

Indications de la ponction-biopsie à l'aiguille fine guidée sous écho-endoscopie (EUS FNA) dans les tumeurs sous-épithéliales

Angels GINÈS, Glòria FERNÀNDEZ-ESPARRACH, Maria PELLISÉ, M. SOLÉ*

Endoscopy Unit, Department of Gastroenterology, Institut de Malalties Digestives i Metabòliques

**Department of Pathology, Centre de Diagnòstic Biomèdic. Hospital Clínic. IDIBAPS. University of Barcelona (Spain)*

Indications of endoscopic ultrasonography-guided fine needle aspiration (EUS FNA) in subepithelial tumors

RÉSUMÉ

Les tumeurs sous-épithéliales du tractus gastro-intestinal sont rares. Elles constituent cependant, un réel défi en matière de prise en charge, notamment chez les patients asymptomatiques chez qui la lésion est découverte de façon fortuite lors d'une fibroscopie haute effectuée pour une toute autre raison ou pour un symptôme sans lien direct avec la lésion [1].

Lorsque la masse a été identifiée, le premier problème consiste à réaliser un diagnostic différentiel avec une compression extraluminaire qui peut être normale ou de nature pathologique dans la mesure où l'endoscopie haute ne permet pas à elle seule de préciser la nature de la structure sous-jacente. La seconde étape consiste à établir les caractéristiques morphologiques de la tumeur en essayant d'évaluer sa nature (en effet, la muqueuse étant indemne, les biopsies endoscopiques sont généralement peu contributives) et à exclure une lésion kystique qui demande généralement une approche conservatrice. Enfin, une décision quant à la prise en charge (chirurgie ou surveillance) doit être prise. Nous allons essayer de répondre à ces questions et surtout discuter de l'intérêt de disposer d'un échantillon de la tumeur en terme d'impact sur la prise de décision et le pronostic. Quoiqu'il en soit, l'indication de l'EUS FNA doit être considérée dans chaque cas, en fonction de l'état clinique du patient, des caractéristiques morphologiques de la tumeur et de l'impact des résultats sur la prise en charge thérapeutique.

Comme la majorité de ces tumeurs sous épithéliales du tractus GI (excepté au niveau de l'œsophage, de la *muscularis mucosae* du colon et du rectum, ainsi que d'autres tumeurs plus rares) sont des tumeurs stromales gastro-intestinales (GISTs), nous aborderons ici uniquement ces tumeurs.

SUMMARY

Subepithelial tumors of the gastrointestinal tract are uncommon. However, they often represent a managing challenge, mainly in asymptomatic patients in whom the lesion is found incidentally while the upper endoscopy is performed for any other reason or symptom not related to the tumor. This situation occurs in about 0.5 % of routine endoscopies [1].

The first problem once identified the bulge is the differential diagnosis with an extraluminal compression due to normal or pathological structures since its underlying nature cannot be elucidated by upper endoscopy alone. The second goal is to assess the morphological characteristics of the tumor attempting to ascertain its nature (since endoscopic biopsies are usually inconclusive due to the indemnity of the mucosa) and to exclude cystic lesions that usually require a conservative approach. Finally, a decision on management (surgery or surveillance) has to be taken.

This review is aimed at answering these questions and, mainly, to discuss the usefulness of obtaining a sample of the tumor in terms of impact on decision making and prognosis. However, the indication of EUS FNA in subepithelial tumors has probably to be taken in every single patient depending on the clinical situation, morphological characteristics of the tumor and impact of results on management. Since the majority of subepithelial tumors of the GI tract (except those in the esophagus and muscularis mucosae of the colon and rectum and other more uncommon GISTs, data of this review will mainly refer to them.

TUMEURS STROMALES GASTROINTESTINALES (GIST)

Considérations histopathologiques

Les GISTs ont fait l'objet d'un vif intérêt mais également d'une large controverse dans la littérature médicale. Traditionnellement, la plupart des tumeurs

stromales étaient classées comme des tumeurs mésenchymateuses développées aux dépens des cellules musculaires lisses de la paroi GI et presque toujours diagnostiquées comme léiomyomes, léiomyosarcomes ou léiomyoblastomes. Très récemment, les techniques immuno-histochimiques ont permis une meilleure classification de ces tumeurs. De nos jours, les GISTs sont définies comme une prolifération de

Tirés à part : D^r Angels GINÈS, Endoscopy Unit, Department of Gastroenterology, Institut de Malalties Digestives i Metabòliques, Hospital Clínic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Catalonia (Spain).

Mots-clés : biopsie aspiration à l'aiguille fine, cytologie, écho-endoscopie, GIST, tumeurs sous-épithéliales.

Key-words : cytology, endoscopic ultrasonography (EUS), fine needle aspiration (FNA), GIST, subepithelial tumours.

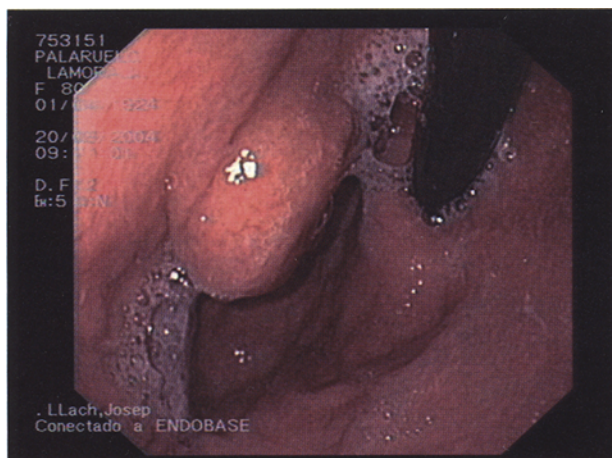


Figure 1

Masse de la paroi gastrique sans atteinte de la muqueuse, sous fibroscopie.
Endoscopic image of a bulge in the gastric wall without mucosal abnormalities.

