

ZAGADNIENIA MOLEKULARNO-KLINICZNE W NOWOTWORACH PODŚCIELISKOWYCH PRZEWODU POKARMOWEGO

PIOTR RUTKOWSKI, ZBIGNIEW I. NOWECKI

1. Wprowadzenie

Postępy w biologii molekularnej doprowadziły do wyodrębnienia nowotworów podścieliskowych przewodu pokarmowego (*gastrointestinal stromal tumors* – GIST) jako oddzielnego typu nowotworu pochodzenia mezenchymalnego oraz opracowania terapii uważanej za model terapii ukierunkowanej molekularnie w nowotworach litych [1, 2]. Współcześnie GIST to najczęstsze nowotwory mezenchymalne przewodu pokarmowego [3]. Stanowią one obecnie również model nowoczesnej wiedzy na temat roli onkogennych mutacji kinaz białkowych w procesie kancerogenezy oraz leczeniu celowanym molekularnie nowotworów litych. W większości GIST stwierdza się aktywujące, somatyczne, wzajemnie wykluczające się mutacje dwóch genów: *KIT* i receptora α płytkopochodnego czynnika wzrostu (*platelet-derived growth factor receptor- α* – *PDGFRA*), które stanowią wczesne zdarzenia onkogenne w rozwoju GIST [4–6].

Pod względem cytogenetycznym GIST charakteryzuje się utratą chromosomów (14, 22, krótkie ramię chromosomu 1). W agresywnych lub zaawansowanych GIST stwierdza się utratę kolejnych chromosomów: 13, 15 i 18, a także częściowe delecje regionów chromosomów 9p i 11p oraz nadmiar regionów 5p i 8q [7, 8]. W regionach chromosomu 9p21 znajdują się geny *CDKN2A* (p16^{INK4A} i p14^{ARF}) oraz *CDN2B* (p15^{INK4B}), których inaktywacja wiąże się z większą agresywnością komórek GIST. Wydaje się, że agresywny przebieg GIST i progresja choroby wiążą się z gromadzeniem charakterystycznych zaburzeń cytogenetycznych [8]. Według Corlessa [6] szlak zaburzeń genetycznych stwierdzanych podczas progresji GIST obejmuje pierwotnie mutację *KIT* lub *PDGFRA*, następnie delecję 14q, delecje 22q, 1p, 11p, 9p i nagromadzenie 8q, 17q. Z kolei Gunawan i wsp. [9] sugerują, że w GIST występują 3 główne szlaki rozwoju na poziomie cytogenetycznym rozpoczynane przez -14q, -1p lub -22q.

Charakterystyczną cechą molekularną GIST jest aktywacja *KIT* – receptora dla czynnika komórek macierzystych (receptor dla czynnika komórek pnia; *stem-cell factor* – SCF), lub *PDGFRA* [6, 10]. Oba białka odgrywają rolę przezłonowych receptorów o aktywności kinazy tyrozynowej i należą do podklasy III rodziny receptorowych

kinaz tyrozynowych [6]. Ich nadekspresja jest związana z somatycznymi mutacjami, które prowadzą do stałej i niezależnej od liganda autofosforylacji kinaz receptorowych *KIT* lub *PDGFRA* [4–6, 10] (tabela I). Prowadzi to do zmian konformacji receptora i przekazania sygnału do wewnątrzkomórkowych szlaków, takich jak PI3K/AKT, MAPK i STAT. W 70–80% przypadków GIST wykrywa się mutacje w *KIT*, najczęściej dotyczące domeny przybłonowej kodowanej przez ekson 11 genu *KIT* [4, 6, 11]. Rzadziej stwierdza się mutacje w eksonie 9 *KIT* [12, 13], głównie w postaci duplikacji Ala⁵⁰¹ i Tyr⁵⁰². Nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego z mutacjami w eksonie 9 *KIT* występują z reguły w obrębie jelita cienkiego. W wyjątkowych przypadkach (1–2%) stwierdza się mutacje w eksonie 13 *KIT* (kodującym domenę I kinazy) lub eksonie 17 *KIT* (odpowiedzialnym za pętlę aktywującą domenę kinazowej) [2, 6]. W 5–8% GIST stwierdza się mutacje w genie *PDGFRA* [5]. Nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego z mutacjami *PDGFRA* często nie wykazują immunoekspresji CD117 [14], wywodzą się z żołądka, przebiegają łagodnie [15] i w obrazie mikroskopowym mają morfologię epitelioidną. W bardzo rzadkich przypadkach mutacje *KIT* i *PDGFRA* są konstytucyjne, co jest związane z rodzinnym występowaniem GIST [6, 16]. Genotypowanie GIST jest również niezwykle istotne w diagnostyce nowotworów z ujemnym odczynem immunohistochemicznym CD117.

