis Predictor in Intestinal-type Gastric Adenocarcinomas: CGH Study in Brazil. **Anticancer Research.** v.26, p.2909-2914, 2006.

CALCAGNO, D.Q.; et al. Aneuploidy of chromosome 8 and CMYC amplification in individuals from northern Brazil with gastric adenocarcinoma. **Anticancer Res.** v.25, p.4069-4074, 2005.

CALCAGNO, D.Q.; et al. Interrelationship between chromosome 8 aneuploidy, C-MYC amplification and increased expression in individuals from northern Brazil with gastric adenocarcinoma. **World J Gastroenterol.** v.12, p.6207-6211, 2006.

CALCAGNO, D.Q. et al. MYC and gastric adenocarcinoma carcinogenesis. **World J Gastroenterol.** v.14, n.39, p.5962-5968, out. 2008.

CALCAGNO, D.Q.; et al. MYC in gastric carcinoma and intestinal metaplasia of young adults. **Cancer Genetics and Cytogenetics.** v.202, p.63-66, 2010.

CAPELOZZI, V.L. Entendendo o papel de marcadores biológicos no câncer de pulmão. **Jornal de Pneumologia,** v. 27, n. 6, p. 321-328, 2001.

CARNEY, J.A. **Gastric stromal sarcoma, pulmonary chondroma, and extra-adrenal paraganglioma (Carney Triad): natural history, adrenocortical component, and possible familial occurrence.** Mayo Clin Proc, 1999 apud QUEK, R.; GEORGE, S. Gastrointestinal Stromal Tumor: a clinical Overview. **Hematol Oncol Clin N Am.** v.23, n.1, p. 69-78, fev.2009.

CERSKI, Marcelle Reesink. **Tumores estromais gastrointestinais (GIST): Aspectos anatomopatológicos, imuno-histoquímicos, clínicos e moleculares: série de 85 casos.** Porto alegre, 2010. 77f. Tese (Doutorado em Medicina) – Faculdade de Medicina, UFRGS, PPG: Ciências em Gastroenterologia, 2010.

CHEN, L. et al. A Missense Mutation in KIT Kinase Domain 1 Correlates with Imatinib Resistance in Gastrointestinal Stromal Tumors. **Cancer Research.** v.64, n.17, p.5913–5919, Set. 2004.

CICHOŹ-LACH, H.C.; SZCZERBIŃSKA, B.K.; SŁOMKA, M. Gastrointestinal stromal tumors: epidemiology, clinical picture, diagnosis, prognosis and treatment.

POLSKIE ARCHIWUM MEDYCYNY WEWNĘTRZNEJ, v.118, n.2, p. 216-220, 2008.

COPELAND, N.G. et al. **Mast cell growth factor maps near the steel locus on mouse chromosome 10 and is deleted in a number of steel alleles**, 1990 apud SAFDAR, Ali, SHER, A. Role of c-kit/SCF in cause and treatment of gastrointestinal stromal tumors (GIST). **Gene**. v. 401, n.1-2, p.38-45, 2007.

CORLESS, C.L.; FLETCHER J.A.; HEINRICH, M. C. Biology of Gastrointestinal Stromal Tumors. **Journal of Clinical Oncology**. v.22, n.18, p. 3813-3825, set. 2004.

COWLING, V.H, COLE, M.D. **Mechanism of transcriptional activation by the Myc oncoproteins**. Semin Cancer Biol, 2006 apud CALCAGNO, D.Q. et al. MYC and gastric adenocarcinoma carcinogenesis. **World J Gastroenterol**. v.14, n.39, p.5962-5968, out. 2008.

DANG, C.V. *c-Myc* target genes involved in cell growth, apoptosis, and metabolism. **Mol Cell Biol**, v. 1, n. 19, p. 1-11, 1999.

DEMATTEO, R.P. et al. Two hundred gastrointestinal stromal tumors: recurrence patterns and prognostic factors for survival. **Ann Surg**. v.231, n.1, p.51-58, 2000.

DEMETRI, G.D.; et al. NCCN Task Force report: management of patients with gastrointestinal stromal tumor (GIST) – update of the NCCN clinical practice guidelines. **J Natl Compr Canc Netw**. v.5, n. 2, p.S1-29, 2007.