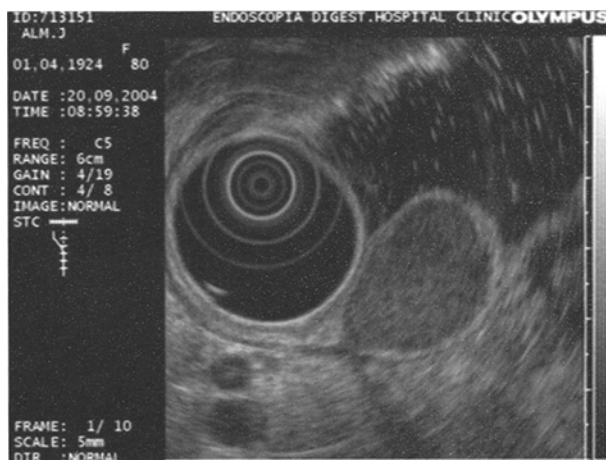


Figure 2

Image de la même lésion vue avec l'échoendoscope radial : tumeur ronde, homogène, à contours bien délimités, développée dans la sous-muqueuse et correspondant à une GIST.
Radial EUS image of the same lesion showing a round, well defined and homogeneous tumor developed from the submucosa, corresponding to a GIST.



Figure 3

Masse de la paroi gastrique sans atteinte de la muqueuse, sous fibroscopie, correspondant à une tumeur sous-épithéliale illustrée par les figures 4 et 5.
Endoscopic image of a bulge in the gastric wall without mucosal abnormalities, corresponding to the subepithelial tumor seen in figures 4 and 5.



Figure 4

Image obtenue avec un écho-endoscope radial : GIST de 39 x 33 mm, contenant un foyer hypoéchogène correspondant à la nécrose.
Radial EUS image of a GIST in the gastric wall, measuring 39 x 33 mm. An hypoechoic area consistent with necrosis is easily seen.

cellules mésenchymateuses fusiformes, épithélioïdes ou occasionnellement pléomorphes. Ces tumeurs du tractus digestif expriment la protéine *c-Kit* (CD117), un récepteur cellulaire transmembranaire ayant une activité tyrosine kinase [2-4] et le CD 34, dans environ 90 % et plus de 70 % des cas respectivement. Leur origine proviendrait des cellules interstitielles de Cajal intervenant dans la régulation de la motricité digestive. Les tumeurs des plexus nerveux autonomes (GANT), précédemment définies comme une entité séparée, sont maintenant considérées comme des variantes ultrastructurales des GISTs [5]. D'un point de vue histologique, elles sont similaires aux GISTs, elles sont *c-Kit*-positives, présentant des mutations *c-kit* spécifiques aux GISTs. Les tumeurs mésenchyma-

teuses autres que les GISTs ont des caractéristiques immunohistologiques différentes. Les tumeurs exprimant l'actine musculaire sont d'origine musculaire lisse alors que celles exprimant la protéine S-100 ont une origine nerveuse. Certaines tumeurs peuvent également être indifférenciées [6].

Les critères histopathologiques de malignité des GISTs sont différents de ceux des tumeurs épithéliales et il n'est pas possible d'utiliser un seul facteur pronostique pour se prononcer sur l'évolution de ce type de tumeur. Par conséquent, le diagnostic de malignité doit s'établir à partir d'un faisceau de critères, tels qu'un index mitotique supérieur à 5 mitoses par 50 grands champs, un pléomorphisme



Figure 5

Image d'EE sectorielle avec l'aiguille à ponction (22G) au sein de la tumeur.

Sectorial image of the EUS FNA of the same tumor with the 22G needle inside.

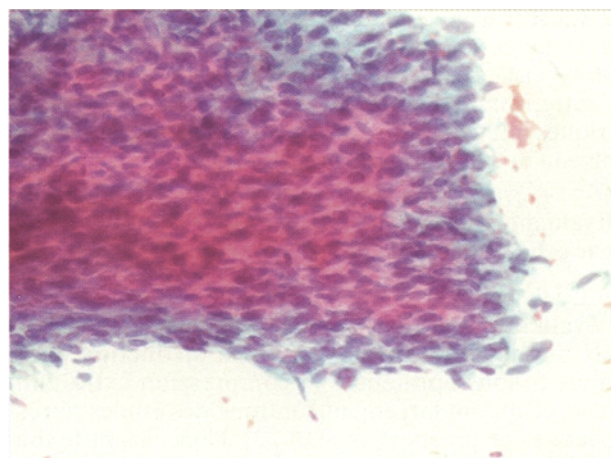


Figure 6

Étalement d'une ponction à l'aiguille fine montrant un nid de cellules fusiformes, cohésives correspondant à une GIST.

FNA smear showing a cluster of closely packed spindle cells, corresponding to a GIST.

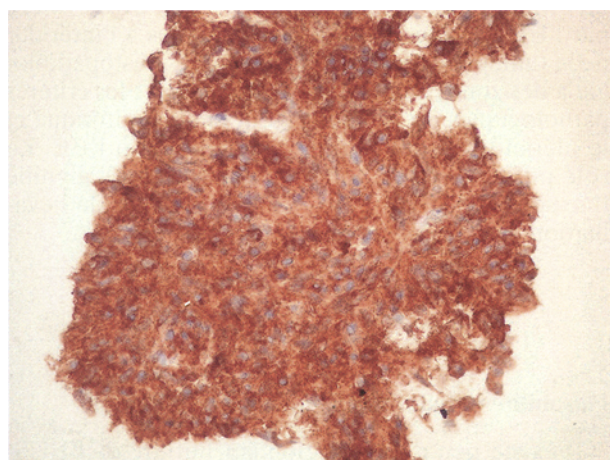


Figure 7

Cytobloc montrant un marquage cytoplasmique des cellules tumorales avec l'anticorps c-Kit.