W ok. 10–15% GIST nie stwierdza się mutacji *KIT* i *PDGFRA* (*wild type*). W tej podgrupie chorych również dochodzi do aktywacji *KIT*, ale jej mechanizm nie został dotąd wyjaśniony. Do tej podgrupy należą większość pediatrycznych GIST, GIST związany z neurofibromatozą typu 1 (choroba von Recklinghausena) i zespół Stratakisa-Carneya [2, 17, 18]. Triada Carneya [19, 20] to zespół o nieznanym etiologii, występujący głównie u młodych kobiet, obejmujący rozwój GIST, zwykle żołądka, oraz synchronicznych lub metachronicznych chrzestniaków płuc i pozanadnerczowych nerwiaków przyzwojowych (*paraganglioma*). U większości chorych stwierdza się jedynie dwie z tych składowych, chociaż prawdopodobnie istnieje u nich ryzyko pełnej ekspresji triady objawów. Inny zespół rodzinnego występowania mnogich GIST i przyzwojaków został zdefiniowany przez Carneya i Stratakisa

Tabela I. Klasyfikacja molekularna nowotworów podścieliskowych przewodu pokarmowego (GIST)

MUTACJE GENU <i>KIT</i>	80–85% GIST
ekson 11	najczęstsza mutacja w sporadycznym GIST (ok. 60%) z najlepszą odpowiedzią na imatynib, obserwowana również w rodzinnych GIST
ekson 9	mutacja częściej występująca w GIST wywodzących się z jelita cienkiego, gorsza odpowiedź na imatynib, chorzy mogą odnieść korzyść z większej dawki imatynibu (800 mg), dobra odpowiedź na sunitynib
ekson 13 i 17	obserwowano odpowiedzi kliniczne na imatynib, bardzo rzadkie mutacje, opisywane w rodzinnych GIST
MUTACJE GENU <i>PDGFRA</i>	5–8% GIST
ekson 12	obserwowane odpowiedzi kliniczne na imatynib
ekson 14	opisano jedynie kilka przypadków
ekson 18	większość przypadków wywodzi się z żołądka lub sieci większej, mutacja D842V jest oporna na imatynib i sunitynib, inne rodzaje mutacji są wrażliwe
<i>wild type</i> – brak mutacji	12–15% przypadków, zła odpowiedź na imatynib, lepsza na sunitynib, często w GIST pediatrycznych, typowo dla GIST związanych z NF 1 lub triadą Carneya (GIST żołądka + + chrząstki płuc z lub bez paragangliomy), w części przypadków amplifikacja IGFR-1

sa [18] – patogenną rolę odgrywają w nim mutacje genów *SDHB*, *SDHC* lub *SDHD*.

Współcześnie (na podstawie polskich i europejskich wielospecjalistycznych wytycznych [21, 22]) w każdym przypadku rozpoznania GIST i po rozpoczęciu leczenia zaleca się wykonanie badań molekularnych (najlepiej materiał świeżo zamrożony, ale mogą to być również bloczki parafinowe; informacje zamieszczono na stronie Rejestru Klinicznego GIST: gist.coi.waw.pl).

Określenie rodzaju mutacji może mieć znaczenie rokownicze w pierwotnych GIST, chociaż obecnie nie ma wystarczających danych, aby dołączyć status mutacyjny kinaz do stratyfikacji ryzyka pierwotnych nowotworów (ocenianej na podstawie wielkości guza i indeksu mitotycznego oraz, dodatkowo, lokalizacji guza pierwotnego [23–25]), ponieważ mutacje *KIT* stanowią wczesny etap w powstawaniu GIST i samodzielnie mogą nie stanowić czynnika decydującego o agresywnym przebiegu nowotworu. W kilku opublikowanych pracach stwierdzano zależność pomiędzy niektórymi rodzajami mutacji *KIT* (szczególnie delecjami w eksonie 11 obejmującymi kodony 557–558) i bardziej agresywnym przebiegiem choroby [26–29]. W badaniach tych nie doszacowano prawdopodobnie rzeczywistej częstości występowania mutacji *KIT*. Ponadto w kilku kolejnych badaniach stwierdzono, że mutacje *KIT* występują często nawet w bardzo małych, przypadkowo stwierdzanych GIST o klinicznie łagodnym przebiegu [30, 31], co potwierdza hipotezę, że mutacje *KIT* nabywane są bardzo wcześnie w rozwoju GIST i mogą występować w nowotworach o małym i bardzo małym ryzyku. Niezbędne są dalsze badania w większych grupach chorych w celu określenia rzeczywistego znaczenia rokowniczego specyficznych podtypów mutacji *KIT*.

2. Leczenie chorych z nowotworami podścieliskowymi przewodu pokarmowego

Radykalne leczenie chirurgiczne jest podstawą terapii pierwotnych, zlokalizowanych, resekcyjnych GIST, cho-

ciaż u ok. 40–50% chorych po potencjalnie leczniczej operacji dochodzi do nawrotu choroby lub rozwoju przerzutów [23, 25, 33]. Zwykle nie jest konieczne wykonywanie rozległych, wielonarządowych operacji z regionalną limfadenektomią, gdyż częstość przerzutów do węzłów chłonnych jest niewielka. W przypadku zaawansowanych miejscowo GIST, potencjalnie resekcyjnych, ale których wycięcie wiązać by się mogło z okaleczającą operacją (jak amputacja brzuszno-kroczoza), należy rozważyć przedoperacyjną terapię imatynibem. W przypadku zmian nawrotowych lub przerzutowych pierwotne leczenie operacyjne nie prowadzi do wyleczenia chorego [33]. Nawroty GIST występują z reguły w wątrobie lub w jamie otrzewnej, przerzuty w innych lokalizacjach są bardzo rzadkie. W zaawansowanych przypadkach klasyczna chemioterapia nie jest skuteczna, gdyż GIST są nowotworami opornymi na konwencjonalną chemioterapię. Radioterapia ma również ograniczoną wartość ze względu na bliskość narządów krytycznych.