DIRNHOFER, S.; LEYVRAZ, S. Current standards and progress in understanding of GIST. **Swiss Med Wkly**. v.139, n.7-8, p.90-102, 2009.

DOMINGUEZ-SOLA, D et al. **Non-transcriptional control of DNA replication by c-Myc**. Nature, 2007 apud CALCAGNO, D.Q. et al. MYC and gastric adenocarcinoma carcinogenesis. **World J Gastroenterol**. v.14, n.39, p.5962-5968, out. 2008.

DUENSING, A. et al. Mechanisms of oncogenic KIT signal transduction in primary gastrointestinal stromal tumours (GISTs). **Oncogene**. v.23, n.22, p.3999–4006, mai. 2004.

ENTREZ GENE (2008), disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=gene> (Acesso em 19 de janeiro de 2011).

FERLAY, J.; et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN. **International Journal of Cancer**. v. 127, p. 2893–2917, 2010.

FERNANDEZ, P.C. et al. Genomic targets of the human c-Myc protein. **Genes**. v.17, p. 1115-1129, 2003.

FERREIRA, F.O.; CASTRO, R.M.R.P.S. Biologia da célula tumoral. In: Lopes, A.; Iyeyasu, H.; Castro, R.M.R.P.S. **Oncologia para a graduação**. 2. ed. São Paulo: Tecmedd, 2008. p.3-13.

FLETCHER, C.D.M. et al. Diagnosis of Gastrointestinal Stromal Tumors: A Consensus Approach. **Human Pathology**. v.33, n.5, p.459-465, mai.2002.

FLETCHER, J. A.; RUBIN, B. P. KIT Mutations in GIST. **Current Opinion in Genetics & Development**. v.17, n.1, p.3-7, 2007.

GOLD, J.S., DEMATTEO, R.P. Combined surgical and molecular therapy: the gastrointestinal stromal tumor model. **Ann Surg**. v.244, n.2, p.176–84, ago.2006.

GONZÁLES, I. et al. Imatinib Inhibits Proliferation of Ewing Tumor Cells Mediated by the Stem Cell Factor/KIT Receptor Pathway, and Sensitizes Cells to Vincristine and Doxorubicin-Induced Apoptosis. **Clinical Cancer Research**. v.10, n. 2, p. 751-761, jan.2004.

HAN, S.; et al. c-Myc expression is related with cell proliferation and associated with poor clinical outcome in human gastric cancer. **J Korean Med Sci.** v.14, p.526-530, 1999.

HANN, S.R.; THOMPSON, C.B., et al. *c-myc* oncogene protein synthesis is independent of the cell cycle in human and avian cells. **Nature**, v.6009, n. 314, p. 366-9, 1985.

HEINRICH, M.C. et al. Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. **J Clin Oncol.** v.21, n.23 , p.4342-4349, dez. 2003.

HEINRICH, M.C. et al. PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. **Science.** v. 299, n. 5607, p.708-710, jan. 2003.

HIROTA, S. et al. Gain of function mutation at the extracellular domain of KIT in gastrointestinal stromal tumours. **J Pathol.** v.193, n.4 ,p.505-510, abr.2001.

HIROTA, S. et al. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. **Science.** v.279, n.5350, p.577-580, jan.1998.

HÖPFNER, M.; SCHUPPAN, D.; SCHERÜBL, H. Targeted medical therapy of biliary tract cancer: Recent advances and future perspectives. **World J Gastroenterol.** v.46, n. 14, p. 7021-7032, dez. 2008.

HUANG, E. et al. **The hematopoietic growth factor KL is encoded by the Sl locus and is the ligand of the c-kit receptor, the gene product of the W locus**, 1990 apud SAFDAR, Ali, SHER, A. Role of c-kit/SCF in cause and treatment of gastrointestinal stromal tumors (GIST). **Gene.** v.401, n.1-2, p.38-45, 2007.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - INCA. **Incidência de câncer no Brasil: estimativas 2010.** Rio de Janeiro, 2009. Disponível em: http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/index.asp?link=conteudo_view.asp&ID=1. Acesso em: 15 jul. 2011.

INGVARSSON, S.; SUNDARESAN, S., et al. Chromosome localization and expression pattern of Lmyc and Bmyc in murine embryonal carcinoma cells. **Oncogene**. v.6, n. 3, p. 679-85, 1988.