Immunohistochemistry for c-kit performed on a cell block from EUS FNA, showing strong cytoplasmic reaction in a GIST.

nucléaire, une taille supérieure à 5 cm, un envahissement muqueux, une ulcération ou une nécrose tumorale [7]. La taille de la tumeur et l'index mitotique sont les paramètres les plus fiables pour prédire la malignité aussi bien que la survie [8]. Cependant, il faut toujours garder à l'esprit que des métastases peuvent survenir dans un faible pourcentage de GIST « théoriquement » bénignes après un suivi à long terme [9-11].

Epidémiologie des GISTs

Les GISTs sont les tumeurs les plus fréquentes du tractus GI. L'incidence des GISTs malignes serait de 20 à 30 % de tous les sarcomes de tissus mous. Cepen-

nant, leur prévalence doit être beaucoup plus élevée en raison de leur évolution clinique lente et asymptomatique [2]. Elles siègent principalement au niveau de l'estomac (60 à 70 %), suivi de l'intestin grêle (25 à 35 %), le colon, le rectum (5 %) et l'œsophage (< 2 %) [12]. Elles se développent soit dans la sous-muqueuse, la *muscularis propria* ou la sous-séreuse, bien qu'elles puissent avoir une origine péritonéale, mésentérique et rétropéritonéale. Dans certains cas, elles peuvent se rencontrer dans le cadre d'un syndrome de Carney ou d'une neurofibromatose de type I [13, 14].

Il est important d'identifier les GISTs car nous disposons d'un traitement par inhibiteur de la tyrosine kinase (Imatinib), dont les résultats cliniques sont très prometteurs [15].

Caractéristiques cliniques

La plupart des GISTs sont probablement asymptomatiques durant une longue période de leur histoire naturelle. Environ 10 à 30 % d'entre elles sont découvertes fortuitement lors d'investigations radiologiques ou endoscopiques réalisées pour d'autres motifs. Les symptômes dépendent de la taille et du siège de la tumeur. Les plus fréquents sont : hémorragie (20-50 %), douleur abdominale (40-50 %) ou masse palpable (25-40 %). Lorsqu'elles se développent au niveau de l'intestin grêle, une obstruction intestinale peut se produire [16].

On estime que jusqu'à 30 % des GISTs sont de nature maligne [2]. Les métastases sont retrouvées le plus fréquemment au niveau du foie, du péritoine, des poumons ou des os, avec une incidence respective de 50 %, 21 %, 10 % et < 10 % [17]. Les métastases ganglionnaires sont rares. Une récurrence locale peut survenir chez 35 % à 90 % des patients en fonction du stade de la tumeur (locale ou métastatique) [18].

La chirurgie constitue le traitement de choix. Le taux de résection des tumeurs primaires est proche de 80 % et le taux de survie à 5 ans varie d'une série à l'autre, compris entre 35 % et 65 %. Les GISTs gastriques ont un meilleur pronostic que celles situées au niveau de l'intestin grêle [18].

Evaluation morphologique des GISTs par écho-endoscopie (EE)

L'EE est la meilleure technique d'imagerie pour l'évaluation des lésions sous-muqueuses du tractus GI de même que pour établir la distinction entre tumeur sous-épithéliale et compression extraluminale, ce qu'ont largement confirmé des études rétrospectives et prospectives [19-23]. Concernant le diagnostic des tumeurs sous-épithéliales, Rösch et al. ont rapporté dans une étude prospective multicentrique, une sensibilité, une spécificité, une valeur prédictive positive (VPP) et une valeur prédictive négative (VPN) de l'EE de respectivement 92 %, 100 %, 100 % et 100 %. Ces valeurs sont à comparer à des valeurs respectives de 87 %, 29 %, 84 % et 93 % pour la fibroscopie haute [23].

L'EE permet également l'évaluation des caractéristiques morphologiques de la lésion (kystique ou solide, marges, taille, échogénicité) ce qui permet une première approche de la nature de la lésion.

La fiabilité de l'EE pour déterminer la couche d'origine ou quelle couche est envahie par cette lésion surélevée en fait un outil de diagnostic différentiel de premier ordre. Les GISTs se développent typiquement à partir de la *muscularis propria* (la 4^e couche sur l'image échographique) mais elles peuvent aussi naître de la *muscularis mucosae* (la seconde couche hypoéchogène ou muqueuse profonde en EE) ou de la sous-muqueuse (la 3^e couche hyperéchogène) ; elles sont généralement moins hypoéchogènes que les léiomyomes typiques de l'œsophage [24-26].

Dans une récente étude, Hunt *et al.* ont essayé de faire une distinction entre GISTs et autres tumeurs mésoenchymateuses de la paroi GI au moyen de l'EE [27]. Ces auteurs ont démontré que les GISTs ont davantage tendance à être ulcérées, kystiques et d'une taille > 4 cm que les tumeurs *c-Kit* négatives. Une autre observation importante de cette étude fait ressortir que la plupart des tumeurs *c-Kit* négatives étaient situées au niveau de l'œsophage (8 sur 12). Cette découverte corrobore les observations précédentes et pourrait avoir des implications pratiques dans la décision thérapeutique.