Metanosulfonian imatynibu zrewolucjonizował wyniki leczenia zaawansowanych GIST [34], a obecnie jest zarejestrowany do leczenia pierwszej linii przerzutowych i/lub nieresekcyjnych GIST, jak również do leczenia uzupełniającego po wycięciu GIST o istotnym ryzyku nawrotu. Imatynib jest lekiem niskocząsteczkowym działającym na niektóre kinazy tyrozynowe: BCR-ABL, ARG (*ABL-related kinase*), PDGFRA i KIT [35]. Imatynib współzawodniczy z trifosforanem adenozy (ATP), hamując kompetycyjnie zdolność receptorowej kinazy tyrozynowej do autofosforylacji, co powoduje zahamowanie zmienionego szlaku przekazywania sygnału do wnętrza komórki. Przeprowadzone badania kliniczne (fazy I/II EORTC 62001, badanie amerykańsko-fińskie II fazy i badania III fazy EORTC 62005 i amerykańskie S0033) potwierdziły wysoką skuteczność imatynibu w leczeniu GIST u większości chorych ze zmianami nieoperacyjnymi lub przerzutami [36–39]. W porównaniu z historycznymi danymi klinicznymi, gdzie mediany czasu przeżycia wyno-

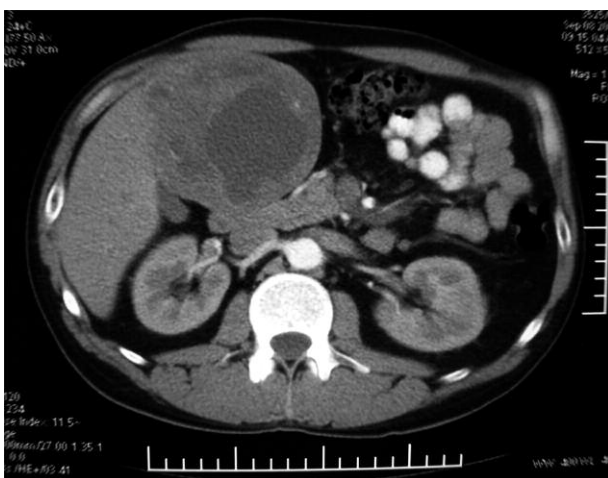
siły 10–19 miesięcy [33], obecnie przeżycia w zaawansowanych przypadkach są zdecydowanie dłuższe (z medianą przeżycia całkowitego u chorych w badaniach nad imatynibem wynoszącą ok. 5 lat [39] i medianą przeżyć wolnych od progresji wynoszącą 2–3 lata [37–40]). U ok. 2/3 chorych na GIST uzyskuje się obiektywne odpowiedzi (głównie częściowe) w czasie leczenia standardową dawką imatynibu 400 mg/dobę, zaś u kolejnych 20% chorych dochodzi do długotrwałej stabilizacji choroby [62, 63, 65]. Odpowiedź na leczenie imatynibem nie zawsze ma postać zmniejszenia wielkości zmian, ale zahamowania wzrostu i zwiększenia apoptozy komórek nowotworowych (co można wykazać jako zanik aktywności metabolicznej w badaniu pozytonowej tomografii emisyjnej lub zmniejszenie gęstości zmian w badaniu tomografii komputerowej) [41] (ryc. 1.). Odnotowano również, że odstawienie leczenia imatynibu wiąże się z gwałtowną progresją choroby [42]. U większości chorych podczas stosowania imatynibu z czasem dochodzi do rozwoju wtórnej oporności na terapię [54, 68]. W badaniu II fazy stwierdzono, że pierwotna oporność na leczenie wystąpiła u 5% chorych, zaś w ciągu 2 lat doszło do progresji u ok. 50% chorych w mechanizmie wtórnej oporności na imatynib [37].

Istotnym zagadnieniem wydaje się resekcja zmian resztkowych po częściowej remisji podczas terapii imatynibem, co może prowadzić do całkowitej remisji choroby u niektórych osób z GIST. Teoretycznie strategia taka może prowadzić do wydłużenia remisji choroby, gdyż prawdopodobieństwo rozwoju opornych klonów GIST jest proporcjonalne do masy nowotworu [43, 44].

Leczenie uzupełniające imatynibem przez okres 3 lat powinno być standardowym postępowaniem po resekcji GIST o dużym ryzyku nawrotu choroby. Badanie SSGXVIII wykazało, że leczenie takie wydłuża przeżycia wolne od nawrotu choroby i przeżycia całkowite w porównaniu ze schematem rocznej terapii [45]. Wcześniejsze wyniki badania ACOSOG Z9001, w którym stosowano uzupełniająco imatynib przez rok, doprowadziły do rejestracji tego leku w leczeniu pooperacyjnym u chorych na GIST o znaczącym ryzyku nawrotu. W świetle obecnej wie-

dzy chorzy o bardzo niskim lub niskim ryzyku nawrotu nie powinny otrzymywać leczenia uzupełniającego imatynibem. Przy kwalifikacji chorych do leczenia uzupełniającego obowiązkowe jest oznaczenie statusu mutacji GIST – kwestią dyskusyjną jest stosowanie leczenia uzupełniającego imatynibem w GIST o genotypach o małej wrażliwości na ten lek (*PDGFRA* D842V czy *wild-type*).