ITALIANO, A. BUI, B. Aspects Moléculaires et stratégies thérapeutiques des tumeurs stromales gastro-intestinales. **Bull Cancer**. v.95, n.1, p.107 – 116, 2008.

JANEWAY, K.A.; et al. Pediatric KIT wild-type and platelet-derived growth factor receptor alpha-wild-type gastrointestinal stromal tumors share KIT activation but not mechanisms of genetic progression with adult gastrointestinal stromal tumors. **Cancer**. v.67, n.19, p.9048-9088, 2007.

JOENSUU, H. et al. Management of malignant gastrointestinal stromal tumours. **Lancet Oncol**. v.3, n. 11, p.655-664, 2002.

KOHL, N.E.; KANDA, N., et al. Transposition and amplification of oncogene-related sequences in human neuroblastomas. **Cell**, v. 2 pt 1, n.35, p. 359-67, 1983.

KOIFMAN, S.; KOIFMAN, R. Environment and cancer in Brazil: an overview from a public health perspective. **Mutat. Res**, v. 544, n. 2, p. 305-311, 2003.

KOWALSKI, L. P.; MAGRIN, J.; CARVALHO, A.L. Diagnóstico e estadiamento dos tumores. In: Kowalski, L.P. **Manual de Condutas Diagnósticas e Terapêuticas em Oncologia**. 3. ed. São Paulo: Âmbito Editores LTDA, 2006. p.31-35.

KOZMA, L.; et al. C-myc amplification and cluster analysis in human gastric carcinoma. **Anticancer Res**. v.21, p. 707-710, 2001.

KRAUSE, D.S et al. CD34: Structure, Biology, and Clinical Utility. **Blood**. v.87, n.1, p. 1-13, jan.1996.

LASOTA, J. et al. **Clinicopathologic profile of gastrointestinal stromal tumors (GISTs) with primary KIT exon 13 or exon 17 mutations. A multi-center study on**

54 cases, 2008 apud LASOTA, J.; MIETTINEN, M. Clinical significance of oncogenic KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumours. **Histopathology**. v.53, n.3 p.245–266, 2008.

LASOTA, J.; MIETTINEN, M. Clinical significance of oncogenic KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumours. **Histopathology**. v.53, n.3 p.245–266, 2008.

LASOTA, J.; STACHURA, J.; MIETTINEN, M. GISTs with PDGFRA exon 14 mutations represent subset of clinically favorable gastric tumors with epithelioid morphology. **Lab. Invest.** v. 86, n.1, p. 94-100, jan.2006.

LEAL, M.F. et al. MYC, TP53, and Chromosome 17 Copy-Number Alterations in Multiple Gastric Cancer Cell Lines and in Their Parental Primary Tumors. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. v. 2011, p. 1-8, 2011.

LIEGL, B.; HORNICK, J,L.; LAZAR, A.J. **Contemporary pathology of gastrointestinal stromal tumors**. Hemato Onco Clin North Am, 2009 apud CERSKI, Marcelle Reesink. **Tumores estromais gastrointestinais (GIST): Aspectos anatomopatológicos, imuno-histoquímicos, clínicos e moleculares: série de 85 casos**. Porto alegre, 2010. 77f. Tese (Doutorado em Medicina) – Faculdade de Medicina, UFRGS, PPG: Ciências em Gastroenterologia, 2010.

LIMA, E.M.; et al. Conventional cytogenetic characterization of a new cell line, ACP01, established from a primary human gastric tumor. **Braz J Med Biol Res**. v.37, p. 1831 - 1838, 2004.

LINHARES, E.; VALADÃO, M. Atualização em GIST. **Rev. Col. Bras. Cir.** v.33, n.1, p. 51-54, jan/fev.2006.

LONGLEY, B.J.; REGUERA, M.J.; MA, Y. Classes of c-KIT activating mutations: proposed mechanisms of action and implications in disease classification and therapy. **Leuk. Res**. v.25, n.7, p. 571–576, 2001.

LOUIS, S.F. et al. C-Myc induces chromosomal rearrangements through telomere and chromosome remodeling in the interphase nucleus. **Proc Natl Acad Sci.** v.10, n.2, p. 9613-9618, 2005.