L'influence de l'EE pour le devenir des patients porteurs de GISTs a également été étudiée. Chak *et al.* [28] ont réalisé une étude multicentrique visant à différencier par EE les tumeurs bénignes des tumeurs malignes. Après avoir revu à l'aveugle les 35 documents vidéo des 35 tumeurs stromales réséquées et en les comparant avec le compte rendu histopathologique, ils ont pu montrer qu'une taille de tumeur > 4 cm, des marges latérales et profondes irrégulières, des foyers échogènes et kystiques étaient des

paramètres indépendamment associés à la malignité. La fiabilité pour le diagnostic de malignité quand au moins 2 de ces paramètres étaient présents atteignait 80 à 100 %, comparé à 0-11 % en l'absence de 3 de ces critères. Dans une étude prospective multicentrique menée par Rösch *et al.* [23] chez 27 patients avec tumeurs intrapariétales vérifiées sur une période de 2 ans, la sensibilité, la spécificité la VPP et la VPN de l'EE pour le diagnostic de malignité en utilisant des critères similaires étaient respectivement de 86 %, 80 %, 100 % et 100 %. Cependant, chaque caractéristique échographique à elle seule montrait une différence significative entre tumeurs bénignes et tumeurs malignes. Des résultats similaires ont été obtenus par Palazzo *et al.* [29] qui ont comparé les caractéristiques échographiques et pathologiques chez 56 patients. Ils ont démontré que la combinaison de deux caractéristiques échographiques sur trois (marges extraluminales irrégulières, espaces kystiques et ganglions lymphatiques d'échostructure maligne) avait une VPP de 100 % pour les GISTs malignes ou « borderline ». Il est intéressant de remarquer que 3 des 6 critères histologiques retenus pour la malignité dans les GISTs (taille, envahissement muqueux et ulcération) peuvent être évalués par l'EE. De plus, les espaces kystiques à l'intérieur de la tumeur correspondent souvent en histopathologie à des zones de nécrose. Ainsi, d'après les critères pathologiques de malignité, seul l'index mitotique et le pléomorphisme cellulaire échappent à l'EE. Le rôle potentiel de la ponction-aspiration à l'aiguille fine sous EE (EUS-FNA) en complément de l'évaluation des GISTs est discuté ci-après.

EUS FNA DANS LES GISTs

Faisabilité et fiabilité diagnostique des GISTs

Il existe peu d'information sur l'utilité de l'EUS-FNA dans la prise en charge des GISTs. Reposant uniquement sur la cytologie, l'EUS-FNA a été généralement considérée comme moins contributive dans les tumeurs sous-épithéliales que dans d'autres pathologies telles que les métastases ganglionnaires ou les cancers pancréatiques [30, 31]. Cependant, comme nous l'avons indiqué plus haut, le diagnostic des GISTs doit s'appuyer sur l'analyse immunohisto-chimique. Il a été largement démontré que le phénotype immunohisto-chimique des tumeurs sous-muqueuses peut être établi à partir des échantillons rapportés par EUS-FNA [32-34]. Dans ce sens, Ando *et al.* ont montré une corrélation entre l'expression immunohisto-chimique de *c-Kit* sur les échantillons obtenus par EUS-FNA et ceux obtenus au cours de la chirurgie [32].

En ce qui concerne le diagnostic cytologique lui-même, contrairement à d'autres tumeurs mésoenchymateuses où il peut être difficile d'obtenir un échantillon représentatif par l'EUS-FNA, dans la plupart des séries, cette technique d'aspiration fournit suffisamment de matériel cellulaire pour obtenir un diagnostic correct [33, 35].

Plusieurs passages de l'aiguille dans la lésion peuvent être nécessaires pour effectuer un large échantillonnage de la tumeur en évitant les zones nécrosées ou sclérosées. D'autre part, la contamination du matériel de ponction par des cellules de la paroi digestive peut compliquer le diagnostic cytologique des GISTs spécialement en cas d'insuffisance de matériel aspiré. Des échantillons non représentatifs ont été prélevés dans 11 des 29 tumeurs étudiées par Hunt *et al.* [27]. Les auteurs estiment que ce problème pourrait être résolu en utilisant une aiguille à canal plus large mais ceci n'a pas été démontré.

Bien que les critères cytologiques des GISTs soient bien caractéristiques sur les échantillons obtenus par FNA, le diagnostic spécifique doit être établi par immunohistochimie. Elle peut être pratiquée en toute sécurité sur des étalements cellulaires ou sur des cyto blocs. Ces derniers sont particulièrement utiles quand plusieurs marqueurs tels que CD34, *c-Kit*, Ki-67 ou d'autres doivent être utilisés.

Les données disponibles sur les performances de l'EUS-FNA dans les tumeurs sous-muqueuses ont été obtenues avec des aiguilles de 22G [27, 32-34]. L'utilisation d'aiguilles à canal plus large (shotgun et Tru-cut) a été suggérée pour améliorer les résultats mais jusqu'à présent aucune étude comparative ne permet de tirer des conclusions définitives. L'utilité de l'aiguille Tru-cut n'a pas été spécifiquement étudiée dans cette indication et aucune étude n'a pu démontrer son efficacité à poser le diagnostic ni sa supériorité par rapport aux aiguilles normales. Cependant, comme cette aiguille rapporte une carotte d'échantillon tissulaire, les critères histopathologiques sont susceptibles d'être mieux identifiés que sur un échantillon cytologique. Certains auteurs suggèrent également de ponctionner différents secteurs de la tumeur en changeant la position de l'aiguille grâce au système élévateur pour améliorer la performance diagnostique de l'EUS-FNA et permettre le diagnostic de tumeurs au sein desquelles existent différents constituants en terme de différenciation.

Diagnostic des GISTs malignes par EUS-FNA

Bien que théoriquement, les critères microscopiques de malignité (index mitotique, pléomorphisme nucléaire et nécrose tumorale) puissent être obtenus par la cytologie, les échantillons de FNA y compris d'EUS-FNA ne permettent bien souvent pas d'accéder à cette information [34]. Ando *et al.* [32] ont rapporté 10 % de faux négatifs de malignité avec l'EUS-FNA dans une série de 23 GISTs. Les auteurs décrivent des échantillons petits et sans mitoses. Pour ces patients, ils préconisent un suivi clinique très strict sans tenir compte de la cytologie bénigne. En général, les mitoses sont retrouvées en plus petit nombre sur les étalements cytologiques que sur les sections histologiques et les cyto blocs sont en général trop petits pour permettre un comptage mitotique fiable.