W przypadku wystąpienia progresji GIST podczas terapii imatynibem w dawce standardowej zaleca się zwiększenie jej do 800 mg dziennie [46], z kolei w sytuacji dalszej progresji lub nietolerancji imatynibu jedynym zarejestrowanym lekiem jest sunitynib. Jabłczan sunitynibu to doustny inhibitor wielokinazowy, hamujący m.in. KIT i PDGFRs, a także receptory naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (*vascular endothelial growth factor receptor* – VEGFR), FLT3 (*FMS-like tyrosine kinase-3*), CSF-1R (*colony stimulating factor 1 receptor*) i RET (*REarranged during Transfection*) [47]. Wyniki badań I–III fazy z sunitynibem wykazały obiektywną korzyść kliniczną u ok. 60% chorych na GIST, którzy otrzymywali ten lek po niepowodzeniu wcześniejszej terapii imatynibem. Mediana czasu do progresji choroby była istotnie większa u osób przyjmujących sunitynib (27,3 tygodnia) w porównaniu z placebo (6,4 tygodnia) [47]. Jednak odpowiedzi na leczenie sunitynibem są również ograniczone w czasie. Potwierdzono skuteczność terapii sunitynibem w schemacie 4/2 – 4 tygodnie leczenia i 2 tygodnie przerwy przy wyjściowej dawce 50 mg dziennie. Istnieją dane wskazujące, że dawkowanie ciągle przy zmniejszonej dawce może być przynajmniej równie skuteczne i prawdopodobnie lepiej tolerowane [48]. W razie niepowodzenia wymienionych terapii prowadzone są badania nad nowymi lekami (np. sorafenib, inhibitory białka wstrząsu termicznego-90, mTOR, receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu). W toku tych badań wykazano skuteczność regorafenibu u chorych na GIST oporny na imatynib i sunitynib. Na przyszłą terapię GIST wpływ mieć będzie nie tylko dostępność większej liczby leków, lecz także lepsze zrozumienie mechanizmów biologicznych u indywidualnych chorych, dla których można uzyskać najlepsze wyniki leczenia dostępnymi lekami.



Rycina 1. Klasyczny obraz odpowiedzi na leczenie imatynibem (w tomografii komputerowej) u chorego z nowotworem podścieliskowym przewodu pokarmowego (GIST) jelita cienkiego z przerzutem do wątroby i potwierdzoną mutacją w eksonie 11 KIT – zmniejszenie wielkości i gęstości ogniska przerzutowego po 4 miesiącach terapii

3. Aspekty molekularne terapii zaawansowanych nowotworów podścieliskowych przewodu pokarmowego

Postępy w poznaniu mechanizmów molekularnych patogenezy GIST przyczyniły się do opracowania leczenia, które stało się modelem terapii ukierunkowanej molekularnie nowotworów litych w onkologii. Rodzaj mutacji GIST stanowi najistotniejszy czynnik predykcyjny odpowiedzi na leczenie inhibitorami kinaz tyrozynowych. Oczywiście najlepiej znane są zależności pomiędzy statusem mutacji i odpowiedziami na leczenie imatynibem w terapii pierwszej linii zaawansowanych GIST. Ocena molekularna genów *KIT* i *PDGFRA* koreluje silnie z odpowiedziami i przeżyciami wolnymi od progresji u chorych na GIST leczonymi imatynibem. Heinrich i wsp. [11] ocenili 127 chorych na zaawansowane GIST włączone do badania II fazy z imatynibem i stwierdzili, że osoby z GIST z obecnością najczęściej występującej mutacji w eksonie 11 *KIT* znacząco częściej odpowiadały na leczenie (> 80%) i miały dłuższe przeżycia wolne od progresji (*progression-free survival* – PFS). Z kolei u chorych, których guz charakteryzował się obecnością mutacji w eksonie 9 *KIT*, odsetek odpowiedzi wynosił ok. 45% i stwierdzano u nich krótsze PFS, zaś chorzy na GIST bez stwierdzanych mutacji w genach *KIT* lub *PDGFRA* (*wild type*) mieli najmniejsze odsetki odpowiedzi na imatynib i najkrótsze PFS. Analizy przeprowadzone przez innych autorów [40, 49–51] potwierdziły, że status mutacji pozwala na przewidywanie odpowiedzi klinicznych na imatynib oraz że chorzy na GIST z obecnością mutacji w eksonie 11 *KIT* mają najlepsze i najdłuższe odpowiedzi na imatynib (tabela III, ryc. 2.). Z kolei w ok. 15–30% przypadków nowotworów zawierających mutację w eksonie 9 *KIT* i u 25–50% chorych bez wykrywanych mutacji *KIT* lub *PDGFRA* obserwuje się pierwotną oporność na leczenie imatynibem [11, 49–51]. Badania kliniczne i laboratoryjne wykazały, że nowotwory zawierające mutację w eksonie 18 *PDGFRA* D842V są niewrażliwe na imatynib i sunitynib, GIST

zaś z innymi mutacjami w genie *PDGFRA* wykazują różne odpowiedzi na ten lek [11, 52].

Ponadto odpowiedzi na imatynib w GIST z obecnością mutacji w eksonie 9 *KIT* zależą od dawki leku i chorzy ci wymagają większych dawek imatynibu (800 mg dziennie), co wykazano na podstawie danych z badania EORTC 62005 [51], jak również w połączonej analizie z danymi z badania S0033. Przypuszcza się, że duplikacje/insercje AY501-502 w eksonie 9 *KIT* przerywają antydimeryzacyjne właściwości zewnątrzkomórkowej domeny *KIT*, co prowadzi do samoistnej homodimeryzacji receptora i aktywacji związanych z nim kinaz receptorowych, których aktywność może być skuteczniej modulowana przez większe dawki imatynibu [11, 51]. Dębiec-Rychter i wsp. sugerowali również, że zmiany w dalszej części eksonu 11 *KIT* w porównaniu z mutacjami w części bliższej przekładają się na gorszą odpowiedź na leczenie. Możliwe jest, że mutacje powodujące zmiany konformalne, takie jak duże delecje lub insercje, mogą zmniejszać powinowactwo *KIT* dla imatynibu i wpływać na skuteczność terapii [50].

