

Молекулярно-генетические особенности и маркеры гастроинтестинальных стромальных опухолей

Н. Н. Мазуренко, И. В. Цыганова

НИИ канцерогенеза ФГБНУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина»; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Наталья Николаевна Мазуренко nmazurenko@mail.ru

Гастроинтестинальные стромальные опухоли (ГИСО) — наиболее распространенная группа мезенхимальных опухолей желудочно-кишечного тракта, которые имеют особые клинико-морфологические, иммуногистохимические и молекулярные характеристики. Отличительной чертой ГИСО является наличие поверхностного антигена CD117 (рецептора KIT), выявляемого с помощью иммуногистохимического метода. ГИСО представляют гетерогенную группу опухолей, содержащих активирующие мутации в генах KIT (75–80 %) и PDGFRA (5–15 %), кодирующих рецепторные тирозинкиназы (ТК). Многочисленные мутации коррелируют со специфической морфологией ГИСО, гистологическим фенотипом, метастазированием и прогнозом. В 10–15 % ГИСО имеются гены KIT и PDGFRA дикого типа, некоторые содержат активирующие мутации BRAF, IGF1R или PIK3CA. Другие пациенты с ГИСО дикого типа имеют наследственные синдромы (нейрофиброматоз 1-го типа, синдром Карнея–Стратакиса или триаду Карнея) и содержат герминальные мутации в гене NF1 либо SDHA, SDHB, SDHC и SDHD, кодирующих субъединицы комплекса сукцинатдегидрогеназы. ГИСО — первая и наиболее изученная модель для отработки принципов и методов индивидуализированной таргетной терапии солидных опухолей ингибиторами ТК.

Ключевые слова: гастроинтестинальные стромальные опухоли, мутации, гены KIT, PDGFRA, BRAF и SDH, таргетная терапия, тирозинкиназные ингибиторы, иматиниб

DOI: 10.17 650/2313-805X. 2015.2.2.29–40

Molecular features and genetic markers of gastrointestinal stromal tumors

N. N. Mazurenko, I. V. Tsyganova

Research Institute of Carcinogenesis, N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center;
24 Kashirskoye Shosse, Moscow, 115478, Russia

Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) are the most spread mesenchymal tumors located within the gastrointestinal tract that have particular clinico-morphological, immunohistochemical and molecular characteristics. The distinguishing mark of GISTs is the presence of the cell-surface antigen CD117 (KIT receptor tyrosine kinase), identified by immunohistochemistry. GISTs consist of tumors with various activating mutations in KIT (75–80 %) or PDGFRA (5–15 %) receptor tyrosine kinases. Numerous KIT and PDGFRA mutations are associated with specific GIST morphology, histologic phenotype, metastasizing and prognosis. 10–15 % of GISTs contain KIT and PDGFRA wild type genes, some of them have driver BRAF, IGF1R or PIK3CA mutations. The other GISTs patients have familial syndromes (neurofibromatosis type 1, Carney–Stratakis syndrome, Carney triad) and contain germline mutations of NF1 or the genes coding for the succinate dehydrogenase subunits SDHA, SDHB, SDHC, and SDHD. GISTs are first and the most studied model for development of principles and methods of personalized targeted therapy of solid tumors with tyrosine kinase inhibitors.

Key words: gastrointestinal stromal tumors, mutations, KIT, PDGFRA, BRAF, SDH, targeted therapy, tyrosine kinase inhibitors, imatinib

Введение

Гастроинтестинальные стромальные опухоли (ГИСО, gastrointestinal stromal tumors, GIST) — наиболее распространенная группа (80 %) мезенхимальных опухолей желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). В мире ГИСО ежегодно выявляется у 12–15 человек на 1 млн населения [1, 2].

Термин «стромальные опухоли ЖКТ» предложен в 1983 г. для обозначения соединительнотканых опухолей с гладкомышечной и нейрогенной дифференцировкой [3]. Несмотря на определенные морфологические особенности, стромальные опухоли ЖКТ выделены в отдельную нозологическую группу только в 2002 г., после того как было установлено, что харак-

терная для ГИСО экспрессия маркера CD117 [4] является результатом активации протоонкогена KIT за счет мутации [5]. Иммуногистохимическое (ИГХ) определение маркера CD117 (KIT) стало необходимым диагностическим тестом, позволяющим отличить ГИСО от других мезенхимальных опухолей ЖКТ — лейомиом, лейомиосарком, шванном, десмоидов и др. [4, 6].

Стромальные опухоли ЖКТ возникают из предшественников интерстициальных клеток Кахалы, регулирующих перистальтику ЖКТ (открыты в 1911 г. испанским патологом С. Р. Кахалем, лауреатом Нобелевской премии 1906 г.) [7]. В интерстициальных клетках Кахалы и окружающей строме находят мутации KIT [8]. Сегодня ГИСО рассматривают как отдельную

группу сарком, которая имеет особые клинико-морфологические, ИГХ- и молекулярные характеристики, а также профиль клинического поведения, отличный от истинных гладкомышечных и нейрогенных опухолей ЖКТ, что предполагает специальную стратегию их лечения [1, 2, 9–13].

Особый интерес к ГИСО связан с тем, что они считаются первым примером успешной таргетной терапии солидных опухолей ингибиторами тирозинкиназ (ТК). Первый ингибитор ТК, иматиниба мезилат, был создан в 1999 г. для ингибирования слитного продукта киназы BCR-ABL у больных хроническим миелолейкозом. В 2000 г., еще до окончания испытаний, иматиниб был успешно применен финскими врачами для лечения больной с метастатической стромальной опухолью с мутацией *KIT* [14]. С 2002 г. иматиниб (Гливек) разрешен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) к применению при стромальных опухолях ЖКТ [2, 9–11]. С тех пор ГИСО – наиболее изученная и удобная модель для отработки принципов и методов таргетной терапии, мишенями для которой являются различные ТК.

Клинико-морфологические особенности гастроинтестинальных стромальных опухолей

ГИСО – чрезвычайно гетерогенная группа опухолей, различающихся по локализации, размеру, гистологическому типу клеток, степени злокачественности, риску прогрессии и клиническому течению [1, 2, 9–13]. ГИСО может быть наследуемым заболеванием: в некоторых семьях с высокой частотой ГИСО выявлены герминальные мутации [15]. Встречаются ГИСО и у детей [16].

В США ежегодно выявляют 5–10 тыс. новых случаев ГИСО. Заболеваемость у мужчин в 1,5 раза выше, чем у женщин. Частота ГИСО у людей европеоидной расы в 2 раза ниже, чем у негроидной, и в 1,5 раза ниже, чем у представителей других рас. Средний возраст заболевших – 62,9 года [17]. В России частота ГИСО выше у женщин (57,5 %), средний возраст – 54,4 года [18].

Большинство (60–70 %) ГИСО локализируются в желудке, 20–30 % – в тонкой кишке, 5 % – в прямой кишке. Стромальные опухоли составляют до 94 % сарком желудка (менее 3 % всех опухолей желудка) и до 83 % сарком тонкой кишки. ГИСО также встречаются в брыжейке, сальнике, очень редко в пищеводе и экзогастрально (extragastrintestinal stromal tumor, EGIST) [1, 2, 9–13, 17–19]. ГИСО могут иметь веретеноклеточный, эпителиоидный или смешанный гистологический тип клеток [1, 2, 9–13, 17–19]. Частота веретеноклеточных опухолей в России ниже (57 %) [18, 19], чем в США (60–70 %) [2, 17]. До 20 % ГИСО бессимптомны и являются случайной находкой. Размер опухоли колеблется от 1–2 до 30 см, средний размер опухоли 5–8 см. Нередко выявляют небольшие, диаметром от нескольких миллиметров до 1–2 см,

хорошо ограниченные опухоли, окруженные тонкой псевдокапсулой [1, 9–11, 18–20]. Иногда стромальные опухоли желудка остаются нераспознанными при жизни человека (до 10 %) [21], на аутопсиях их обнаруживают с частотой 2 случая на 1000 вскрытий. В специальном исследовании микроскопические ГИСО были выявлены у 35 из 100 больных раком желудка [22]. Такие склерозирующие образования рассматривают как предопухольевые или как гиперплазии инстерстициальных клеток Кахала, в них находят мутации в 11-м экзоне *KIT*, характерные для ГИСО [21, 22].

Стромальные опухоли варьируют по степени злокачественности и риску прогрессии, даже небольшие «доброкачественные» опухоли могут прогрессировать. До 30 % пациентов при первичном выявлении ГИСО имеют инфильтраты либо метастазы, чаще всего в брюшной полости или печени, тогда как метастазы в лимфатических узлах встречаются редко, чаще у молодых пациентов [9, 11–13, 23]. Среди российских больных метастазы и рецидивы изначально выявлены в 37,5 % наблюдений, наличие других онкологических заболеваний отмечено у 9,2 % [18, 19].

Хирургическое вмешательство, проведенное как можно раньше, является наилучшим вариантом лечения локальных стромальных опухолей ЖКТ [2, 10–11, 17]. Однако даже после радикальной операции 5-летняя выживаемость составляет 54 %, а безрецидивная выживаемость – 45 %.