LUX, M.L. et al. KIT extracellular and kinase domain mutations in gastrointestinal stromal tumors. **Am J Pathol.** v.156, n.3, p.791-795, mar.2000.

MARIS, J.M.; MATTHAY, K.K. Molecular biology of neuroblastoma. **J Clin Oncol,** v.17, p.7, n.2264-79, 1999.

MAZUR, M.T.; CLARK, H.B. **Gastric Stromal Tumor. Reappraisal of histogenesis.** Am J Surg Pathol, 1983 apud MONTAGNINI, A.L. et al. Tumor Estromal Gastro-Intestinal GIST (Gastrintestinal Stromal Tumor). In: Kowalski, L.P. **Manual de Condutas Diagnósticas e Terapêuticas em Oncologia.** 3. ed. São Paulo: Âmbito Editores LTDA, 2006. p.565-569.

MCMAHON, S.B et al. **The novel ATM-related protein TRRAP is an essential cofactor for the c-Myc and E2F oncoproteins.** Cell, v. 94, p.363-374, 1998 apud CALCAGNO, D.Q. et al. MYC and gastric adenocarcinoma carcinogenesis. **World J Gastroenterol.** v.14, n.39, p.5962-5968, out. 2008.

MELKOUMIAN, Z.K.; MARTIROSYAN A.R., et al. Myc protein is differentially sensitive to quinidine in tumor versus immortalized breast epithelial cell lines. **Int J Cancer,** v.102, n.1, p. 60-9, 2002.

MIETTINEN, M.; LASOTA, J.; SOBIN, L.H. Gastrointestinal Stromal Tumors of the Stomach in Children and Young Adults A Clinicopathologic, Immunohistochemical, and Molecular Genetic Study of 44 Cases With Long-Term Follow-Up and Review of the Literature. **Am J Surg Pathol.** v.29, p.1373–1381, 2005.

MONTAGNINI, A.L. et al. Tumor Estromal Gastro-Intestinal GIST (Gastrintestinal Stromal Tumor). In: Kowalski, L.P. **Manual de Condutas Diagnósticas e Terapêuticas em Oncologia.** 3. ed. São Paulo: Âmbito Editores LTDA, 2006. p.565-569.

MOSKALUK, C.A. et al. Mutations of c-kit JM domain are found in a minority of human gastrointestinal stromal tumors. **Oncogene**.v.18, n.10, p.1897-1902, 1999.

NAU, M.M.; BROOKS, B.J., et al. L-myc, a new myc-related gene amplified and expressed in human small cell lung cancer. **Nature**, v.6041, n.318, p. 69-73, 1985.

NILSSON, B. et al. Gastrointestinal stromal tumors in Iceland, 1990–2003: The Icelandic GIST study, a population-based incidence and pathologic risk stratification study. **Int. J. Cancer**. v.117, n.4, p.289-293, fev.2005.

ONODA, N.; et al. Overexpression of c-myc Messenger RNA in primary and metastatic lesions of carcinoma of the stomach. **J Am Coll Surg**. v.182, p. 55-59, 1996.

OSTER, S.K.; et al. The myc oncogene: Marvelous Y Complex. **Adv Cancer Res**. v.84, p. 81-154, 2002.

PERSSON H, LEDER P. **Nuclear localization and DNA binding properties of a protein expressed by human c-myc oncogene**. Science, 1984 apud CALCAGNO, D.Q. et al. MYC and gastric adenocarcinoma carcinogenesis. **World J Gastroenterol**. v.14, n.39, p.5962-5968, out. 2008.

PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proc Natl Acad Sci. U S A**. v. 83, p.2934-8, 1986.

PROCHOWNIK, E.V.; LI, Y. The ever expanding role for c-Myc in promoting genomic instability. **Cell Cycle**.v.6, p.1024-1029, 2007.

QIN, T.J.; ZHAO, X.H.; YUN, J.; ZHANG, L.X.; RUAN, Z.P.; PAN, B.R. Efficacy and safety of gemcitabine-oxaliplatin combined with huachansu in patients with advanced gallbladder carcinoma. **World J Gastroenterol**, v.33, n. 14, p. 5210-5216, sep.2008.

QUEK, R.; GEORGE, S. Gastrointestinal Stromal Tumor: a clinical Overview. **Hematol Oncol Clin N Am.** v.23, n.1, p. 69-78, fev.2009.