U części chorych na zaawansowany GIST leczonych imatynibem obserwuje się oporność na tę terapię. Odrębne czynniki kliniczne i biologiczne związane są z występowaniem wczesnej i późnej oporności na imatynib w GIST [53, 54]. Z molekularnego punktu widzenia w pierwotnej oporności główną rolę odgrywają specyficzne pierwotne mutacje *KIT* lub *PDGFRA* powodujące tworzenie onkoprotein niewrażliwych na hamowanie przez imatynib lub brak mutacji w genach obu kinaz. Do GIST wykazujących pierwotną oporność na imatynib należą GIST typu *wild type* (bez wykrywalnych mutacji w *KIT* lub *PDGFRA*), nowotwory z obecnością mutacji w eksonie 9 *KIT* oraz GIST z mutacją punktową w kodonie 842 genu *PDGFRA* (D842V) [52, 54]. Odrębne mechanizmy związane są z wtórną opornością na terapię imatynibem. U chorych, którzy początkowo odpowiedzieli na leczenie imatynibem, stwierdza się narastanie wtórnej oporności (w postaci progresji ograniczonej lub uogólnionej) i jest ona zazwyczaj

Tabela II. Zależność pomiędzy genotypem guza a odpowiedzią na terapię imatynibem u chorych na nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego (GIST) w przeprowadzonych badaniach klinicznych

	B2222 FAZA II (N = 127)	EORTC62005-AUSTRALASIAN FAZA III (N = 363)	NORTH AMERICA SWOG S0033 FAZA III (N = 324)
Objektywna odpowiedź*			
<i>KIT</i> ekson 11	83% [†]	70% [†]	67% [†]
<i>KIT</i> ekson 9	48%	35%	40%
Brak mutacji	0%	25%	39%
Progresja choroby			
<i>KIT</i> ekson 11	4,7%	3,2%	BD
<i>KIT</i> ekson 9	17,4%	17,2%	BD
Brak mutacji	55,6%	19,2%	BD

BD – brak danych

*zdefiniowana jako całkowita lub częściowa odpowiedź zgodnie z kryteriami RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors)

[†]znamienna różnica statystyczna *KIT* ekson 11 vs *KIT* ekson 9 i grupy bez mutacji

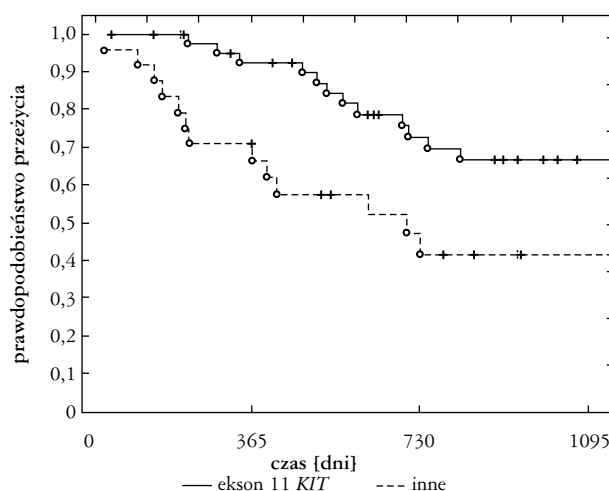
(w ok. 60% przypadków) związana z nabytymi przez komórki nowotworowe dodatkowymi mutacjami w genach *KIT* lub *PDGFRA* [55, 56]. Te dodatkowe mutacje prowadzą do zmian konformacji przestrzennej białka receptorowego, co uniemożliwia związanie cząsteczki leku z obszarem o właściwościach enzymatycznych w receptorze lub stabilizuje kinazę w aktywnej postaci konformacyjnej. Najczęstsze mutacje wtórne stanowią mutacje wewnątrzkomórkowych domen kinazowych *KIT* kodowanych przez eksony 13, 14 i 17 [54, 56, 57]. Często występująca wtórna mutacja *KIT* – V654A – obejmuje ekson 13 i zmniejsza zdolność wiązania pomiędzy imatynibem a receptorem. Wtórne mutacje *KIT* w domenie pętli aktywującej kodowanej przez ekson 17, takie jak D816V, zmieniają również konformację domeny kinazowej. Dębiec-Rychter i wsp. opisali przypadek *GIST* opornego na imatynib, w którym oporność związana była z nabyciem mutacji D842V *PDGFRA* przy występowaniu pierwotnej mutacji w eksonie 11 *KIT* [58]. Niektóre z tych mutacji wykazują wrażliwość na inhibitory kinaz tyrozynowych drugiej generacji, takie jak sunitynib, nilotynib, sorafenib czy dasatynib [59–61], i w takich przypadkach możliwe jest przełamanie oporności na imatynib za pomocą nowych leków. Jednakże problem mutacji wtórnych jest dodatkowo skomplikowany przez fakt, że w czasie leczenia rozwijają się różne oporne kłony. W części przypadków stwierdzono liczne różne mutacje wtórne *KIT* w odrębnych lokalizacjach nowotworu podczas jego progresji.

Oprócz wtórnych mutacji do występowania późnej oporności na imatynib przyczyniają się również: amplifikacja genu *KIT* i nadekspresja kinazy, aktywacja alternatywnej receptorowej kinazy tyrozynowej, utrata ekspresji *KIT*, rozwój oporności wielolekowej, oporność czynnościowa i zaburzenia farmakokinetyki (zmiany metabolizmu i stężenia imatynibu w organizmie) [53, 54, 62].