Существуют и используются несколько систем оценки риска прогрессии ГИСО. К морфологическим критериям прогноза для больных ГИСО относятся локализация, размер опухоли, степень злокачественности и число митозов в 50 полях зрения при 400-кратном увеличении [9, 24]. Благоприятный прогноз имеют опухоли размером ≤ 2 см либо опухоли желудка размером ≤ 5 см с митотическим индексом ≤ 5 в 50 полях зрения ($\leq 5/50$ HPF) [1, 9]. При локализации опухоли размером > 2 см с митотическим индексом > 5 в тонкой, прямой кишке, брыжейке или сальнике риск прогрессии высокий. Так, у опухолей тонкой кишки размером ≥ 10 см с митотическим индексом > 5 риск прогрессии приближается к 90 % [9, 23]. Предложена номограмма расчета прогноза ГИСО [24] и новая система TNM [23]. Гистологический тип клеток, наличие очагов некроза, пролиферативный индекс Ki-67, а также окрашивание с антителами к CD117, CD34 самостоятельными критериями прогноза не являются [18].

Молекулярные маркеры гастроинтестинальных стромальных опухолей

Клеточный ген *KIT* кодирует рецептор фактора роста стволовых клеток. Его вирусный аналог v -*KIT* выявлен в 1986 г. в составе острого трансформирующего вируса фибросаркомы кошек NZ4-FeSV (Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma virus) [25]. Рецептор *KIT* экспрессируется как в ряде нормальных тканей, так и в некоторых опухолях (глиомы, ангиосаркомы, се-

миномы/дисгерминомы, меланомы, мелкоклеточный рак легких и др.) за счет амплификации гена. Мутации *KIT* – характерная особенность именно стромальных опухолей ЖКТ [1]. В небольшом проценте случаев активирующие мутации *KIT* обнаружены у пациентов с мастоцитозом, острым миелобластным лейкозом, герминогенными семиномами, акральными, мукозальными или увеальными меланомами и другими редкими онкологическими заболеваниями [26]. В 2003 г. 2 группы исследователей независимо друг от друга установили, что 5–7 % стромальных опухолей ЖКТ с геном *KIT* дикого типа содержат мутацию в гомологичном гене *PDGFRA*, кодирующем альфа-рецептор тромбоцитарного фактора роста [27, 28]. В 10–15 % ГИСО содержатся гены *KIT* и *PDGFRA* дикого типа [1, 2, 29].

Экспрессия *KIT* наблюдается в 95 % ГИСО, и ИГХ-окрашивание антителами к антигену CD117 служит диагностическим маркером, позволяющим отличить ГИСО от других мезенхимальных опухолей ЖКТ. Однако 5 % ГИСО CD117-негативны, при этом содержат мутации *PDGFRA* или *KIT* (чаще в 11-м экзоне) [30]. Считают, что в этих ГИСО образуется небольшое количество мутантных молекул, которые достаточны для прогрессии, но не определяются антителами к CD117. В таком случае именно выявление мутации важно для подтверждения диагноза ГИСО [1, 2, 29].

Характерной для ГИСО считается экспрессия гена *DOG1* (11q13), кодирующего трансмембранный белок, связанный с транспортом ионов кальция. Иммунореактивность белка *DOG1* составляет 97,8 %, он более чувствительный и специфичный, чем CD117, и выявляется также в CD117-негативных опухолях с мутацией *PDGFRA* [31–33]. Показано, что утрата экспрессии *DOG1* связана с переходом от веретенчатого к эпителиоидному фенотипу стромальных опухолей желудка с мутациями *KIT* или *PDGFRA*, что подтверждает предположение, что фенотипическая гетерогенность ГИСО вторична [34].

Другой маркер ГИСО, PKC theta [35], менее специфичен, чем *DOG1*, но может быть полезен, особенно в CD117-негативных опухолях [33]. ГИСО обычно диагностируют с помощью ИГХ-метода с панелью маркеров, включающей CD117, CD34, *DOG1*, десмин, SMA и S-100. Диагноз устанавливается при положительном окрашивании CD117 и/или *DOG1*, десмина (+/–), SMA (–) и S-100 (–) [18].

Хромосомные и генетические нарушения

ГИСО представляют собой опухоли с несколькими молекулярными подтипами, а различные варианты мутаций *KIT* и *PDGFRA* являются маркерами биологического многообразия ГИСО. Дополнительно в патогенез ГИСО вовлечены другие гены [36]. Хромосомные aberrации включают утрату 1p, 13q, 14q или 15q, потерю гетерозиготности на 22q, многочисленные аллельные и микросателлитные нарушения. Рассма-

тривают 3 основных пути цитогенетической эволюции ГИСО: потери на 14q характерны для опухолей желудка с благоприятным прогнозом, на 1p – для опухолей тонкой кишки, делеции на 22q чаще встречаются в сочетании с потерей на 1p в опухолях с высоким митотическим индексом и рецидивами [37–39]. ГИСО с мутациями *PDGFRA* имеют такие же хромосомные нарушения (70 % потери на 14q, 28 % – на 1p и 17 % – на 22q), что и ГИСО с мутациями *KIT*, но для них характерна более низкая степень хромосомной нестабильности, что коррелирует с более благоприятным прогнозом [38, 40]. Потери на 9p и 13q и амплификации на 8q, 17q и 20q значительно чаще наблюдаются в злокачественных и/или метастатических ГИСО [37–41].

Молекулярно-генетические нарушения включают потерю гетерозиготности на 9p21 и нарушения экспрессии транскриптов гена *CDKN2A*: p16 (INK4A) и p14 (ARF), метилирование p15 (INK4B), которые выявлены суммарно в 54–68 % ГИСО [37, 42]. В 10 % ГИСО наблюдается гомозиготная делеция гена *Hox11L1*, который локализован на хромосоме 2 и играет роль в пролиферации интерстициальных клеток Кахала [43]. Амплификация генов *C-MYC*, *MDM2*, *EGFR1* и *CCND1* и высокая экспрессия матричная РНМ (мРНК) генов *CDK4*, *RB1*, *MDM2*, *TP53* и *E2F1* коррелирует с агрессивным поведением и неблагоприятным прогнозом ГИСО [36]. В частности, высокая экспрессия *E2F1* ассоциирована с количеством митозов, скоростью пролиферации, мутациями *KIT* и агрессивным поведением опухоли [36, 44]. Амплификация *MDM2* – редкое событие для ГИСО [45]. Хотя высокая экспрессия p53 (> 10 % позитивных клеток при ИГХ-анализе) выявлена в 35 % случаев ГИСО, она не коррелировала с клиническими показателями, за исключением размера первичной опухоли [45].

KIT и *PDGFRA* – молекулярно-генетические маркеры гастроинтестинальных стромальных опухолей

Мутации генов *KIT* и *PDGFRA* критичны для ГИСО, потому что коррелируют со специфической морфологией, гистологическим фенотипом, метастазированием, прогнозом, а также являются мишенью для таргетной терапии иматинибом и другими ингибиторами ТК. Есть несколько молекулярных классификаций ГИСО, в основе которых лежит мутантный статус опухоли (мутантные гены *KIT*, *PDGFRA* или дикого типа) и чувствительность к ингибитору ТК – иматиниба мезилату [1] либо мутантный статус и патогенез [23].

Гены *KIT* и *PDGFRA* высокомолекулярны, расположены на хромосоме 4q12, состоят из 21 и 22 экзонов соответственно и кодируют рецепторные ТК 3-го типа, которые отличаются наличием 2 ТК-доменов (TK1 и TK2). Первые 9 экзонов *KIT* кодируют 5 иммуноглобулин-подобных доменов, отвечающих за связывание с лигандом и димеризацию рецептора, 10-й экзон ко-

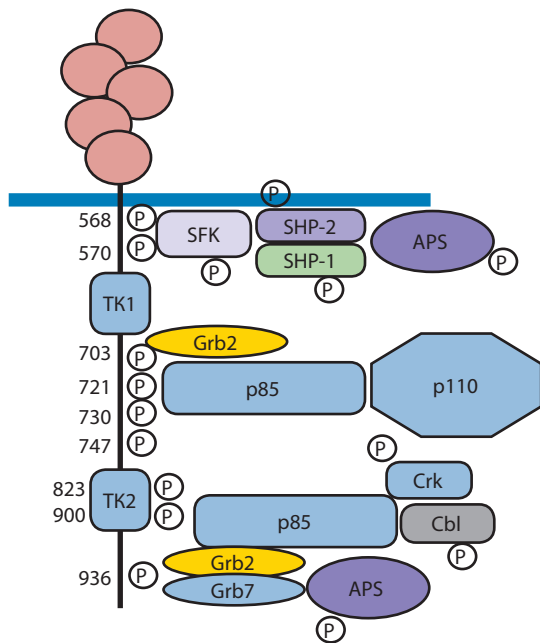


Рис. 1. Схема строения рецептора *KIT* и субстратных молекул [47]

дирует трансмембранный участок рецептора, 11-й экзон – регуляторный подмембранный домен, 13-й и 14-й экзоны – TK1, связывающий аденозинтрифосфат, затем идет так называемая киназная вставка (15-й и 16-й экзоны), 17-й и 18-й экзоны кодируют TK2, обладающий ТК-активностью [46, 47].

В норме димеризованный лиганд SCF, связываясь с молекулой рецептора *KIT*, приводит к его димеризации и последующей активации за счет аутофосфорилирования по остаткам тирозина Y568 и Y570 в регуляторном домене. Далее происходит фосфорилирование других

остатков тирозина во внутриклеточном участке рецептора *KIT* с передачей фосфата на различные субстратные молекулы, участвующие в передаче сигнала [47] (рис. 1).