RAIOL, L.C.C.; et al. Interrelationship between MYC gene numerical aberrations and protein expression in individuals from northern Brazil with early gastric adenocarcinoma. **Cancer Genetics and Cytogenetics.** v.181, p.31-35, 2008.

RAY, D.; ROBERT-LEZENES, J. Coexistence of a c-myc mRNA initiated in intron 1 with the normal c-myc mRNA and similar regulation of both transcripts in mammalian cells. **Oncogene Res,** v.1, n. 5, p. 73-8, 1989.

REDDY, P.; BOCI, K.; CHARBONNEAU, C. The epidemiologic, health-related quality of life, and economic burden of gastrointestinal stromal tumours. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics,** v. 32, p.557–565, 2007.

ROCHA, A.P.; MAGALHÃES, P.K.R.; MAIA, A.L.; MACIEL, L.M.Z. Polimorfismos Genéticos: Implicações na Patogênese do Carcinoma Medular de Tireóide. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia,** p. 51-55, 2007.

RUBIN, B.P. et al. KIT Activation Is a Ubiquitous Feature of Gastrointestinal Stromal Tumors. **Cancer Research.** v.61, p.8118–8121, Nov. 2001.

RUBIN, J.L. et al. Epidemiology, survival, and costs of localized gastrointestinal stromal tumors. **International Journal of General Medicine.** v.4, p.121–130, 2011.

SAFDAR, A.; SHER, A. Role of c-kit/SCF in cause and treatment of gastrointestinal stromal tumors (GIST). **Gene.** v.401, n.1-2, p.38-45, 2007.

SEARS, R.C. The life cycle of C-myc: from synthesis to degradation. **Cell Cycle.** v.3, p.1133-1137, 2004.

SHEINESS, D.; BISHOP, J.M. DNA and RNA from uninfected vertebrate cells contain nucleotide sequences related to the putative transforming gene of avian myelocytomatosis virus. **J Virol,** v.2, n. 31, p. 514-21, 1979.

SINAIS. **O que é GIST?**. São Paulo: Novartis Oncologia, abr. 2011, 4 p.

SINGER, S. et al. Prognostic value of KIT mutation type, mitotic activity, and histologic subtype in gastrointestinal stromal tumors. **J Clin Oncol**. v.20, n.18, p.3898-3905, set. 2002.

SQUIRE, J. A.; WHITMORE, G. F. & PHILLIPS, R. A., 1998. Genetic basis of cancer. In: **The Basic Science of Oncology** (I. F. Tannock & R. P. Hill, ed.), pp. 48-78, 3 ed. New York: McGraw-Hill.

STEIGEN, S.E.; EIDE, T.J. Gastrointestinal stromal tumors (GISTs): a review. **The Authors Journal Compilation**. v.117, p. 73-86, jul.2008.

STEWART, T.A.; BELLVE A.R., et al. Transcription and promoter usage of the myc gene in normal somatic and spermatogenic cells. **Science**. v.4675, n. 226, p. 707-10, 1984.

STIEPCICH, M. M. A. Patologia Molecular. In: lopes, A.; Iyeyasu, H.; Castro, R. M. R. P. S. **Oncologia para a graduação**. 2. ed. São Paulo: Tecmedd, 2008. p.243-255.

STOUT, A.P. Bizarre Smooth muscle tumors of the stomach. **Cancer**. v.15, n.102, p.400-409.

SUGIYAMA, A.; KUME, A., et al. Isolation and characterization of s-myc, a member of the rat myc gene family. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.23, n. 86, p. 9144-8, 1989.

TAUB, R.; Kelly, K., et al. A novel alteration in the structure of an activated c-myc gene in a variant t(2;8) Burkitt lymphoma. **Cell**. v.2, n. 37, p. 511-20, 1984.

TRYGGVASON, G. et al. Gastrointestinal stromal tumors in Iceland, 1990–2003: The Icelandic GIST study, a population-based incidence and pathologic risk stratification study. **Int. J. Câncer**. v.117, n. 2, p.289-293, jan.2005.

TATSUTA, M. Expression of c-myc mRNA as an aid in histologic differentiation of adenoma from well differentiated adenocarcinoma in the stomach. **Cancer**. v.73, p.1795-1799, 1994.