L'immunomarquage avec le Ki-67 (un index de prolifération) peut améliorer la sensibilité [32, 36].

Ando *et al.* [32] ont rapporté une sensibilité et une spécificité diagnostique de 100 % pour le diagnostic des GISTs malignes en associant au diagnostic morphologique cytologique, l'immuno-détection avec le Ki-67. Enfin, l'analyse génétique des mutations *c-Kit*, mutations prédictives d'une réponse de la tumeur à une thérapie ciblée, peut également être déterminée par EUS-FNA [34, 37].

Complications

L'incidence des complications rapportées par EUS-FNA est faible (1,2 %), avec de très rares décès [38]. Les lésions kystiques sont les plus susceptibles d'induire des complications après FNA [30]. Jusqu'à présent, seulement 2 cas de complications après EUS-FNA d'une tumeur stromale ont été rapportés: une pneumonie d'inhalation [38] ; une hémorragie après biopsie à l'aiguille Trucut qui a été traitée par injection d'épinéphrine [39]. Cependant, l'incidence réelle des complications est mal connue et devrait faire l'objet d'études prospectives sur un plus grand nombre de patients.

L'EUS FNA est-elle nécessaire d'un point de vue clinique dans les tumeurs sous-épithéliales ?

Le recours à l'EUS-FNA dans les tumeurs sous-épithéliales est très controversé. Aucune étude n'ayant étudié l'impact de l'EUS-FNA sur la prise de décision chez ces patients, il semble logique de la réaliser quand la cytologie peut potentiellement changer l'approche thérapeutique et le pronostic. En premier lieu, le contexte clinique doit être évalué pour chaque patient. C'est ainsi qu'une tumeur sous-épithéliale avec un antécédent de néoplasme serait davantage susceptible d'être une métastase que la même lésion chez un patient sans antécédent. Par conséquent, on peut recommander de pratiquer l'EUS-FNA pour des tumeurs sous-épithéliales survenant chez les patients néoplasiques. D'autre part, une résection chirurgicale peut être réalisée d'emblée chez les patients symptomatiques ou chez ceux pour qui les caractéristiques EE de la tumeur suggèrent la malignité. Cependant, les patients asymptomatiques comme ceux porteurs de tumeurs sans signes EE de malignité, restent un défi pour le clinicien. Cette catégorie de patients peut bénéficier de l'EUS-FNA. La cytologie permet d'exclure un diagnostic inattendu et, en cas de GIST, elle permet parfois d'évaluer le nombre de mitoses. De plus, les échantillons d'EUS-FNA ont fait la preuve de leur haute performance dans la confirmation du diagnostic de GIST en s'aidant de l'analyse immunohistochimique et également dans l'évaluation de la malignité par l'étude avec le Ki-67. Ce type d'échantillon permet également des analyses génétiques évaluant les mutations de *c-Kit*.

Remerciements : Ce travail a été financé en partie grâce à une bourse de la Red Nacional de Investigación en Hepatología y Gastroenterología (C 03/02) et de la la Red Temática de Investigación Cooperativa de Centros del Cáncer (C 03/10).