Stwierdzono, że analiza mutacji ma także znaczenie predykcyjne dla przewidywania wyników terapii sunitynibem w leczeniu drugiej linii *GIST*. Przypadki *GIST* z mutacjami w eksonie 9 *KIT* wydają się bardziej wrażliwe na sunitynib, niż gdy stwierdza się obecność mutacji w eksonie 11 *KIT*. Odsetek chorych odnoszących korzyść kliniczną z leczenia sunitynibem w przypadku *GIST* z pierwotną mutacją w eksonie 11 *KIT* wyniósł 58%, z pierwotną mutacją w obrębie eksonu 11 *KIT* – 34%, a dla przypadków *wild type* – 56% [63]. Zaobserwowano również korzystne klinicznie działanie sunitynibu w przypadkach bez wykrywanych mutacji *KIT* (*wild type*, np. *GIST* pediatryczne). Badania profili biochemicznych w warunkach *in vitro* pozwoliły również na odkrycie, że mutacje wtórne w eksonie 13 i 14 *KIT* są wrażliwe na sunitynib, z kolei wtórne mutacje w eksonach 17 i 18 *KIT* wykazują oporność na ten lek. Ewentualne decyzje kliniczne podejmowane na podstawie analizy mutacji mogą w przyszłości zwiększyć efektywność kosztową sunitynibu.

4. Podsumowanie

Nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego to obecnie najczęstsze nowotwory pochodzenia mezen-



Rycina 2. Przeżycia wolne od progresji choroby w grupie osób z zaawansowanym nowotworem podścieliskowym przewodu pokarmowego (*GIST*) leczonych imatynibem w zależności od stanu mutacji (dane Rejestru Klinicznego *GIST*)

chymalnego w obrębie przewodu pokarmowego o heterogennym obrazie klinicznym od zmian o łagodnym, indolentnym przebiegu klinicznym do mięsaków o wysokim stopniu złośliwości. Ich wspólną cechą molekularną jest występowanie mutacji uzyskania funkcji (*gain-of-function mutation*) genów *KIT* lub *PDGFRA*. Wprowadzenie do praktyki klinicznej imatynibu zmieniło dramatycznie wyniki leczenia chorych na zaawansowany *GIST*. Istniejące dane wskazują, że status mutacji stanowi najistotniejszy czynnik predykcyjny odpowiedzi na imatynib. Nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego, w których stwierdza się najczęstsze mutacje w eksonie 11 *KIT*, mają największe odsetki odpowiedzi na leczenie i najlepsze przeżycia. W wypadku oporności na imatynib (związanej z występowaniem specyficznych pierwotnych mutacji lub, częściej, z pojawieniem się mutacji wtórnych) skuteczne może być leczenie drugiej linii za pomocą sunitynibu, zwłaszcza u chorych na *GIST* z obecnością pierwotnych mutacji w eksonie 9 *KIT* lub typu *wild type*. Nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego stanowią jedne z najlepiej scharakteryzowanych pod względem molekularnym nowotworów litych o wyjaśnionym w znacznym stopniu mechanizmie powstawania, opracowanej terapii ukierunkowanej molekularnie i zależności między wynikami leczenia a statusem mutacji. Genotypowanie *GIST* służy jako użyteczne narzędzie w diagnostyce niektórych przypadków *GIST*, doborze optymalnej dawki imatynibu, oceny prawdopodobnych korzyści z leczenia imatynibem w zaawansowanych przypadkach, wyborze leczenia drugiej linii i, prawdopodobnie, stratyfikacji ryzyka pierwotnych nowotworów. Wytyczne polskie i międzynarodowe zalecają rutynowo analizę mutacji wszystkich nowo rozpoznanych *GIST*.

Piśmiennictwo

- Joensuu H. Gastrointestinal stromal tumor (*GIST*). *Ann Oncol* 2006; 17 (Suppl 10): x280-x286.

2. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: review on morphology, molecular pathology, prognosis, and differential diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130: 1466-1478.
3. Nilsson B, Bümming P, Meis-Kindblom JM, et al. Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era – a population-based study in western Sweden. *Cancer* 2005; 103: 821-829.
4. Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, et al. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998; 279: 577-580.
5. Hirota S, Ohashi A, Nishida T, et al. Gain-of-function mutations of platelet-derived growth factor receptor alpha gene in gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterology* 2003; 125: 660-667.
6. Corless CL, Fletcher JA, Heinrich MC. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2004; 22: 3813-3825.
7. Heinrich MC, Rubin BP, Longley BJ, Fletcher JA. Biology and genetic aspects of gastrointestinal stromal tumors: KIT activation and cytogenetic alterations. *Hum Pathol* 2002; 33: 486-495.
8. El-Rifai W, Sarlomo-Rikala M, Andersson LC, et al. DNA sequence copy number changes in gastrointestinal stromal tumors: tumor progression and prognostic significance. *Cancer Res* 2000; 60: 3899-3903.
9. Gunawan B, von Heydebreck A, Sander B, et al. An oncogenic tree model in gastrointestinal stromal tumours (GISTs) identifies different pathways of cytogenetic evolution with prognostic implications. *J Pathol* 2007; 211: 463-470.
10. Lasota J, Miettinen M. KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *Semin Diagn Pathol* 2006; 23: 91-102.
11. Heinrich MC, Corless CL, Demetri GD, et al. Kinase mutations and imatinib mesylate response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. *J Clin Oncol* 2003; 21: 4342-4349.
12. Antonescu CR, Sommer G, Sarran L, et al. Association of KIT exon 9 mutations with nongastric primary site and aggressive behavior: KIT mutation analysis and clinical correlates of 120 gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 3329-3337.
13. Lasota J, Wozniak A, Sarlomo-Rikala M, et al. Mutations in exons 9 and 13 of KIT gene are rare events in gastrointestinal stromal tumors: a study of 200 cases. *Am J Pathol* 2000; 157: 1091-1095.
14. Debiec-Rychter M, Wasag B, Stul M, et al. Gastrointestinal stromal tumours (GISTs) negative for KIT (CD117 antigen) immunoreactivity. *J Pathol* 2004; 202: 430-438.
15. Lasota J, Dansonka-Mieszkowska A, Sobin LH, Miettinen M. A great majority of GISTs with PDGFRA mutations represent gastric tumors of low or no malignant potential. *Lab Invest* 2004; 84: 874-883.
16. Woźniak A, Rutkowski P, Sciort R, et al. Rectal gastrointestinal stromal tumors associated with a novel germline KIT mutation. *Int J Cancer* 2008; 122: 2160-2164.
17. Maertens O, Prenen H, Debiec-Rychter M, et al. Molecular pathogenesis of multiple gastrointestinal stromal tumors in NF1 patients. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 1015-1023.
18. Carney JA, Stratakis CA. Familial paraganglioma and gastric stromal sarcoma: a new syndrome distinct from the Carney triad. *Am J Med Genet* 2002; 108: 132-139.
19. Carney JA, Sheps SG, Go VL, Gordon H, et al. The triad of gastric leiomyosarcoma, functioning extra-adrenal paraganglioma and pulmonary chondroma. *N Engl J Med* 1977; 296: 1517-1518.
20. Diment J, Tamborini E, Casali P, et al. Carney triad: case report and molecular analysis of gastric tumor. *Human Pathol* 2005; 36: 112-116.
21. Rutkowski P, Kulig J, Krzakowski M, et al. Zasadę postępowania diagnostyczno-terapeutycznego u chorych na nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego (GIST) w 2010 roku. *Onkol Prakt Klin* 2010; 6: 181-194.
22. Casali PG, Jost L, Reichardt P, et al. Gastrointestinal stromal tumors: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2009; 20 (Suppl 4): iv64-iv67.
23. Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Hum Pathol* 2002; 33: 459-465.
24. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: pathology and prognosis at different sites. *Semin Diagn Pathol* 2006; 23: 70-83.
25. Rutkowski P, Nowecki ZI, Michej W, et al. Risk criteria and prognostic factors for predicting recurrences after resection of primary gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 2018-2027.
26. Lasota J, Jasinski M, Sarlomo-Rikala M, Miettinen M. Mutations in exon 11 of c-Kit occur preferentially in malignant versus benign gastrointestinal stromal tumors and do not occur in leiomyomas or leiomyosarcomas. *Am J Pathol* 1999; 154: 53-60.
27. Andersson J, Bümming P, Meis-Kindblom JM, et al. Gastrointestinal stromal tumors with KIT exon 11 deletions are associated with poor prognosis. *Gastroenterology* 2006; 130: 1573-1581.
28. Martín J, Poveda A, Llombart-Bosch A, et al. Deletions affecting codons 557-558 of the c-KIT gene indicate a poor prognosis in patients with completely resected gastrointestinal stromal tumors: a study by the Spanish group for sarcoma research (GEIS). *J Clin Oncol* 2005; 23: 6190-6198.
29. Lasota J, vel Dobosz AJ, Wasag B, et al. Presence of homozygous KIT exon 11 mutations is strongly associated with malignant clinical behavior in gastrointestinal stromal tumors. *Lab Invest* 2007; 87: 1029-1041.
30. Corless CL, McGreevey L, Haley A, et al. KIT mutations are common in incidental gastrointestinal stromal tumors one centimeter or less in size. *Am J Pathol* 2002; 160: 1567-1572.
31. Agaimy A, Wünsch PH, Hofstaedter F, et al. Minute gastric sclerosing stromal tumors (GIST tumorlets) are common in adults and frequently show c-KIT mutations. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 113-120.
32. Kawanowa K, Sakuma Y, Sakurai S, et al. High incidence of microscopic gastrointestinal stromal tumors in the stomach. *Hum Pathol* 2006; 37: 1527-1535.
33. Dematteo RP, Heinrich MC, El-Rifai WM, Demetri G. Clinical management of gastrointestinal stromal tumors: before and after STI-571. *Hum Pathol* 2002; 33: 466-477.
34. Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M, et al. Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N Engl J Med* 2001; 344: 1052-1056.
35. Buchdunger E, Cioffi CL, Law N, et al. Abl protein-tyrosine kinase inhibitor STI571 inhibits in vitro signal transduction mediated by c-kit and platelet-derived growth factor receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295: 139-145.
36. van Oosterom AT, Judson I, Verweij J, et al. Safety and efficacy of imatinib (STI571) in metastatic gastrointestinal stromal tumours: a phase I study. *Lancet* 2001; 358: 1421-1423.
37. Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med* 2002; 347: 472-480.
38. Verweij J, Casali PG, Zalcberg J, et al. Progression-free survival in gastrointestinal stromal tumours with high-dose imatinib: randomised trial. *Lancet* 2004; 364: 1127-1134.
39. Blanke CD, Demetri GD, von Mehren M, et al. Long-term results from a randomized phase II trial of standard-versus higher-dose imatinib mesylate for patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing KIT. *J Clin Oncol* 2008; 26: 620-625.
40. Rutkowski P, Nowecki ZI, Debiec-Rychter M, et al. Predictive factors for long term effects of imatinib therapy in patients with