THOMPSON, C.B.; CHALLONER, P.B., et al. Levels of c-myc oncogene mRNA are invariant throughout the cell cycle. **Nature**, v.6009, n. 314, p. 363-6, 1985.

TORNILLO, L. et al. Patterns of gene amplification in gastrointestinal stromal tumors (GIST). **Laboratory Investigation**. N. 85, p. 921–931, 2005.

VARA, J. A. F.; et al. PI3K/Akt signalling pathway and cancer. **Cancer Treatment Reviews**. v.30, n.2, p. 193-204, 2004.

VITA, M; HENRIKSSON, M. The Myc oncoprotein as a therapeutic target for human cancer. **Semin Cancer Biol**. v.16, p.318-330, 2006.

VOGELSTEIN, B.; KINZLER, K. W. **The Genetic Basis of Human Cancer**. New York: McGraw-Hill, 1998.

WARDELMANN, E. et al. c-kit mutations in gastrointestinal stromal tumors occur preferentially in the spindle rather than in the epithelioid cell variant. **Mod. Pathol**. v.15, n.2, p.125–136, fev.2002.

WITTE, O.N. **Steel locus defines new multipotent growth factor**, 1990 apud SAFDAR, Ali, SHER, A. Role of c-kit/SCF in cause and treatment of gastrointestinal stromal tumors (GIST). **Gene**. v.401, n.1-2, p.38-45, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Status Report on non communicable diseases**. Geneve, 2011, 176 p.

YANG G.F.; et al. Expression of nuclear factor-kappa B and target genes in gastric precancerous lesions and adenocarcinoma: association with *Helicobacter pylori* cagA (+) infection. **World J Gastroenterol**. v.10, p. 491-496, 2004.

YANG, H.; et al. Important role of indels in somatic mutations of human cancer genes. **BMC Medical Genetics**, v. 11, n. 128, p. 1471-2350, 2010.

YANG, J.; et al. Genetic Aberrations of Gastrointestinal Stromal Tumors. **Cancer**. v.113, p. 1532- 43, 2008.

ZHANG, Z. et al. Crystal structure of human stem cell factor: implication for stem cell factor receptor dimerization and activation. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v.97, p. 7732-7737, 2000.

APÊNDICES

APÊNDICE A

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Baseado na Resolução Nº 196 de 10/10/1996 do Conselho Nacional de Saúde)

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com os de outros pacientes, não sendo divulgada qualquer informação que possa levar a sua identificação.

Título:

A proposta em estudo consiste em investigar a amplificação de C - MYC no GIST de pacientes atendidos no HUIBB. Os resultados obtidos serão preenchidos em protocolos de pesquisa e, posteriormente, submetidos à análise estatística, havendo casuística adequada para tal.

Em qualquer momento do estudo o(a) paciente, seus responsáveis e familiares terão acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa, para esclarecimento de dúvidas.

O principal investigador é o Dr. Paulo Pimentel de Assumpção CRM-PA 4743, que pode ser encontrado no endereço: Al. Paulo Maranhão, 180 ou pelo telefone 81214274.

GARANTIAS

O (a) paciente tem a garantia de que seu nome não será divulgado no trabalho.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo.

Este trabalho será realizado com recursos próprios dos autores.

Também não haverá nenhum pagamento por sua participação.

O pesquisador utilizará os dados coletados somente para esta pesquisa.

DECLARAÇÃO

Declaro que compreendi as informações que li ou que me foram explicadas sobre o trabalho em questão.

Ficaram claros para mim, quais são os propósitos da pesquisa, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos.

Ficou claro também que minha participação não tem despesas.

Concordo voluntariamente em participar desse estudo podendo retirar meu consentimento a qualquer momento sem necessidade de justificar o motivo da desistência, antes ou durante o mesmo, sem penalidades, prejuízo ou perda de qualquer benefício que possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste serviço.

Belém, _____, de _____ de 20__.

Assinatura do paciente

Assinatura de testemunha

Declaro que assisti a explicação do autor da pesquisa à paciente, que compreendeu e retirou suas dúvidas, assim como eu, sobre o que será realizado na pesquisa.