RÉFÉRENCES

- Hedenbro JL, Ekelund M, Wetterberg P. Endoscopic diagnosis of submucosal gastric lesions. The results after routine endoscopy. *Surg Endosc* 1991; 5: 20-3.
- Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: recent advances in understanding of their biology. *Hum Pathol* 1999; 30: 1213-20.
- Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Hum Pathol* 2002; 33: 459-65.
- Miettinen M, Majidi J, Lasota J. Pathology and diagnostic criteria of gastrointestinal stromal tumors (GISTs): a review. *Eur J Canc* 2002; 38: S39-51.
- Lauwers GY, Erlandson RA, Casper ES, Brennan MF, Woodruff JM. Gastrointestinal autonomic nerve tumors. A clinicopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of 12 cases. *Am J Surg Pathol* 1993; 17: 887-97.
- Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchow Arch* 2001; 438: 1-12.
- Franquemont DW. Differentiation and risk assessment of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 41-7.
- Miettinen M, El-Rifai W, Sobin LH, Lasota J. Evaluation of malignancy and prognosis of gastrointestinal stromal tumors: a review. *Human Pathol* 2002; 33: 478-83.
- Evans HL. Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract. A study of 56 cases followed for a minimum of 10 years. *Cancer* 1985; 56: 2242-50.
- Ranchod M, Kempson RL. Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract and retroperitoneum. A pathologic analysis of 100 cases. *Cancer* 1977; 39: 255-62.
- Trupiano JK, Stewart RE, Misick C, Appelman HD, Goldblum JR. Gastric stromal tumors: A clinicopathologic study of 77 cases with correlation of features with nonaggressive and aggressive clinical behaviours. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 705-14.
- Dougherty MJ, Compton C, Talbert M, Wood WC. Sarcomas of the gastrointestinal tract. Separation into favorable and unfavorable prognostic groups by mitotic count. *Ann Surg* 1991; 214: 569-574.
- Carney JA. Gastric stromal sarcoma, pulmonary condroma, and extra-adrenal paraganglioma (Carney triad): Natural history, adrenocortical component, and possible familial occurrence. *Mayo Clin Proc* 1999; 74: 543-52.
- Schaldenbrand JD, Appelman HD. Solitary solid stromal gastrointestinal tumors in von Recklinghausen's disease with minimal smooth muscle differentiation. *Hum Pathol* 1984; 15: 229-32.
- Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M, Andersson LC, Tervahartiala P, Tuveson D, et al. Effect of tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a gastrointestinal stromal tumor. *N Engl J Med* 2001; 344: 1052-6.
- Shiu MH, Farr GH, Papachristou DN, Hajdu SI. Myosarcomas of the stomach: natural history, prognostic factors and management. *Cancer* 1982; 49: 177-87.
- RE Davila DO, Faigel GI. GI stromal tumors. *Gastrointest Endosc* 2003; 58: 80-8.
- Roberts PJ, Eisenberg B. Clinical presentation of gastrointestinal stromal tumors and treatment of operable disease. *Eur J Canc* 2002; 38: S37-8.
- Rösch T. Endoscopic ultrasonography: state of the art 1995, part 1. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 1995; 5: 475-691.
- Caletti G, Devière J, Fockens P, Lee WR, Mortensen B, Odegaard S, et al. Guidelines of the European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE): endoscopic ultrasonography, part 1: technique and upper gastrointestinal tract. *Endoscopy* 1996; 28: 474-9.
- Van Dam J, Brady PG, Freeman M, Gress F, Gross GW, Hasall E, et al. Guidelines for training in electronic ultrasound: guidelines for clinical application. From the ASGE. American Society for Gastrointestinal Endoscopy. *Gastrointest Endosc* 1999; 49: 829-33.
- Nesje LB, Laerum OD, Svanes K, Odegaard S. Subepithelial masses of the gastrointestinal tract evaluated by endoscopic ultrasonography. *Eur J Ultrasound* 2002; 15: 45-54.
- Rösch T, Kapfer B, Will U, Baronius W, Strobel M, Lorenz R, et al for the German EUS Club. Accuracy of endoscopic ultrasonography in upper gastrointestinal submucosal lesions: a prospective multicenter study. *Scand J Gastroenterol* 2002; 7: 856-62.
- Caletti G, Zani L, Bolondi L, Brocchi E, Rollo V, Barbara L. Endoscopic ultrasonography in the diagnosis of gastric submucosal tumor. *Gastrointest Endosc* 1989; 35: 413-8.
- Boyce GA, Sivak MV Jr, Rösch T, Classen M, Fleischer DE, Boyce HW, et al. Evaluation of submucosal upper gastrointestinal tract lesions by endoscopic ultrasound. *Gastrointest Endosc* 1991; 37: 449-54.
- Tio TL, Tytgat GN, den Hartog Jager FC. Endoscopic ultrasonography for the evaluation of smooth muscle tumors in the upper gastrointestinal tract: an experience with 42 cases. *Gastrointest Endosc* 1990; 36: 342-50.
- Hunt GC, Rader AE, Faigel DO. A comparison of EUS features between CD-117 positive GI stromal tumors and CD-117 negative GI spindle cell tumors. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 469-74.
- Chak A, Canto MI, Rösch T, Dittler HJ, Hawes RH, Tio TL, et al. Endosonographic differentiation of benign and malignant stromal cell tumors. *Gastrointest Endosc* 1997; 45: 468-73.
- Palazzo L, Landi B, Cellier C, Cuillerier E, Roseau G, Barbier JP. Endosonographic features predictive of benign and malignant gastrointestinal stromal cell tumors. *Gut* 2000; 46: 88-92.
- Wiersema MJ, Vilamnn P, Giovannini M, Chang KJ, Wiersema LM. Endosonography-guided fine-needle aspiration biopsy: diagnostic accuracy and complication assessment. *Gastroenterology* 1997; 112: 1087-95.
- Williams DR, Sahai AV, Aabakken L, Penman ID, van Verse A, Webb J, et al. Endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration biopsy: a large single center experience. *Gut* 1999; 44: 720-6.
- Ando N, Goto H, Niwa Y, Hirooka Y, Ohmiya N, Nagasaka T. The diagnosis of GI stromal tumors with EUS-guided fine needle aspiration with immunohistochemical analysis. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 37-43.
- Gu M, Ghafari S, Nguyen PT, Lin F. Cytologic diagnosis of gastrointestinal stromal tumors of the stomach by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy. Cytomorphologic and immunohistochemical study of 12 cases. *Diagn Cytopathol* 2001; 25: 343-50.
- Rader AE, Avery A, Wait CL, McGreevey L, Faigel D, Heinrich MC. Fine-needle aspiration biopsy diagnosis of gastrointestinal stromal tumors using morphology, immunocytochemistry, and mutational analysis of c-kit. *Cancer Cytopathol* 2001; 93: 269-75.
- Li SQ, O'Leary TJ, Buchner SB, Przygodzki RM, Sobin LH, Erozan YS, et al. Fine needle aspiration of gastrointestinal stromal tumors. *Acta Cytol* 2001; 45: 9-17.
- Okubo K, Yamao K, Nakamura T, Tajika M, Sawaki A, Hara K, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy for the diagnosis of gastrointestinal stromal tumors in the stomach. *J Gastroenterol* 2004; 39: 747-53.
- Li SQ, O'Leary TJ, Sobin LH, Erozan YS, Rosenthal DL, Przygodzki RM. Analysis of KIT mutation and protein expression in fine needle aspirates of gastrointestinal stromal/smooth muscle tumors. *Acta cytol* 2000; 44: 981-6.
- O'Toole D, Palazzo L, Arotcarena R, Dancour A, Aubert A, Hammel P, et al. Assessment of complications of EUS-guided fine-needle aspiration. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 470-4.
- Varadarajulu S, Fraig M, Schmulowitz N, Roberts S, Wildi S, Hawes RH, et al. Comparison of EUS-guided 19-gauge trucut needle biopsy with EUS-guided fine-needle aspiration. *Endoscopy* 2004; 36: 397-401.

GASTROINTESTINAL STROMAL CELL TUMORS (GISTS)

Histopathological concepts

GIST have been the subject of much attention and controversy in medical literature.