- inoperable/metastatic CD117(+) gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *J Cancer Res Clin Oncol* 2007; 133: 589-597.
41. Choi H, Charnsangavej C, de Castro Faria S, et al. CT evaluation of the response of gastrointestinal stromal tumors after imatinib mesylate treatment: a quantitative analysis correlated with FDG PET findings. *AJR Am J Roentgenol* 2004; 183: 1619-1628.
 42. Blay JY, Le Cesne A, Ray-Coquard I, et al. Prospective multicentric randomized phase III study of imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumors comparing interruption versus continuation of treatment beyond 1 year: the French Sarcoma Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1107-1113.
 43. Rutkowski P, Nowecki Z, Nyckowski P, et al. Surgical treatment of patients with initially inoperable and/or metastatic gastrointestinal stromal tumors (GIST) during therapy with imatinib mesylate. *J Surg Oncol* 2006; 93: 304-311.
 44. Gronchi A, Fiore M, Miselli F, et al. Surgery of residual disease following molecular-targeted therapy with imatinib mesylate in advanced/metastatic GIST. *Ann Surg* 2007; 245: 353-354.
 45. Joensuu H, Eriksson M, Sundby Hall K, et al. One vs three years of adjuvant imatinib for operable gastrointestinal stromal tumor: a randomized trial. *JAMA* 2012; 307: 1265-1272.
 46. Zalberg JR, Verweij J, Casali PG, et al. Outcome of patients with advanced gastro-intestinal stromal tumours crossing over to a daily imatinib dose of 800 mg after progression on 400 mg. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1751-1757.
 47. Demetri GD, van Oosterom AT, Garrett CR, et al. Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of imatinib: a randomised controlled trial. *Lancet* 2006; 368: 1329-1338.
 48. George S, Blay JY, Casali PG, et al. Clinical evaluation of continuous daily dosing of sunitinib malate in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after imatinib failure. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1959-1968.
 49. Heinrich MC, Owzar K, Corless CL, et al. Correlation of kinase genotype and clinical outcome in the North American Intergroup Phase III Trial of imatinib mesylate for treatment of advanced gastrointestinal stromal tumor: CALGB 150105 Study by Cancer and Leukemia Group B and Southwest Oncology Group. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5360-5367.
 50. Debiec-Rychter M, Dumez H, Judson I, et al. Use of c-KIT/PDGFR α mutational analysis to predict the clinical response to imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumors entered on phase I and II studies of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *Eur J Cancer* 2004; 40: 689-695.
 51. Debiec-Rychter M, Sciot R, Le Cesne A, et al. KIT mutations and dose selection for imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumours. *Eur J Cancer* 2006; 42: 1093-1103.
 52. Corless CL, Schroeder A, Griffith D, et al. PDGFR α mutations in gastrointestinal stromal tumors: frequency, spectrum and in vitro sensitivity to imatinib. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5357-5364.
 53. Fletcher JA, Corless CL, Dimitrijevic S, et al. Mechanisms of resistance to imatinib mesylate (IM) in advanced gastrointestinal stromal tumor (GIST). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003; 22: 3275.
 54. Heinrich MC, Corless CL, Blanke CD, et al. Molecular correlates of imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4764-4774.
 55. Antonescu CR, Besmer P, Guo T, et al. Acquired resistance to imatinib in gastrointestinal stromal tumor occurs through secondary gene mutation. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 4182-4190.
 56. Wardelmann E, Merkelbach-Bruse S, Pauls K, et al. Polyclonal evolution of multiple secondary KIT mutations in gastrointestinal stromal tumors under treatment with imatinib mesylate. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 1743-1749.
 57. Utsunomiya T, Okamoto M, Yano S, et al. Secondary c-kit mutation in a recurrent gastrointestinal stromal tumor under long-term treatment with imatinib mesylate: report of a case. *Surg Today* 2008; 38: 65-67.
 58. Debiec-Rychter M, Cools J, Dumez H, et al. Mechanisms of resistance to imatinib mesylate in gastrointestinal stromal tumors and activity of the PKC412 inhibitor against imatinib-resistant mutants. *Gastroenterology* 2005; 128: 270-279.
 59. Prenen H, Cools J, Mentens N, et al. Efficacy of the kinase inhibitor SU11248 against gastrointestinal stromal tumor mutants refractory to imatinib mesylate. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2622-2627.
 60. Guo T, Agaram NP, Wong GC, et al. Sorafenib inhibits the imatinib-resistant KIT670I gatekeeper mutation in gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 4874-4881.
 61. Schittenhelm MM, Shiraga S, Schroeder A, et al. Dasatinib (BMS-354825), a dual SRC/ABL kinase inhibitor, inhibits the kinase activity of wild-type, juxtamembrane, and activation loop mutant KIT isoforms associated with human malignancies. *Cancer Res* 2006; 66: 473-481.
 62. Demetri GD, Wang Y, Wehrle E, et al. Imatinib plasma levels are correlated with clinical benefit in patients with unresectable/metastatic gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3141-3147.
 63. Heinrich MC, Maki RG, Corless CL, et al. Primary and secondary kinase genotypes correlate with the biological and clinical activity of sunitinib in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5352-5359.