Мутации в тех или иных участках приводят к лиганднезависимой активации рецепторных ТК *KIT* или *PDGFR-α* и активации сигнальных путей *RAS/MAPK*, *PI3K/AKT* и *JAK/STAT* [47], что вызывает активацию клеточного цикла, пролиферацию и подавление апоптоза (рис. 2).

Изучение мутантного статуса *KIT* и *PDGFRA* в ГИСО показало, что мутации:

- позволяют подтвердить диагноз в трудных случаях;
- являются мишенью для таргетных препаратов;
- предсказывают ответ на таргетную терапию;
- определяют устойчивость к терапии (верно для вторичных мутаций);
- имеют прогностическое значение;
- важны для назначения адъювантной терапии.

Мутации гена *KIT*

Всего в ГИСО описана 301 мутация *KIT* [48]. По данным С.Л. Corless и М.С. Heinrich, полученным при исследовании более 2000 пациентов, 78,5 % ГИСО имеют мутации гена *KIT*, 7,5 % – гена *PDGFRA*, а 14 % ГИСО содержат *KIT* и *PDGFRA* дикого типа [1]. Мутации *KIT* и *PDGFRA* – взаимоисключающие. Нами при изучении 312 ГИСО мутации *KIT* обнаружены в 73,1 % случаев, мутации *PDGFRA* – в 12,5 %, и 14,4 % ГИСО имели гены *KIT* и *PDGFRA* дикого типа [49–51].

Стромальные опухоли ЖКТ с различными мутантными формами белка *KIT* отличаются по механизму активации. В спорадических ГИСО наиболее часто мутации *KIT* возникают в 11-м экзоне (65–67 %), ко-

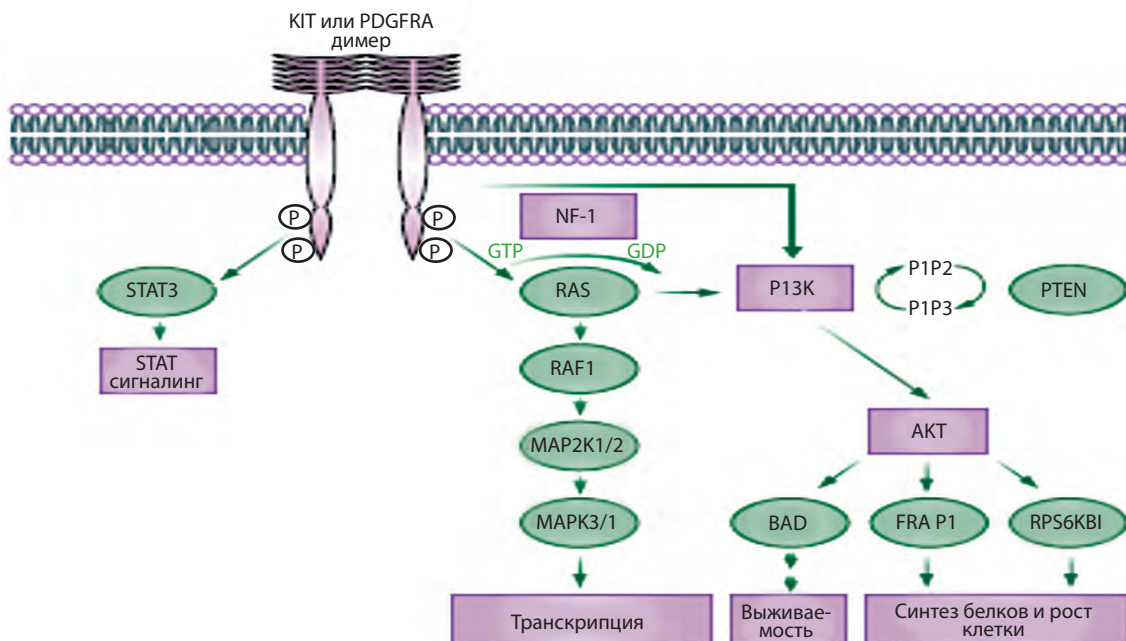


Рис. 2. Основные сигнальные пути в ГИСО [10]

дирующем регуляторный подмембранный домен, и 9-м экзоне (10 %), кодирующем внеклеточный домен рецептора, тогда как 65 % мутаций в гене *PDGFRA* затрагивают 18-й экзон, кодирующий ТК2.

Мутации в 11-м экзоне *KIT* приводят к постоянной активации рецептора КИТ и встречаются в опухолях различной локализации, гистологического типа и клинической картины [1, 29, 48–51]. Чаще всего это делеции или делеции с заменами разного размера без сдвига рамки считывания в районе кодонов 550–563 на 5'-конце 11-го экзона, кодирующем фрагмент белка, который обеспечивает ингибирование аутофосфорилирования рецептора в отсутствие лиганда [52]. К наиболее частым относятся мутации кодонов W557 и/или K558, именно делеция W557-K558 коррелирует с высокой скоростью прогрессирования опухоли и метастазированием [53]. Делеции могут затрагивать акцепторные сайты сплайсинга в 10-м интроне – 11-м экзоне *KIT*, делеции на белковом уровне K550-K558 затрагивают акцепторные сайты сплайсинга на 3'-конце пре-мРНК [54, 55] и вызывают постоянное фосфорилирование ТК КИТ.

Другой тип мутации в 11-м экзоне *KIT* – крупные делеции (delTyr), включающие сайты аутофосфорилирования Y568 и/или Y570 [41, 49, 50, 56]. Установлено, что делеция W557-K558 чаще встречается в опухолях желудка (75 %), тогда как опухоли с delTyr чаще поражают кишечник (70 %). ГИСО с delTyr в 11-м экзоне *KIT* независимо от локализации отличаются неблагоприятным прогнозом после хирургического лечения и терапии иматинибом [56]. При сравнении выживаемости пациентов с ГИСО без терапии иматинибом выживаемость больных с мутациями delTyr оказалась хуже, чем с делециями или другими мутациями 11-го экзона *KIT* [50, 51].

В 12–15 % ГИСО имеются точечные замены (миссенс-мутации) в строго определенных сайтах в 11-м экзоне (W557R, V559D/A/G/I, V560D, L576P), и такие ГИСО отличаются относительно низким риском прогрессии. Некоторые из этих мутаций обнаруживают в редких семейных случаях ГИСО, т.е. эти мутации могут быть герминальными [15].

Мутации на 3'-конце 11-го экзона *KIT* встречаются реже, примерно 8 % ГИСО имеют дупликации 2–18 кодонов. Эти стромальные опухоли имеют благоприятный прогноз, чаще встречаются в желудке, преимущественно у женщин старшего возраста и обычно не имеют метастазов [1, 29, 50, 51]. Кроме того, на 3'-конце 11-го экзона гена *KIT* чаще других встречается замена L576P и очень редко делеция (del D579).

Вставки в 11-м экзоне *KIT* очень редки и обнаружены только в положении K558, вставка 3 нуклеотидов приводит к замене K558 на аминокислоты DP или реже на NQ, что является причиной конститутивного фосфорилирования рецептора КИТ [29].

Сложные делеции-вставки и дупликации-вставки – относительно редкие мутации 11-го экзона *KIT*,

они включают от 1 до нескольких делеций или дупликаций, сосуществующих с маленькими вставками. В 11-м и 9-м экзонах *KIT* также обнаружены уникальные делеции, осложненные вставками комплементарно-инвертированных ДНК-последовательностей, так называемые делеции – инверсии (delinv) [57].

Первично-множественные ГИСО с разными мутациями в гене *KIT* могут быть поликлональны: в 2 опухолях в сальнике выявлены делеция кодонов M552-K558 и точечная замена V559D в 11-м экзоне [58].

В 9–10 % ГИСО, чаще всего агрессивных стромальных опухолях тонкой кишки веретенноклеточного строения, обнаружены мутации в 9-м экзоне *KIT*. Мутации представлены преимущественно дупликацией кодонов A502-Y503, F506-F508 [1, 2, 29, 48–51]. Недавно в 2 ГИСО обнаружена дупликация S501-A502, ранее описанная у детей с мастоцитозом или при лейкозе тучных клеток. ГИСО с дупликацией S501-A502 более чувствительны к иматинибу и нилотинибу, чем опухоли с дупликацией A502-Y503 [59].

Хотя мутации в 9-м экзоне *KIT* характерны для опухолей тонкой кишки, мы обнаружили дупликацию A502-Y503 в опухоли желудка, причем заболевание протекало менее агрессивно, чем ГИСО тонкой кишки [49–51]. Недавно эти данные подтверждены при исследовании более 1500 пациентов: мутации в 9-м экзоне *KIT* выявлены в 9 % ГИСО, при этом 20 % опухолей с мутациями в 9-м экзоне были локализованы в желудке и прямой кишке, описаны 3 новые мутации [60].

ГИСО с первичными мутациями в 13-м или 17-м экзонах (ТК1 и ТК2 домены *KIT*) очень редки (1–2 %), при этом более агрессивны стромальные опухоли желудка, чем тонкой кишки [29, 61]. Чаще всего встречается замена K642E, которая может быть герминальной [62]. ГИСО с мутацией K642E – редкое аутосомно-доминантное заболевание. Описаны случаи ГИСО с двойной мутацией K642E и V643I и случай множественной ГИСО с этой мутацией [62]. У пациентов из Азии выявлены уникальные мутации в 13-м экзоне *KIT*: E635K, L641P, V643A, L647P, M651V и N655K [63, 64]. Мутации K642E и N655K приводят к конститутивному фосфорилированию ТК КИТ и отвечают за чувствительность к иматинибу [65]. Нами впервые в ГИСО желудка выявлена мутация T632A [51].