Traditionally, most stromal tumors were classified as mesenchymal neoplasms originating from the smooth cell of the wall of the GI tract, almost always diagnosed as leiomyomas, leiomyosarcomas or leiomyoblastomas. Quite recently, immuno-histochemical techniques have allowed for a much more appropriate classification of these tumors. Nowadays, GIST are defined as cellular spindle cell, epithelioid or occasionally pleomorphic mesenchymal tumors of the GI tract that express Kit protein (CD117), a cell membrane receptor with tyrosine kinase activity [2-4] and CD 34 in about 90 % and >70 % of cases, respectively. They are thought to originate from the interstitial cells of Cajal, the pacemaker of gut motility. Gastrointestinal autonomic nerve tumors (GANTs), previously defined as a separate entity, are now understood to be ultrastructural variants of GIST [5]. They are histologically similar to GIST, are Kit-positive and have GIST-specific c-kit mutations. Mesenchymal tumors other than GISTs have different immunohistochemical characteristics. Those that react to muscle actin are differentiated towards smooth muscle cells and those with a positive reaction for S-100 towards neural elements. Undifferentiated tumors may also exist [6].

Histopathological criteria for malignancy are different for GISTs than for epithelial tumors, and no single prognostic factor can be used alone to predict tumor behavior. Therefore, the diagnosis of malignancy has to be done if the tumor meets a set of criteria, such as a mitotic count of greater than 5 mitoses per 50 high-power fields, nuclear pleomorphism, tumor size greater than 5 cm, mucosal invasion, ulceration and tumor necrosis [7]. Tumor size and mitotic activity are the most useful parameters to predict malignancy as well as survival [8]. However, it has to be kept in mind that metastases can occur in a small percentage of "theoretically" benign GISTs after long-term follow-up [9-11].

Epidemiology of GISTs

GISTs are the most common mesenchymal neoplasms of the GI tract. Incidence of malignant GISTs is thought to be 20 to 30 % of all soft tissue sarcomas. However, its true prevalence must be much higher due to its long and asymptomatic clinical course [2]. Their main location is the stomach (60 to 70 %), followed by the small intestine (25 to 35 %), the colon and rectum (5 %) and the esophagus (< 2 %) [12]. They arise from either the submucosa, the muscularis propria or the subserosa, although they may also occur primarily in the omentum, mesenteries and retroperitoneum. In few cases they are found as a part of the Carney syndrome or the neurofibromatosis type I syndrome [13, 14].

It is important to identify GISTs because of the availability of the Kit tyrosine kinase inhibitor (Imatinib), which has shown promising clinical results [15].

Clinical characteristics

Most GISTs are probably asymptomatic for a long period of their natural history. About 10 % to 30 % are incidentally found during radiographic studies or an upper endoscopy performed for any other reason. Symptoms depend on size and location of the tumor, and the most common are: hemorrhage (20-50 %), abdominal pain (40-50 %) or palpable mass (25-40 %). If they arise in the small bowel, intestinal obstruction may occur [16].

It has been estimated that up to 30 % of GISTs are malignant [2]. Liver, peritoneum, lung and bone are the most common setting for metastases, with an incidence of 50 %, 21 %, 10 % and < 10 % respectively [17]. Lymphadenopathies are uncommon. Locally recurrent disease may occur between 35 % and 90 % of patients depending on the grade of local or distant spread [18].

Surgery is the standard of care in patients with GISTs. Resection rates of primary tumor are near 80 % and five-year survival varies from one series to another, but it ranges from 35 % to 65 %. Gastric GISTs have better prognosis than those located in the small intestine [18].

Morphological assessment of GISTs by means of EUS

EUS is the best imaging technique for evaluation of submucosal lesions of the gastrointestinal tract as well as for distinguishing between subepithelial tumor and extraluminal compression. This fact has largely been demonstrated by both, retrospective and prospective studies [19-23]. Rösch et al. showed in a prospective multicenter study that the sensitivity, specificity, PPV and NPV of EUS in the diagnosis of subepithelial tumors is 92 %, 100 %, 100 % and 100 % respectively, as compared with 87 %, 29 %, 84 % and 93 % for upper endoscopy [23].

EUS allows also for the assessment of morphological features of the lesion (cystic or solid, margins, size, echogenicity) which often provide a first approach of its nature. The accuracy of EUS in determining the layer of origin or which layer a raised lesion may involve, is an important tool for differential diagnosis. GISTs typically arise from the muscularis propria (the fourth layer on EUS image) but they also can arise from the muscularis mucosae (the second hypoechoic layer or deep mucosa on EUS) or from the submucosa (the third hyperechoic layer on EUS) and they are usually less hypoechoic than the typical leiomyomas of the esophagus [24-26].

An attempt to distinguish GISTs from other mesenchymal tumors of the GI wall by means of EUS has been done by Hunt et al. in a recent study [27]. These authors demonstrated that GISTs are more likely to be ulcerated, cystic and larger than 4 cms than c-Kit negative tumors. Another important observation of this study is that most c-Kit negative tumors were located in the esophagus (8 out of 12). This finding is consistent with previous observations and may have practical implications in terms of decision on management.

The influence of EUS in outcomes of patients with GISTs has also been studied. Chak et al. [28] performed a multicenter study aimed at investigating EUS differentiation between benign and malignant cell tumors. After blindly reviewing the videotapes of 35 resected GISTs and comparing them with the pathologic report, they demonstrated that tumor size > 4 cm, irregular extraluminal border, echogenic foci and cystic spaces, were the parameters independently associated with malignancy. Likelihood for detecting malignancy when at least two of the three features were present was about 80-100 %, as compared with 0-11 % when all three features were absent. In a prospective multicenter study conducted by Rösch et al. [23] in 27 patients with intramural genuine tumors over a 2-year period, the performance characteristics of EUS in the diagnosis of malignancy using similar criteria were 86 %, 80 %, 100 % and 100 % for sensitivity, specificity, PPV and NPV respectively. However, any of the EUS features alone showed significant difference between benign and malignant tumors. Similar results were obtained by Palazzo et al. [29] when comparing EUS features with pathology in 56 patients. They demonstrated that the combination of two out of three EUS features (irregular extraluminal margins, cystic spaces and lymph nodes with a malignant pattern), had a PPV of 100 % for malignant or borderline GIST. It is interesting to realize that 3 out of the 6 histological criteria of malignancy in GISTs (size, mucosal invasion and ulceration) may be assessed by EUS. Moreover, cystic spaces inside the tumor often correspond to necrotic areas at histopathology. So, from the pathologic criteria of malignancy, only mitotic count and cellular pleomorphism are missed by EUS. The potential role of EUS FNA in completing the evaluation of GISTs is discussed below.