Dr. Paulo Pimentel de Assumpção

Declaramos que obtivemos de forma apropriada e voluntária o consentimento livre e esclarecido deste(a) paciente ou representante legal para participação no presente estudo.

APÊNDICE B

QUESTIONÁRIO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO

UFPA – INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – FACULDADE DE MEDICINA

PESQUISA:

INVESTIGAÇÃO DA AMPLIFICAÇÃO DO GENE C-MYC NO GIST DE PACIENTES ATENDIDOS NO HUIBB, NO PERÍODO DE 1999 A 2009, EM BELÉM-PA

PROTOCOLO DE PESQUISA

Data da internação: ____/____/____

Prontuário Nº: _____

1. Sexo: () M () F

2. Idade: _____ anos

3. Cor/Raça: () Branco () Negro () Pardo () Amarelo () Indígena

4. Município de nascimento: _____ **Unidade Federada (UF):** _____

5. Município de sua residência atual: _____ **UF:** _____

8. Etilista: () Sim () Não

9. Fumante: () Sim () Não

10. AMF: História de GIST na família: () Não () Sim

Grau do parentesco: _____

11. Co-Morbidades:

() Diabetes () Hipertensão () hipercolesterolemia () hipertrigliceridemia () Obesidade – IMC: _____

() Cirrose hepática () Outras: _____

12. Sinais/ Sintomas Clínicos pré-operatórios:

() Saciedade Precoce () Náuseas () Vômitos () Febre () Massa Palpável () Desconforto Abdominal () Sangramento Tumoral () Anemia () Ulcerações de Mucosa () Obstruções Intestinais () Perfurações () Disfagia () Perda de peso () Distensão Abdominal ()

Outros: _____

13. Tempo de sintomatologia: _____ (em meses)

14. Exames Pré-operatórios realizados:

() EDA _____ () Rx Tórax
 _____ () Tomografia
 Computadorizada _____ () USG Abdômen e Pélvis
 _____ () Laparoscopia _____ ()
 Ressonância Magnética _____

15. Cirurgia Realizada: _____**16. Tempo Cirúrgico:** _____ (em horas)**17. Achados Intra-operatórios:**

() Sem achados () Com achados:

18. Sinais e Sintomas Clínicos Pós-operatórios:

() Ausência de sinais e sintomas () Icterícia () Náuseas ()
 Vômitos () Febre () Desconforto Abdominal () Mal-estar ()
 Diarréia () Dor Abdominal difusa ()
 Outros: _____

19. Tempo do Íleo paralítico: _____ (em horas)**20. Complicações pós-operatórias:**

() Sem complicações () Fístula Pancreática () Fístula de Anastomose
 Esôfago-Jejunal () Sepse () Sangramento () Pneumonia ()
 Íleo paralítico () Morte
 ()
)Outros: _____

21. Tempo de internação: _____ (dias)**22. Data de alta:** ____/____/____**23. Reoperação:** () Sim () Não

Motivo

24. Diagnóstico Histopatológico:() GIST – *Tipo histológico:*

25. Estadiamento tumoral:

**26. Grau de diferenciação
tumoral:**

27. Resultado imunofenotípico do c-Kit:

ANEXOS

ANEXO A



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP



TERMO DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto da Universidade Federal do Pará analisou o projeto de pesquisa intitulado “**Investigação de polimorfismos genéticos no Gist de pacientes internados no HUJBB, no período de 1999 a 2009, em Belém-Pa**”, protocolo nº4113/09, sob a responsabilidade dos pesquisadores Felipe Guilherme Hamoy Kataoka, orientação do *Prof.Dr.Paulo Pimentel de Assumpção*, obtendo **APROVAÇÃO** na reunião do dia 02.02.2010, por estar de acordo com a Resolução nº196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde / Ministério da Saúde do Brasil.

Situação: *Aprovado.*

Belém, 30 de março de 2010.

Dr. João Soares Felício
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa / HUJBB/UFPA

ANEXO B

ESTADIAMENTO TNM (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2010).

T categories for GIST

TX: The primary (main) tumor cannot be assessed.

T0: No signs of a primary tumor.

T1: The tumor is 2 cm or less in size (2 cm is about 4/5 or an inch).

T2: The tumor is larger than 2 cm but not larger than 5 cm (5 cm is about 2 inches).

T3: The tumor is larger than 5 cm but not larger than 10 cm (about 4 inches).