Мутации в 17-м экзоне *KIT* встречаются не более чем в 1 % случаев первичных ГИСО, чаще всего выявляется замена N822K [61].

Обычно в стромальных опухолях присутствуют гетерозиготные мутации, однако гомозиготные мутации встречаются в 8–15 % опухолей, ассоциированы со злокачественной прогрессией и являются неблагоприятным прогностическим признаком [66].

Мутации гена *PDGFRA*

Мутации в гене *PDGFRA* первоначально описаны в 5–8 % стромальных опухолей ЖКТ с эпителиоид-

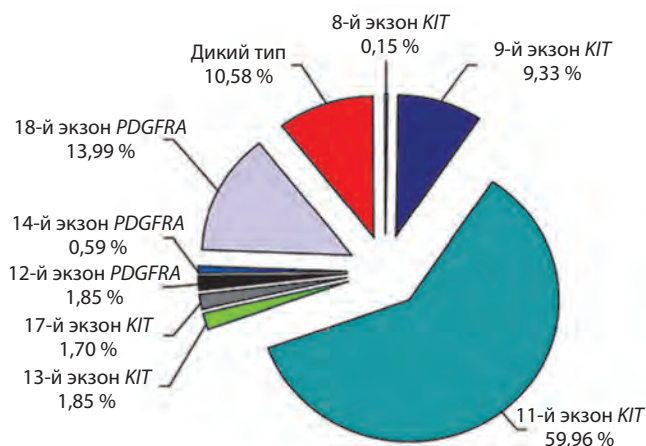


Рис. 3. Частота мутаций *KIT* и *PDGFRA* в 1351 ГИСО [69]

ным или смешанным типом клеток, локализованных в желудке, брыжейке или сальнике [27–29, 67]. Частота мутаций *PDGFRA* в ГИСО варьирует от 1 % на Тайване [36] до 16,4 % в Германии [68], что, очевидно, связано с частотой встречаемости опухолей желудка и этническими особенностями. Мутации *PDGFRA* выявлены в 9–10 % ГИСО у российских больных [49–51]. Всего описано 60 типов мутаций в 18-м экзоне *PDGFRA* [68]. На рис. 3 представлена частота мутаций *KIT* и *PDGFRA* в 1351 ГИСО у пациентов из регистра Бонна–Кельна (Германия) [69].

Наиболее распространены мутации в 18-м экзоне *PDGFRA*, кодирующем ТК-домен рецептора [29, 49, 68]. Чаще всего в 5 % ГИСО выявляют миссенс-мутацию D842V в 18-м экзоне, которая обеспечивает устойчивость к терапии иматинибом. Эта мутация составляет до 80 % всех мутаций в 18-м экзоне, реже встречаются делеции D842-N845 либо I843-D846, точечные замены Y849 и другие мутации. В российской популяции мутация D842V также встречается в 5 % ГИСО, но составляет только половину от всех мутаций 18-го экзона [49–51]. В 1–2 % ГИСО выявляют мутации в 12-м экзоне, кодирующем регуляторный домен PDGFR- α , наиболее распространена мутация V561D, которая является герминальной. Частота мутации в 14-м экзоне *PDGFRA* составляет менее 1 % ГИСО.

Установлено, что в то время как фосфорилированный рецептор PDGFR- α дикого типа активирует сигнальные пути PI3K-АКТ, MAPK (ERK 1/2) и PLC- γ [47], мутантные PDGFR- α рецепторы (V561D и D842Y) могут также активировать транскрипционные факторы STAT – STAT1, STAT3 и STAT5, при этом изменяется локализация рецептора – он локализуется внутри клетки на эндоплазматическом ретикулуме [70].

При семейном синдроме ГИСО у человека наследственные мутации *KIT* или *PDGFRA* схожи с мутациями, найденными в спорадических ГИСО. Это точечные замены W557R, V559A, V560G, делеции V560, D579 и дупликации Q575-L576 в подмембранном домене *KIT* [15]. Мутация L576P также является герми-

нальной и встречается у пациентов с синдромом семейного ГИСО [71]. Описаны наследственные мутации в ТК-доменах *KIT* (K642E и N820Y) [65, 72] и *PDGFRA* (Y555C и V561D) [68]. Опухоли с мутацией K642E чувствительны к иматинибу [63]. Делеция D419 в 8-м экзоне *KIT* впервые была описана как герминальная мутация, однако недавно выявлена в спорадических опухолях – в 1,4 % случаях ГИСО, которые относили к дикому типу [69].

Прогностическое значение мутаций *KIT* и *PDGFRA*

Тип мутации коррелирует с выживаемостью после хирургического лечения ГИСО в отсутствие таргетной терапии. Изучение прогностической роли мутаций проводится до начала таргетной терапии, либо как ретроспективное, либо при изучении контрольных групп пациентов, получавших плацебо [73]. У пациентов с мутациями *PDGFRA* выживаемость выше, чем у пациентов с мутациями *KIT* [1, 49, 50, 74, 75]. Точечные мутации и дупликации в 11-м экзоне *KIT* коррелируют с менее агрессивным поведением ГИСО, так же как и опухоли с мутациями *PDGFRA*. Опухоли с делециями 11-го экзона и мутациями 9-го экзона *KIT* отличаются быстрым прогрессированием и неблагоприятным прогнозом [49, 50, 74]. Французские исследователи обнаружили 138 различных мутаций *KIT* (71 %) и *PDGFRA* (15 %) при анализе 492 ГИСО, однако среди метастатических опухолей мутации *KIT* и *PDGFRA* выявлены в 82,8 и 2,1 % соответственно ($p < 0,0001$). Мутации в 18-м экзоне *PDGFRA* и замены в 11-м экзоне *KIT* (W557R и V559D) чаще выявлялись у пациентов с локализованными ГИСО, тогда как дупликации в 9-м экзоне *KIT* и делеции W557-V559 в 11-м экзоне были характерны для метастатических ГИСО [74].

Результаты мультицентрового европейского исследования (Contica GIST) 5-летней безрецидивной выживаемости 1054 пациентов с ГИСО представили убедительные доказательства независимой прогностической роли мутаций [75]. Показано, что негативный прогноз связан с размером опухоли ≥ 10 см, наличием ≥ 10 метастазов в 50 полях зрения и наличием мутации в 9-м экзоне ($p = 0,037$) или делеции в 11-м экзоне, затрагивающей кодоны W557-K558 ($p = 0,004$), причем негативный прогноз при мутациях в 11-м экзоне был важен только для опухолей желудка ($p = 0,001$), но не для ГИСО другой локализации, тогда как мутации *PDGFRA* были индикатором лучшего прогноза ГИСО ($p = 0,002$).

В то же время в крупном американском ACOSOG Z9001 и немецко-скандинавском исследованиях такие результаты не получены [76]. Поэтому вопрос о прогностической значимости мутаций *KIT* и *PDGFRA* и возможном включении данных анализа мутаций в качестве дополнительного прогностического фактора активно обсуждается, но официально фактором прогноза ГИСО мутации на сегодня не признаны.

Гастроинтестинальные стромальные опухоли с *KIT* и *PDGFRA* дикого типа

В 10–15 % ГИСО содержатся гены *KIT* и *PDGFRA* дикого типа, но они экспрессируют CD117 или DOG1 [1, 2, 29]. Эта группа опухолей также гетерогенна, они встречаются у взрослых, детей, пациентов с наследственными синдромами и первично-множественными опухолями: нейрофиброматозом, триадой Карнея.

В 7 % ГИСО с *KIT* и *PDGFRA* дикого типа обнаружена мутация серин-треониновой киназы BRAF V600E и имеет место активация сигнального пути RAS-МАРК [77]. Все случаи ГИСО с мутацией BRAF представляли собой высокозлокачественные стромальные опухоли тонкой кишки у женщин в возрасте 49–55 лет. Впервые ингибирование BRAF-положительной ГИСО получено при использовании ингибитора BRAF дабрафениба у пациента с мутацией V600E [78]. Однако через 6 мес появилась устойчивость к препарату, которую связывают с мутацией PIK3CA (H1047R) и нарушениями *CDKN2A*, что было установлено при полноэкзомном секвенировании [78].

Онкогенными «драйверами» ГИСО с *KIT* и *PDGFRA* дикого типа также могут быть гены *IGF1R* (при его мутации или амплификации) [79] и *PIK3CA* [80].

Другая группа ГИСО с *KIT* и *PDGFRA* дикого типа представляет собой наследственные синдромы. Ауто-сомно-доминантно наследуемый нейрофиброматоз 1-го типа преимущественно поражает тонкую кишку [81, 82]. Пациенты с синдромом Карнея–Стратакиса (чаще молодые женщины) страдают от ГИСО желудка и параганглиом, а при триаде Карнея еще и от хондром легкого [83]. Было показано, что герминальные мутации в генах сукцинатдегидрогеназы (*SDH*) (*SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*) характерны не только для больных с наследственной параганглиомой или феохромоцитомой, но и для пациентов с ГИСО с параганглиомой, или синдромом Карнея–Стратакиса, или триадой Карнея [84].

ГИСО у детей чаще возникают у девушек 12–19 лет, имеют эпителиоидный фенотип и могут быть мультифокальны, 85 % содержат гены *KIT* и *PDGFRA* дикого типа и у некоторых имеется дефицит [85].