EUS FNA IN GISTs

Feasibility and accuracy in the diagnosis of GISTs

There is few information on the usefulness of EUS FNA in the management of GISTs. Based on cytology alone, it has classically been reported to be less useful in subepithelial tumors than in other settings such as lymph nodes or pancreatic cancer [30, 31]. However, as described above, the diagnosis of GISTs should be based on immunohistochemical analysis. It has largely been demonstrated that immunohistochemical phenotype of submucosal tumors can be assessed from samples obtained by EUS FNA [32-34]. In this sense, Ando et al. showed that the immunohistochemical expression of c-Kit was consistent between EUS FNA and surgical specimens [32].

Concerning the cytologic diagnosis by itself, in contrast with other mesenchymal tumors in which it may be difficult to obtain an adequate sample by means of FNA, in most series EUS-FNA of GISTs provides enough cellular sample for an adequate diagnosis [33, 35]. Several needle passes can be necessary to adequately sample more cellular areas and avoid necrotic or sclerosing ones. On the other hand, cell contamina-

tion from the wall of the GI tract can complicate the cytologic diagnosis of GISTs, mainly with scant aspirates. Inadequate samples occurred in 11 of the 29 tumors in the study of Hunt et al. [27]. The authors suggest that this limitation may be overcome by using a needle with larger bore but it has not been demonstrated so far. Although cytological features of GIST on FNA specimens are rather characteristic, the specific diagnosis has to be based on immunocytochemistry. It can be performed confidently in both smears and cell-blocks, but the later are particularly useful when several markers, such as CD34, c-kit, ki-67 and others are to be used.

Data available on the performance of EUS FNA in submucosal tumors have been obtained by using 22G needles [27, 32-34]. The use of needles with a larger bore, shotgun needles and Tru-cut needle have been suggested to improve the results but, to now, there are no comparative studies to get definitive conclusions. The usefulness of Tru-cut needle has not been specifically studied in this indication and no study has demonstrated its efficacy to obtain the diagnosis and its superiority compared with regular needles. However, since it yields a core tissue specimen, histopathologic features are more likely to be recognized than in a cytologic sample. Some authors also suggest to puncture the tumor at multiple sites by varying the position with the elevator device [32] to improve the diagnostic yield of EUS FNA and to diagnose tumors with more than one components of differentiation.

Diagnosis of malignant GISTs by means of EUS FNA

Although theoretically microscopic criteria of malignancy (mitotic count, nuclear pleomorphism and tumor necrosis) could be obtained from cytology, samples obtained by FNA, including EUS FNA, often do not provide with this information [34]. Ando et al. [32] reported a 10 % of false negatives for malignancy with EUS FNA in a series of 23 GISTs. The authors describe that specimens were small and with no mitotic cells and they suggest a strict clinical follow-up in these patients disregarding a benign cytology. In general, mitoses are seen in lower numbers in cytological smears rather than in histological sections, and cell-blocks are usually too small for a reliable mitotic count. Immunohistochemical staining for Ki-67, a labeling index for mitotic activity and cell proliferation, may help to overcome this limitation [32, 36]. Ando et al. [32] demonstrated a sensitivity and specificity for the diagnosis of malignant GISTs of 100 % by combining EUS FNA (morphological and cytological findings) and Ki-67 staining. Finally, genetic analysis for c-Kit mutations that may predict tumor response to medical therapy, may also be determined by EUS FNA [34, 37].

Complications

The reported incidence of complications of EUS FNA is low (1,2 %), with very rare fatal consequences [38]. Cystic lesions are the most liable to have complications after FNA [30]. To now, only two cases of complications after EUS FNA of a stromal tumor have

been reported: one aspiration pneumonia [38] and a bleeding after Trucut biopsy that was treated with epinephrine injection [39]. However, the true incidence of complications in this setting should be evaluated in prospective studies with a larger number of patients.

Is there a clinical need for EUS FNA in subepithelial tumors ?

The need of EUS FNA in subepithelial tumors is controversial. Since no study has investigated the impact of EUS FNA in the management and decision-making in these patients, it seems logical to perform it when cytology can potentially change the therapeutical approach and prognosis. First, the clinical setting has to be evaluated in every single patient. Thus, a subepithelial tumor in patients with a history of neoplasm is more likely to be a metastasis than the same lesion in a patient without this background. So probably, EUS FNA should be performed when subepithelial tumors occur in neoplastic patients. On the other hand, there is

no doubt on indicating surgical resection in symptomatic patients or in those in whom morphological characteristics of the tumor by EUS suggest malignancy. However, asymptomatic patients and those with tumors without endosonographic signs of malignancy, still represent a challenge for clinicians. This subset of patients may benefit from EUS FNA. Cytology may exclude unexpected diagnosis and, in case of GISTs, sometimes allows mitotic count. Moreover, immunohistochemical techniques, which are always feasible in EUS FNA samples, have demonstrated a high performance in confirming the diagnosis of GIST and even in assessing malignancy through Ki-67 staining and the genetic analysis of c-Kit mutations.

Grant support : *This work was supported in part by a grant from the Red Nacional de Investigación en Hepatología y Gastroenterología (C 03/02) and the Red Temática de Investigación Cooperativa de Centros del Cáncer (C 03/10).*