T4: The tumor is larger than 10 cm (4 inches) in size.

N categories for GIST

NX: Regional (nearby) lymph nodes cannot be assessed.

N0: The cancer has not spread to nearby lymph nodes.

N1: The cancer has spread to nearby lymph nodes.

M categories for GIST

M0: The cancer has not spread (metastasized) to distant organs or sites.

M1: The cancer has spread to distant organs or sites (like the liver or the lung).

Stage grouping for GIST that start in the stomach or the omentum*

*The omentum is an apron-like layer of fatty tissue that covers the abdomen

Stage IA: T1 or T2, N0, M0, low mitotic rate: The tumor is no larger than 5 cm across (T1 or T2). The cancer has not spread to nearby lymph nodes (N0) or distant sites (M0). The mitotic rate is low.

Stage IB: T3, N0, M0, low mitotic rate: The tumor is larger than 5 cm but not larger than 10 cm across (T3). The cancer has not spread to nearby lymph nodes (N0) or distant sites (M0). The mitotic rate is low.

Stage II: either: **T1 or T2, N0, M0, high mitotic rate:** The tumor is no larger than 5 cm across (T1 or T2). The cancer has not spread to nearby lymph nodes (N0) or distant sites (M0). The mitotic rate is high. OR **T4, N0, M0, low mitotic rate:** The tumor is larger than 10 cm (4 inches) across (T4). The cancer has not spread to nearby lymph nodes (N0) or distant sites (M0). The mitotic rate is low.

Stage IIIA: T3, N0, M0, high mitotic rate: The tumor is larger than 5 cm but not larger than 10 cm across (T3). The cancer has not spread to nearby lymph nodes (N0) or distant sites (M0). The mitotic rate is high.

Stage IIIB: T4, N0, M0, high mitotic rate: The tumor is larger than 10 cm (4 inches) across (T4). The cancer has not spread to nearby lymph nodes (N0) or distant sites (M0). The mitotic rate is high.

Stage IV: either

Any T, N1, M0, any mitotic rate: The tumor can be any size (any T) and the cancer has spread to nearby lymph nodes (N1). It has not spread to distant sites (M0). The tumor can have any mitotic rate. OR **Any T, any N, M1, any mitotic rate:** The tumor can be any size (any T) and it may or may not have spread to nearby lymph nodes (any N). The cancer has spread to distant sites, such as the liver or the lungs (M1). The tumor can have any mitotic rate.

Stage grouping for GIST of the small intestine, esophagus, colon, rectum, and peritoneum**

**The peritoneum is a layer of tissue that coats the contents of the abdomen.

Stage I: T1 or T2, N0, M0, low mitotic rate: The tumor is no larger than 5 cm across (T1 or T2). The cancer has not spread to nearby lymph nodes (N0) or distant sites (M0). The mitotic rate is low.

Stage II: T3, N0, M0, low mitotic rate: The tumor is larger than 5 cm but not larger than 10 cm across (T3). The cancer has not spread to nearby lymph nodes (N0) or distant sites (M0). The mitotic rate is low.

Stage IIIA: either

T1, N0, M0, high mitotic rate: The tumor is 2 cm or less in size (T1). The cancer has not spread to nearby lymph nodes (N0) or distant sites (M0). The mitotic rate is high. OR **T4, N0, M0, low mitotic rate:** The tumor is larger than 10 cm (4 inches) across (T4). The cancer has not spread to nearby lymph nodes (N0) or distant sites (M0). The mitotic rate is low.

Stage IIIB: T2 to T4, N0, M0, high mitotic rate: The tumor is larger than 2cm across (T2 to T4). The cancer has not spread to nearby lymph nodes (N0) or distant sites (M0). The mitotic rate is high.

Stage IV: either:

Any T, N1, M0, any mitotic rate: The tumor can be any size (any T) and the cancer has spread to nearby lymph nodes (N1). It has not spread to distant sites (M0). The tumor can have any mitotic rate. OR **Any T, any N, M1, any mitotic rate:** Any T, any N, M1, any mitotic rate: The tumor can be any size (any T) and it may or may not have spread to nearby lymph nodes (any N). The cancer has spread to distant sites, such as the liver or the lungs (M1). The tumor can have any mitotic rate.