Большинство больных ГИСО дикого типа отличаются низкой экспрессией *SDH* за счет инактивирующих мутаций в генах, кодирующих субъединицы комплекса *SDH* (*SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*) [86, 87]. Инактивация субъединиц *SDH* ведет к активации сигнальных путей, связанных с гипоксией и ангиогенезом. В опухолях с дефицитом *SDH* активируется транскрипционный фактор HIF, повышающий экспрессию фактора роста эндотелия сосудов VEGF, что ведет к пролиферации и ангиогенезу в условиях псевдогипоксии [85]. Мутации *SDHA* и *SDHB* могут быть герминальными при синдроме Карнея–Стратакиса или спорадическими [85–89]. Наиболее часто в *SDHA*-дефицитных ГИСО встречаются мутации *SDHA*, в частности герминальная мутация *SDHA* (R31X

на уровне белка), в результате которой прерывается синтез белка [89], что вызывает нарушения в комплексе транспорта электронов. Выявлены также новые мутации Q54X, T267M и кодон 1663+3G>C [87]. Установлено, что в опухолях с мутацией *SDHA* снижена экспрессия как *SDHA*, так и *SDHB* [88].

Таким образом, группа пациентов с *KIT* и *PDGFRA* дикого типа гетерогенна и требует специального подхода при оказании терапевтической помощи. Выявление типа и локализации мутаций в генах *KIT* и *PDGFRA*, а также в ГИСО дикого типа необходимо для уточнения диагноза, оценки прогноза и выбора препаратов индивидуализированной таргетной терапии.

KIT и *PDGFR A* – мишени таргетной терапии гастроинтестинальных стромальных опухолей

Открытие мутаций в рецепторах *KIT* и *PDGFR-α* по времени совпало с созданием ингибиторов ТК, что привело к значительным успехам в терапии на основе новых молекулярно-направленных (таргетных) препаратов – иматиниба мезилата (Гливек), сунитиниба (Сутент) и др. При применении иматиниба установлено, что индивидуальный ответ на тот или иной препарат зависит от типа мутации и дозы препарата. Положительный ответ у больных с метастатическими или неоперабельными ГИСО наблюдали уже через 13 нед после начала лечения иматинибом; если эффекта не было, то через 6 мес лечение прекращали. Ответ на иматиниб (400 мг/сут) наблюдали у 80 % пациентов с ГИСО с мутациями в 11-м экзоне *KIT* и у 50 % – с мутациями в 9-м экзоне, что привело к увеличению дозы иматиниба для ГИСО при мутации в 9-м экзоне до 800 мг/сут [90]. Если до эры иматиниба средняя продолжительность жизни пациентов с метастатическим ГИСО была 19 мес, то после назначения иматиниба период до прогрессирования составил 26 мес, а общая выживаемость – 60 мес [91, 92].

Устойчивостью к иматинибу обладают редкие опухоли с первичными мутациями в ТК-доменах рецептора *KIT* (13-й и 17-й экзоны), однако ГИСО с мутацией в 13-м экзоне *KIT* K642E (наследственной или спорадической) в 90 % случаев отвечают на иматиниб [56]. Наиболее яркий пример устойчивости к иматинибу – опухоли с мутацией D842V в 18-м экзоне *PDGFRA*, тогда как ГИСО с делециями в 18-м экзоне *PDGFRA*, а также с мутацией V561D в 12-м экзоне чувствительны [1, 27]. Объективный ответ на иматиниб отмечен у 23–40 % больных ГИСО с диким типом *KIT* и *PDGFRA*. Таким образом, мутации ТК *KIT* и *PDGFR-α* в ГИСО имеют предиктивное значение.

На основании данных молекулярного анализа и результатов изучения ответа на таргетную терапию иматинибом была предложена молекулярная классификация ГИСО [1]. ГИСО с мутациями в 11-м экзоне *KIT* наиболее чувствительны к ингибирующему действию иматиниба, однако степень чувствительности

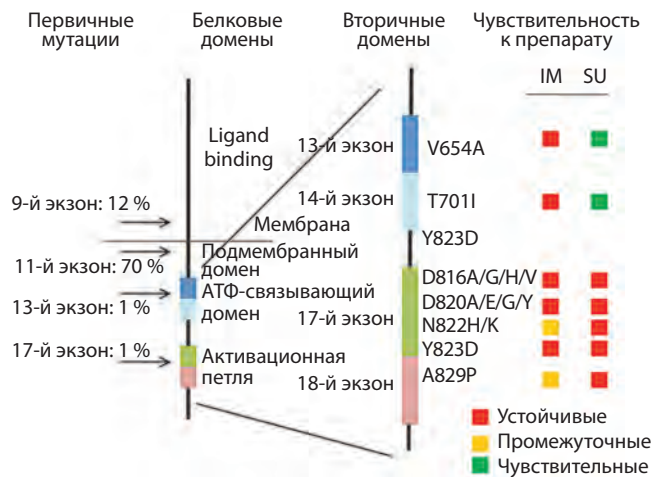


Рис. 4. Чувствительность вторичных мутаций в гене *KIT* к тирозинкиназным ингибиторам иматинибу и сунитинибу [96]

варьирует в зависимости от типа мутации. Так, ГИСО с мутацией L576P в 11-м экзоне имеет минимальную чувствительность к иматинибу по сравнению с другими мутациями 11-го экзона [93], причем это было предсказано *in silico*. Ингибирующее действие иматиниба может отличаться для мутаций, затрагивающих один и тот же кодон. В исследовании *in vitro* показано, что при редкой мутации V559I активированный рецептор *KIT* резистентен к иматинибу в противоположность распространенной мутации V559D [94].

В среднем через 24 мес (6–31 мес) после начала лечения более чем у 60 % пациентов с метастатическими ГИСО, содержащими мутацию в 11-м или 9-м экзоне гена *KIT*, появляется устойчивость к иматинибу [95, 96]. В первую очередь это связано с появлением вторичных мутаций в 13-, 14- и 17-м экзонах гена *KIT*, кодирующих ТК-домены рецептора *KIT*, либо в 15-м или 16-м экзонах, кодирующих ТК-вставку (рис. 4).

Чаще всего встречаются мутации *KIT* V654A (13-й экзон), T670I (14-й экзон), D816A/G/H/V, N822H/K, Y823D (17-й экзон), причем мутация V654A менее устойчива к иматинибу, чем T670I [63, 65]. Вторичные мутации очень редко возникают у пациентов с мутациями *PDGFRA* и не появляются у больных ГИСО с диким типом *KIT* и *PDGFRA*.

Активность ингибиторов ТК *in vitro*

Препарат	<i>KIT</i> , 13-й экзон, V654A	<i>KIT</i> , 14-й экзон, T670I	<i>KIT</i> , 17-й экзон, D816V	<i>PDGFRA</i> , 18-й экзон, D842V
Иматиниб	Нет	Нет	Нет	Нет
Сунитиниб	Есть	Есть	Нет	Нет
Нилотиниб	Есть	Нет	–	Нет
Маситиниб	Есть	Некоторая	Нет	–
Десатиниб	Некоторая	Нет	–	Есть
Мидостаурин	Некоторая	Есть	Есть	Есть

Вторичные мутации появляются только в прогрессирующих опухолях [91, 95, 96]. Описаны случаи появления 2–5 разных мутаций в метастазах у 1 больного, а также 2 мутаций одновременно в одном и том же метастазе, что позволило сделать важный вывод о гетерогенности и поликлональности ГИСО [97, 98].

Феномен вторичной устойчивости к ТК-ингибиторам, обнаруженный и изученный на модели ГИСО, позже был подтвержден для рецептора EGFR (мутация T709M) при мелкоклеточном раке легкого [99] и киназы BCR-ABL при хроническом миелоидном лейкозе (мутация T351I) [100].

Кроме вторичных мутаций *KIT* устойчивость к действию иматиниба может быть связана с активацией альтернативных сигнальных путей, таких как АКТ/mTOR, активацией альтернативного ТК-рецептора (AXL) и утратой экспрессии рецептора *KIT*, амплификацией гена *KIT*.

Поиск новых ТК-ингибиторов, вызванный наличием первичной или приобретением вторичной устойчивости ГИСО к иматинибу, привел к созданию таких препаратов, как сунитиниб (Сутент), нилотиниб (Тасигна), десатиниб (Спрайцел), сорафениб (Нексавар), маситиниб, регорафениб и креноланиб. Чувствительность к этим препаратам строго коррелирует с типом первичной или вторичной мутации, и генотипирование ГИСО необходимо для выбора препарата для таргетной терапии. В таблице отражена активность ТК-ингибиторов *in vitro* на культурах клеток с мутациями *KIT* или *PDGFRA*, устойчивых к иматинибу.

Сунитиниб с 2006 г. является лицензированным препаратом 2-й линии терапии ГИСО [101–104]. Он обладает активностью против ТК-рецепторов 3-го типа (*KIT*, *PDGFR-α*, *PDGFR-β*), а также антиангиогенными свойствами (подавляет VEGFR1, 2 и 3). В 1-й линии сунитиниб более эффективен в ингибировании ГИСО с мутацией в 9-м экзоне *KIT* и ГИСО дикого типа, чем с мутацией в 11-м экзоне *KIT*. Кроме того, сунитиниб более эффективен в ингибировании ГИСО с вторичными мутациями в 13-м и 14-м экзонах *KIT*, чем в 17-м экзоне. Напротив, нилотиниб более эффективно подавляет фосфорилирование *KIT* с вторичными мутациями в 17-м экзоне *KIT*, чем сунитиниб [105],

в то же время нилотиниб не может быть рекомендован в 1-й линии вместо иматиниба для лечения неоперабельных и метастатических ГИСО [106]. Однако в процессе лечения сунитинибом также развиваются вторичные мутации, вызывающие резистентность к препарату (см. рис. 4) [103, 104]. Эти препараты также могут быть более активны, чем иматиниб, при лечении ГИСО дикого типа [107, 108].

Все указанные препараты прошли тестирование в терапии 1-й линии либо в комбинированной терапии с иматинибом в рандомизированных исследованиях у больных ГИСО [104]. Так, после появления через 6 мес мутации в 17-м экзоне и устойчивости к иматинибу была назначена комбинация сорафениба и иматиниба, которая оказалась эффективной в течение 2 лет [109]. Регорафениб был эффективен при назначении в 3-й линии терапии после прогрессирования на фоне иматиниба и сунитиниба [110, 111].

Вопрос о прогностической значимости мутаций связан с вопросом об адъювантной терапии. Рекомендовано проводить адъювантную терапию иматинибом взрослым пациентам только при значительном риске прогрессии (среднем или высоком) [112]. При назначении адъювантной терапии необходимо проводить оценку риска прогрессии с учетом не только локализации, размера, митотического индекса, но и типа мутации. Нецелесообразно назначать адъювантную терапию при наличии мутации D842V в гене *PDGFRA* и при ГИСО с *KIT* и *PDGFRA* дикого типа,

в частности у больных с нейрофиброматозом или триадой Карнея. Также не выявлены преимущества адъювантной терапии у больных ГИСО с мутацией в 9-м экзоне гена *KIT*. Согласно исследованию 317 пациентов, получавших иматиниб в течение 1 года после операции, и 328 пациентов с плацебо, адъювантная терапия иматинибом, скорее всего, не изменяет общую выживаемость [76]. При этом терапия иматинибом была ассоциирована с высокой безрецидивной выживаемостью только у пациентов с различными делециями в 11-м экзоне *KIT*, но не с точечными заменами или вставками в 11-м экзоне *KIT*, мутациями в 9-м экзоне *KIT*, мутациями *PDGFRA* или ГИСО дикого типа. В 2015 г. опубликованы результаты изучения последствий назначения адъювантной терапии пациентам с ГИСО после операции в 2008 г., при этом учитывали риск прогрессии и возраст [113]. Показано, что 30 % пациентов с низким риском получили адъювантную терапию избыточно, тогда как 26–40 % пациентов с высоким риском недополучили ее. Несомненно, трудно предвидеть результаты заранее, но следует отметить, что в этой работе при назначении адъювантной терапии не указано, принимали ли во внимание результаты генетического анализа.

Таким образом, выявление типа и локализации мутаций в генах *KIT* и *PDGFRA* в ГИСО необходимо для уточнения диагноза, оценки прогноза и выбора препаратов индивидуализированной таргетной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

- Corless C.L., Heinrich M.C. Molecular pathobiology of gastrointestinal stromal sarcomas. *Annu Rev Pathol* 2008;3:557–86.
- Joensuu H., Hohenberger P., Corless C.L. Gastrointestinal stromal tumour. *Lancet* 2013;382(9896):973–83.
- Mazur M.T., Clark H.B. Gastric stromal tumors: Reappraisal of histogenesis. *Am J Surg Pathol* 1983;7(6):507–19.
- Sarlomo-Rikala M., Kovatich A.J., Barusevicius A., Miettinen M. CD117: a sensitive marker for gastrointestinal stromal tumors that is more specific than CD34. *Mod Pathol* 1998;11(8):728–34.
- Hirota S., Isozaki K., Moriyama Y. et al. Gain of function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998;279(5350):577–80.
- Hasegawa T., Matsuno Y., Shimoda T., Hirohashi S. Gastrointestinal stromal tumor: consistent CD117 immunostaining for diagnosis, and prognostic classification based on tumor size and MIB-1 grade. *Hum Pathol* 2002;33(6):669–76.
- Sircar K., Hewlett B.R., Huizinga J.D. et al. Interstitial cells of Cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol* 1999;23(4):377–89.
- Ogasawara N., Tsukamoto T., Inada K. et al. Frequent c-KIT gene mutations not only in gastrointestinal stromal tumors but also in interstitial cells of Cajal in surrounding normal mucosa. *Cancer Lett* 2005;230(2):199–210.
- Miettinen M., Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: pathology and prognosis at different sites. *Semin Diagn Pathol* 2006;23(2):70–83.
- Rubin B.P., Heinrich M.C., Corless C.L. Gastrointestinal stromal tumour. *Lancet* 2007;369(9574):1731–41.
- Casali P.G., Blay J.Y. Gastrointestinal stromal tumors: ESMO Clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010;Suppl 5: v98–102.
- Снигур П.В., Анурова О.А., Петровичев Н.Н., Сельчук В.Ю. Клинико-морфологические особенности стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта. *Вопросы онкологии* 2003;49 (6): 705–10. [Snigur P.V., Anurova O.A., Petrovichev N.N., Selchuk V.Yu. Clinical and morphological peculiarities of gastrointestinal stromal tumors. *Voprosy onkologii = Oncology Issues* 2003;49(6):705–10. (In Russ.)].
- Стилиди И.С., Архири П.П., Анурова О.А., Мазуренко Н.Н. Стромальные опухоли желудочно-кишечного тракта: клинико-морфологические особенности, патогенез и современные подходы к лечению. *Вестник Российской академии медицинских наук* 2010;2:46–52. [Stilidi I.S., Arkhiri P.P., Anurova O.A., Mazurenko N.N. Gastrointestinal stromal tumors: clinical and morphological peculiarities, pathogenesis, and modern approaches to treatment. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Herald of the Russian Academy of Medical Sciences* 2010;2:46–52. (In Russ.)].
- Joensuu H., Roberts P.J., 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(14):1052–56.
- Postow M.A., Robson M.E. Inherited gastrointestinal stromal tumor syndromes:

- mutations, clinical features, and therapeutic implications. *Clin Sarcoma Res* 2012;2(1):16–16. Janeway K.A., Albritton K.H., Van Den Abbeele A.D. et al. Sunitinib treatment in pediatric patients with advanced GIST following failure of imatinib. *Pediatr Blood Cancer* 2009;52(7):767–71.
17. Bennett J.J., Rubino M.S. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach. *Surg Oncol Clin N Am* 2012;21(1):21–33.
18. Цыганова И.В., Анурова О.А., Мазуренко Н.Н. Морфологические особенности и критерии прогноза стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта. *Архив патологии* 2011;73(6):37–42. [Tsyganova I.V., Anurova O.A., Mazurenko N.N. Morphological peculiarities and prognosis criteria of gastrointestinal stromal tumors. *Arkhiv patologii = Pathology Archive* 2011; 73 (6):37–42. (In Russ.)].
19. Анурова О.А., Снигур П.В., Филиппова Н.А., Сельчук В.Ю. Морфологическая характеристика стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта. *Архив патологии* 2006;1(68):10–13. [Anurova O.A., Snigur P.V., Filippova N.A., Selchuk V.Yu. Morphological characteristics of gastrointestinal stromal tumors. *Arkhiv patologii = Pathology Archive* 2006;1(68): 10–13. (In Russ.)].
20. Rammohan A., Sathyanesan J., Rajendran K. et al. A gist of gastrointestinal stromal tumors: a review. *World J Gastrointest Oncol* 2013;5(6):102–12.
21. Agaimy A., Wunsch P.H., 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(1):113–20.
22. Kawanawa K., Sakuma Y., Sakurai S. et al. High incidence of microscopic gastrointestinal stromal tumors in the stomach. *Hum Pathol* 2006;37(12):1527–35.
23. Agaimy A. Gastrointestinal stromal tumors (GIST) from risk stratification systems to the new TNM proposal: more questions than answers? A review emphasizing the need for a standardized GIST reporting. *Int J Clin Exp Pathol* 2010;3(5):461–71.
24. Gold J.S., Gönen M., Gutiérrez A. et al. Development and validation of a prognostic nomogram for recurrence-free survival after complete surgical resection of localised primary gastrointestinal stromal tumour: a retrospective analysis. *Lancet Oncol* 2009;10(11):1045–52.
25. Besmer P., Murphy J.E., George P.C. et al. A new acute transforming feline retrovirus and relationship of its oncogene v-kit with the protein kinase gene family. *Nature* 1986;320(6061):415–21.
26. Beadling C., Jacobson-Dunlop E., Hodi F.S. et al. KIT gene mutations and copy number in melanoma subtypes. *Clin Cancer Res* 2008;14(21):6821–8.
27. Heinrich M.C., Corless C.L., Duensing A. et al. PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science* 2003;299(5607):708–10.
28. 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;25(3):660–7.
29. Lasota J., Miettinen M. KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *Semin Diagn Pathol* 2006;23(2):91–102.
30. Medeiros F., Corless C.L., Duensing A. et al. KIT-negative gastrointestinal stromal tumors: proof of concept and therapeutic implications. *Am J Surg Pathol* 2004;28(7):889–94.
31. West R.B., Corless C.L., Chen X. et al. The novel marker, DOG1, is expressed ubiquitously in gastrointestinal stromal tumors irrespective of KIT or PDGFR- α mutation status. *Am J Pathol* 2004;165(1):107–13.
32. Espinosa I., Lee C.H., Kim M.K. et al. A novel monoclonal antibody against DOG1 is a sensitive and specific marker for gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol* 2008;32(2):210–8.
33. Wang C., Jin M.S., Zou Y.B. et al. Diagnostic significance of DOG-1 and PKC- θ expression and c-Kit/PDGFR mutations in gastrointestinal stromal tumours. *Scand J Gastroenterol* 2013;48(9):1055–65.
34. Agaimy A., Wang L.M., Eck M. et al. Loss of DOG-1 expression associated with shift from spindle to epithelioid morphology in gastric gastrointestinal stromal tumors with KIT and platelet-derived growth factor receptor α mutations. *Ann Diagn Pathol* 2013;17(2):187–91.
35. Kim K.M., Kang D.W., Moon W.S. et al. PKC theta expression in gastrointestinal stromal tumor. *Mod Pathol* 2006;19(11): 1480–6.
36. Yang J., Du X., Lazar A.J. et al. Genetic aberrations of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer* 2008;113(7):1532–43.
37. Perrone F., Tamborini E., Dagrada G.P. et al. 9p21 locus analysis in high-risk gastrointestinal stromal tumors characterized for c-KIT and platelet-derived growth factor receptor alpha gene alterations. *Cancer* 2005;104(1):159–69.
38. Бардина Е.М., Беляков И.С., Цыганова И.В. и др. Генетические нарушения в стромальных опухолях ЖКТ. *Вопросы онкологии* 2009;55:5–6. [Bardina E.M., Belyakov I.S., Tsyganova I.V. et al. Genetic disorders in gastrointestinal stromal tumors. *Voprosy onkologii = Oncology Issues* 2009;55:5–6. (In Russ.)].
39. Gunawan B., von Heydebreck A., Sander B. et al. An oncogenetic tree model in gastrointestinal stromal tumours (GISTs) identifies different pathways of cytogenetic evolution with prognostic implications. *J Pathol* 2007;211(4):463–70.
40. Schaefer I.M., Delfs C., Cameron S. et al. Chromosomal aberrations in primary PDGFRA-mutated gastrointestinal stromal tumors. *Hum Pathol* 2014;45(1): 85–9.
41. Mazurenko N.N., Bardina E.M., Belyakov I.S., Tsyganova I.V. Analysis of KIT and PDGFR- α mutations and microsatellite DNA alterations in gastrointestinal stromal tumors. *Eur J Cancer* 2009;2:403.
42. Zhang Y., Cao H., Wang M. et al. Loss of chromosome 9p21 and decreased p16 expression correlate with malignant gastrointestinal stromal tumor. *World J Gastroenterol* 2010;16(37):4716–20.
43. Kaifi J.T., Wagner M., Schurr P.G. et al. Allelic loss of Hox11L1 gene locus predicts outcome of gastrointestinal stromal tumors. *Oncol Rep* 2006;16(4):915–9.
44. Haller F., Gunawan B., von Heydebreck A. et al. Prognostic role of E2F1 and members of the CDKN2A network in gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 2005;11(18):6589–97.
45. Wallander M.L., Layfield L.J., Tripp S.R., Schmidt R.L. Gastrointestinal stromal tumors: clinical significance of p53 expression, MDM2 amplification, and KIT mutation status. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2013;21(4):308–12.
46. Mol C.D., Lim K.B., Sridhar V. et al. Structure of a c-kit product complex reveals the basis for kinase transactivation. *J Biol Chem* 2003;278(34):31461–4.
47. Rönnstrand L. Signal transduction via the stem cell factor receptor/c-Kit. *Cell Mol Life Sci* 2004;61(19–2):2535–48.
48. Joensuu H., Rutkowski P., Nishida T. et al. KIT and PDGFRA mutations and the risk of GI stromal tumor recurrence. *J Clin Oncol* 2015;33(6):634–42.
49. Беляков И.С., Анурова О.А., Снигур П.В. и др. Мутации генов c-KIT и PDGFRA и клинико-морфологические особенности стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта. *Вопросы онкологии* 2007;53(6):677–81. [Belyakov I.S., Anurova O.A., Snigur P.V. et al. Mutations of the c-KIT and PDGFRA genes and clinical and morphological peculiarities of gastrointestinal stromal tumors. *Voprosy onkologii = Oncology Issues* 2007;53(6):677–81. (In Russ.)].
50. Мазуренко Н.Н., Беляков И.С., Цыганова И.В. и др. Значение молекулярно-генетических маркеров для прогноза и лечения стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта. *Достижения и перспективы лекарственного лечения злокачественных опухолей. Этюды химиотерапии III*. М.: Фармарус Принт Медиа 2011. С. 111–26. [Mazurenko N.N., Belyakov I.S., Tsyganova I.V. et al. Significance of molecular and genetic markers for prognosis and treatment of gastrointestinal stromal tumors. *Achievements and Prospects of Medicinal Treatment of Malignant Tumors. Etudi himioterapii = Chemotherapy Studies III*. Moscow: Pharmarus Print Media, 2011; p. 111–26. (In Russ.)].
51. Цыганова И.В., Беляков И.С., Анурова О.А., Мазуренко Н.Н. Прогностическое значение мутаций KIT и PDGFRA в гастроинтестинальных стромальных опу-

- холях. Молекулярная медицина 2015;2:64–70. [Tsyganova I.V., Belyakov I.S., Anurova O.A., Mazurenko N.N. Prognostic significance of the KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Molekulyarnaya meditsina = Molecular Medicine* 2015;2:64–70. (In Russ.)].
52. Ma Y., Cunningham M.E., Wang X. et al. Inhibition of spontaneous receptor phosphorylation by residues in a putative alpha-helix in the KIT intracellular juxtamembrane region. *J Biol Chem* 1999;274(19):13399–402.
53. Wardelmann E., Losen I., Hans V. et al. Deletion of Trp-557 and Lys-558 in the juxtamembrane domain of the c-kit protooncogene is associated with metastatic behavior of gastrointestinal stromal tumors. *Int J Cancer* 2003;106(6):887–95.
54. Corless C.L., McGreevey L., Town A. et al. KIT gene deletions at the intron 10-exon 11 boundary in GI stromal tumors. *J Mol Diagn* 2004;6(4):366–70.
55. Chen L.L., Sabripour M., Wu E.F. et al. A mutation-created novel intra-exonic pre-mRNA splice site causes constitutive activation of KIT in human gastrointestinal stromal tumors. *Oncogene* 2005;24(26):4271–80.
56. Bachet J.B., Hostein I., Le Cesne A. et al. Prognosis and predictive value of KIT exon 11 deletion in GISTs. *Br J Cancer* 2009;101(1):7–11.
57. Lasota J., Miettinen M. KIT exon 11 deletion-inversions represent complex mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 2007;175(1):69–72.
58. Terada T. Primary multiple extragastrointestinal stromal tumors of the omentum with different mutations of c-kit gene. *World J Gastroenterol* 2008;14(47):7256–9.
59. Liu N.N., Ohkouchi M., Hashikura Y. et al. Extracellular domain c-kit mutation with duplication of Ser501Ala502 found in gastrointestinal stromal tumors is more imatinib- and nilotinib-sensitive than that with duplication of Ala502Tyr503. *Lab Invest* 2013;93(5):502–7.
60. Künstlinger H., Huss S., Merkelbach-Bruse S. et al. Gastrointestinal stromal tumors with KIT exon 9 mutations: Update on genotype-phenotype correlation and validation of a high-resolution melting assay for mutational testing. *Am J Surg Pathol* 2013;37(11):1648–59.
61. Lasota J., Corless C.L., Heinrich M.C. et al. Clinicopathologic profile of gastrointestinal stromal tumors (GISTs) with primary KIT exon 13 or exon 17 mutations: a multicenter study on 54 cases. *Mod Pathol* 2008;21(4):476–84.
62. Yamanoi K., Higuchi K., Kishimoto H. et al. Multiple gastrointestinal stromal tumors with novel germline c-kit gene mutation, K642T, at exon 13. *Hum Pathol* 2014;45(4):884–8.
63. Cho S., Kitaday Y., Yoshida S. et al. Genetic and pathologic characteristics of gastrointestinal stromal tumors in extragastric lesions. *Int J Mol Med* 2006;18(6):1067–71.
64. Kinoshita K., Hirota S., Iozaki K. et al. Characterization of tyrosine kinase I domain c-kit gene mutation Asn655Lys newly found in primary jejunal gastrointestinal stromal tumor. *Am J Gastroenterol* 2007;102(5):1134–6.
65. Graham J., Debiec-Rychter M., Corless C.L. et al. Imatinib in the management of multiple gastrointestinal stromal tumors associated with a germline KIT K642E mutation. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131(9):1393–6.
66. Lasota J., vel Dobosz A.J., 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(10):1029–41.
67. Wardelmann E., Hrychuk A., Merkelbach-Bruse S. et al. Association of platelet-derived growth factor receptor alpha mutations with gastric primary site and epithelioid or mixed cell morphology in gastrointestinal stromal tumors. *J Mol Diagn* 2004;6(3):197–204.
68. Künstlinger H., Binot E., Merkelbach-Bruse S. et al. High-resolution melting analysis is a sensitive diagnostic tool to detect imatinib-resistant and imatinib-sensitive PDGFRA exon 18 mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Hum Pathol* 2014;45(3):573–82.
69. Huss S., Künstlinger H., Wardelmann E. et al. A subset of gastrointestinal stromal tumors previously regarded as wild-type tumors carries somatic activating mutations in KIT exon 8 (p.D419del). *Mod Pathol* 2013;26(7):1004–12.
70. Bahlawane C., Eulenfeld R., Wiesinger M.Y. et al. Constitutive activation of oncogenic PDGFR α -mutant proteins occurring in GIST patients induces receptor mislocalisation and alters PDGFR α signalling characteristics. *Cell Commun Signal* 2015;13(1):21.
71. Neuhaus T.M., Mansmann V., Merkelbach-Bruse S. et al. A novel germline KIT mutation (p.L576P) in a family presenting with juvenile onset of multiple gastrointestinal stromal tumors, skin hyperpigmentations, and esophageal stenosis. *Am J Surg Pathol* 2013;37(6):898–905.
72. Bachet J.B., Landi B., Laurent-Puig P. et al. Diagnosis, prognosis and treatment of patients with gastrointestinal stromal tumour (GIST) and germline mutation of KIT exon 13. *Eur J Cancer* 2013;49(11):2531–41.
73. Keun P.C., Lee E.J., Kim M. et al. Prognostic stratification of high risk gastrointestinal stromal tumors in the era of targeted therapy. *Ann Surg* 2008;247(6):1011–8.
74. Emile J.F., Brahimi S., Coindre J.M. et al. Frequencies of KIT and PDGFRA mutations in the MolecGIST prospective population-based study differ from those of advanced GISTs. *Med Oncol* 2012;29(3):1765–72.
75. Wozniak A., Rutkowski P., Schöffski P. et al. Tumor genotype is an independent prognostic factor in primary gastrointestinal stromal tumors of gastric origin: A European multicenter analysis based on ConticaGIST. *Clin Cancer Res* 2014;20(23):6105–16.
76. Corless C.L., Ballman K.V., Antonescu C.R. et al. Pathologic and molecular features correlate with long-term outcome after adjuvant therapy of resected primary GI stromal tumor: the ACOSOG Z9001 trial. *J Clin Oncol* 2014;32(15):1563–70.
77. Agaram N.P., Wong G.C., Guo T. et al. V600E BRAF mutations in imatinib-naive and imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 2008;47(10):853–9.
78. Falchook G.S., Trent J.C., Heinrich M.C. et al. BRAF mutant gastrointestinal stromal tumor: first report of regression with BRAF inhibitor dabrafenib (GSK2118436) and whole exomic sequencing for analysis of acquired resistance. *Oncotarget* 2013;4(2):310–5.
79. Tarn C., Rink L., Merkel E. et al. Insulin-like growth factor 1 receptor is a potential therapeutic target for gastrointestinal stromal tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(24):8387–92.
80. Daniels M., Lurkin I., Pauli R. et al. Spectrum of KIT/PDGFR α /BRAF mutations and phosphatidylinositol-3-kinase pathway gene alterations in gastrointestinal stromal tumors (GIST). *Cancer Lett* 2011;312(1):43–54.
81. Miettinen M., Fetsch J.F., Sobin L.H., Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors in patients with neurofibromatosis 1: a clinicopathologic and molecular genetic study of 45 cases. *Am J Surg Pathol* 2006;30(1):90–6.
82. Mucci S., Schildhaus H.U., Gronchi A. et al. Therapeutic consequences from molecular biology for gastrointestinal stromal tumor patients affected by neurofibromatosis type 1. *Clin Cancer Res* 2008;14(14):4550–5.
83. Carney J.A., Stratakis C.A. Familial paraganglioma and gastric stromal sarcoma: a new syndrome distinct from the Carney triad. *Am J Med Genet* 2002;108(2):132–9.
84. Pasini B., McWhinney S.R., Bei T. et al. Clinical and molecular genetics of patients with the Carney-Stratakis syndrome and germline mutations of the genes coding for the succinate dehydrogenase subunits SDHB, SDHC, and SDHD. *Eur J Hum Genet* 2008;16(1):79–88.
85. Janeway K.A., Kim S.Y., Lodish M. et al. Defects in succinate dehydrogenase in gastrointestinal stromal tumors lacking KIT and PDGFRA mutations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(1):314–8.
86. Miettinen M., Killian J.K., Wang Z.F. et al. Immunohistochemical loss of succinate dehydrogenase subunit A (SDHA) in gastrointestinal stromal tumors (GISTs) signals SDHA germline mutation. *Am J Surg Pathol* 2013;37(2):234–40.
87. Wagner A.J., Remillard S.P., Zhang Y.X. et al. Loss of expression of SDHA predicts SDHA mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Mod Pathol* 2013;26(2):289–94.

88. Pantaleo M.A., Astolfi A., Urbini M. et al. Analysis of all subunits, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, of the succinate dehydrogenase complex in KIT/PDGFR wild-type GIST. *Eur J Hum Genet* 2014;22(1):32–9.
89. Oudijk L., Gaal J., Korpershoek E. et al. SDHA mutations in adult and pediatric wild-type gastrointestinal stromal tumors. *Mod Pathol* 2013;26(3):456–63.
90. 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(8):1093–103.
91. Heinrich M.C., Owzar K., Corless C.L. 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(33):5360–7.
92. Duensing S., Duensing A. Targeted therapies of gastrointestinal stromal tumors (GIST) – the next frontiers. *Biochem Pharmacol* 2010;80(5):575–83.
93. Pierotti M.A., Tamborini E., Negr T. et al. Targeted therapy in GIST: in silico modeling for prediction of resistance. *Nat Rev Clin Oncol* 2011;8(3):161–70.
94. Nakagomi N., Hirota S. Juxtamembrane-type c-kit gene mutation found in aggressive systemic mastocytosis induces imatinib-resistant constitutive KIT activation. *Lab Invest* 2007;87(4):365–71.
95. Antonescu C.R., Besmer P., Guo T. et al. Acquired resistance to imatinib in gastrointestinal stromal tumor occurs through secondary gene mutation. *Clin Cancer Res* 2005;11(11):4182–90.
96. Gramza A.W., Corless C.L., Heinrich M.C. Resistance to tyrosine kinase inhibitors in gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 2009;15(24):7510–8.
97. 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(6):1743–9.
98. Liegl B., Kepten I., Le C. et al. Heterogeneity of kinase inhibitor resistance mechanisms in GIST. *J Pathol* 2008;216(1):64–74.
99. Kobayashi S., Boggon T.J., Dayaram T. et al. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2005;352(8):786–92.
100. O'Hare T., Eide C.A., Tyner J.W. et al. SGX393 inhibits the CML mutant Bcr-AblT315I and preempts in vitro resistance when combined with nilotinib or dasatinib. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(14):5507–12.
101. Joensuu H. Second line therapies for the treatment of gastrointestinal stromal tumor. *Curr Opin Oncol* 2007;19(4):353–8.
102. Hopkins T.G., Marples M., Stark D. Sunitinib in the management of gastrointestinal stromal tumours (GISTs). *Eur J Surg Oncol* 2008;34(8):844–50.
103. Demetri G.D., Heinrich M.C., Fletcher J.A. et al. Molecular target modulation, imaging, and clinical evaluation of gastrointestinal stromal tumor patients treated with sunitinib malate after imatinib failure. *Clin Cancer Res* 2009;18(15):5902–9.
104. Heinrich M.C., George S., Bauer S. et al. Optimizing the treatment of gastrointestinal stromal tumors: the role of tumor genotyping, imatinib blood level testing and new therapeutic strategies. Educational book. ASCO, 2009; p. 454–60.
105. Hsueh Y.S., Lin C.L., Chiang N.J. et al. Selecting tyrosine kinase inhibitors for gastrointestinal stromal tumor with secondary KIT activation-loop domain mutations. *PLoS One* 2013;8(6).
106. Blay J.Y., Shen L., Kang Y.K. et al. Nilotinib versus imatinib as first-line therapy for patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumours (ENESTg1): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015;16(5):550–60.
107. Janeway K.A., Albritton K.H., Van Den Abbeele A.D. et al. Sunitinib treatment in pediatric patients with advanced GIST following failure of imatinib. *Pediatr Blood Cancer* 2009;52(7):767–71.
108. Quek R., George S. Update on the treatment of gastrointestinal stromal tumors (GISTs): role of imatinib. *Biologics* 2010;4:19–31.
109. Singeltary B., Ghose A., Sussman J. et al. Durable response with a combination of imatinib and sorafenib in KIT exon 17 mutant gastrointestinal stromal tumor. *J Gastrointest Oncol* 2014;5(1):E27–9.
110. Aprile G., Macerelli M., Giuliani F. Regorafenib for gastrointestinal malignancies: from preclinical data to clinical results of a novel multi-target inhibitor. *BioDrugs* 2013;27(3):213–24.
111. Ferraro D., Zalceberg J. Regorafenib in gastrointestinal stromal tumors: clinical evidence and place in therapy. *Ther Adv Med Oncol* 2014;6(5):222–8.
112. Casali P.G., Blay J.Y. Gastrointestinal stromal tumors: ESMO Clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010;Suppl 5:98–102.
113. Harlan L.C., Eisenstein J., Russell M.C. et al. Gastrointestinal stromal tumors: Treatment patterns of a population-based sample. *J Surg Oncol* 2015;111(6):702–7.