

# Gastrointestinálny stromálny tumor s viacnásobnou mutáciou *c-KIT* génu po liečbe inhibítormi tyrozínových kináz

Katarína Lešková<sup>1</sup>, Jozef Škarda<sup>2,3</sup>, Andrea Štanclová<sup>4</sup>, Peter Szépe<sup>1</sup>,  
Mária Janíková<sup>2</sup>, Lenka Henzlová<sup>5</sup>, Lukáš Plank<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav patologickej anatómie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

<sup>2</sup>Ústav klinické a molekulárnej patológie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc

<sup>3</sup>Ústav patológie, Fakultní nemocnice Ostrava-Poruba

<sup>4</sup>Ústav molekulovej biológie, Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

<sup>5</sup>Klinika nukleární medicíny, Fakultní nemocnice Olomouc

Gastrointestinálne stromálne tumory (GISTy) predstavujú najčastejšie mezenchýmové nádory tráviaceho traktu. Ich súčasná liečba dnes, v závislosti od viacerých parametrov ochorenia, zahŕňa najmä chirurgickú resekciu a biologickú liečbu inhibítormi tyrozínových kináz (TKIs). Tu prezentujeme raritný prípad 53-ročného pacienta s mutáciou p.W557\_558Kdel exónu 11 *c-KIT* génu v primárnom GISTe žalúdka diagnostikovanom v gastroscopickej biopsii, ktorý bol liečený neoadjuvantnou cielenou liečbou imatinibom. Po počiatkovej fáze stabilizácie ochorenia vznikla u pacienta rezistencia na túto terapiu. Napriek liečbe TKI inhibítormi druhej a tretej línie a totálnej chirurgickej extirpácii v ďalšom priebehu dochádzalo k opakovaným remisiám a relapsom. V resekčnom materiáli sme identifikovali viacpočetné mutácie v rôznych exónoch *c-KIT* génu, kde pri perzistencii primárnej deľejnej mutácie v exóne 11 vznikli ďalšie sekundárne zriedkavé mutácie v exónoch 13 (p.V654A) a 17 (p.Y823D). Opakované úseky remisií a relapsov tak po liečbe TKIs, ako aj po chirurgickej resekcii tumoru, poukazujú na nepriaznivý vplyv týchto genetických zmien a otvárajú otázku potreby modifikácie terapeutického prístupu imatinib-rezistentných GISTov striedaním jednotlivých TKIs namiesto doteraz zaužívanej monoterapie.

**Kľúčová slová:** gastrointestinálny stromálny tumor, GIST, intratumorálna heterogenita, *c-KIT* exón 11 mutácie, tyrozín kinázový inhibítor.

## Gastrointestinal stromal tumour with multiple mutations of *c-KIT* gene after tyrosine kinase inhibitors therapy

Gastrointestinal stromal tumours (GISTs) represent the most common mesenchymal tumours of the digestive tract. Based on various parameters, the recent GIST treatment includes surgical and/or targeted therapy using tyrosine kinase inhibitors (TKIs). In this paper we present a case of 53-year-old patient with *c-KIT* exon 11 (p.W557\_558Kdel) mutated primary GIST of stomach diagnosed by a gastroscopic biopsy and treated by neoadjuvant TKI therapy using imatinib. After incipient disease stabilization, the patient developed therapy resistance. In spite of the second and third-line TKI treatment and radical surgery, the following disease course consisted of repeated remissions and relapses. The resection material showed multiple *c-KIT* mutations in various exons, including persisting primary exon 11 deletion mutation and two secondary infrequent *c-KIT* mutations in exon 13 (p.V654A) and exon 17 (p.Y823D). Repeating cycles of remissions and relapses after TKI treatments and surgical resection show the adverse effects of these genetic mutations on GIST behaviour and might advocate therapy management modification allowing therapeutic combinations of TKIs instead of conventional monotherapies in imatinib resistant GISTs.

**Key words:** gastrointestinal stromal tumour, GIST, intratumoural heterogeneity, *c-KIT* exon 11 mutations, tyrosine kinase inhibitor.

KORESPONDENČNÁ ADRESA AUTORA:

MUDr. Katarína Lešková, leskova45@uniba.sk

Ústav patologickej anatómie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Kollárova 2, 036 59 Martin, Slovenská republika

Cit. zkr: Onkologie 2021; 15(6): 293–295

Článek přijat redakcí: 21. 9. 2021

Článek přijat k publikaci: 20. 10. 2021

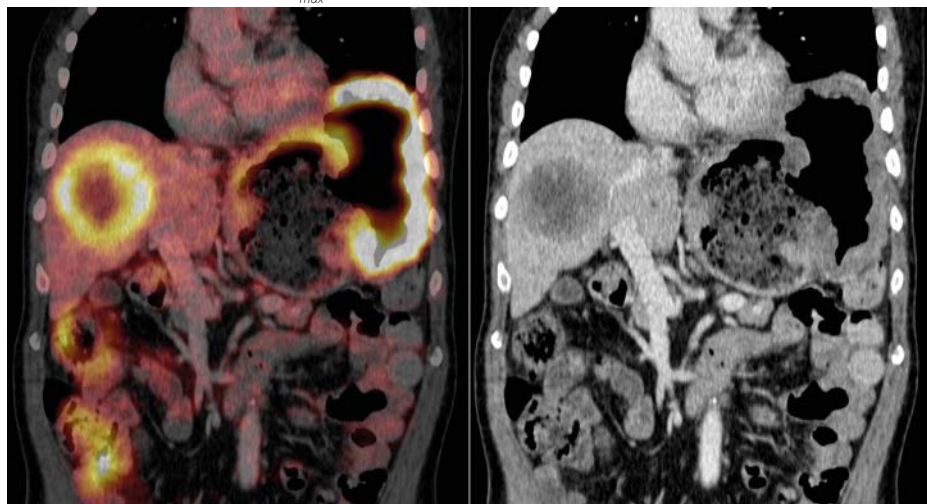
## Úvod

Gastrointestinálne stromálne tumory (GISTy) sú najčastejšie mezenchýmové nádory gastrointestinálneho traktu, ktoré vznikajú prevažne v žalúdku (1/2 prípadov) a v tenkom čreve (1/3 prípadov) (1). Z hľadiska morfológie so zložkou, fenotypu aj genetických zmien je pre nich charakteristická výrazná inter – a intratumorálna heterogenita. V súčasnosti rozlišujeme histomorfologicky 3 základné typy a to *typ vreteno-*, *epiteloidne* – a *zmiešanobunkový*, s niekoľkými podskupinami v každom z nich. Podľa poslednej revízie SZO klasifikácie 2019 prognostická stratifikácia GISTov zahŕňa predovšetkým veľkosť tumoru, jeho lokalizáciu a počet mitotických figúr (m.f.) udávaný v prepočte na 5 mm<sup>2</sup> plochy tumoru v jeho histologickom obraze, negatívny prognostický vplyv na priebeh ochorenia je popisovaný v prítomnosti ruptúry nádoru a metastatického rozsevu (2). Genetická analýza GISTov má v dnešnej dobe význam hlavne z hľadiska predikcie efektu cielej liečby. V 85 % týchto nádorov nachádzame genetickú alteráciu *c-KIT* génu alebo génu *PDGFRa*, pričom v našej populácii sa najčastejšie mutácie objavujú v exóne 11 (62,95 %) a exóne 9 (8,27 %) *c-KIT* génu, nasledované zmenami v exónoch 18 (7,55 %) a 12 (2,52 %) génu *PDGFRa* (2, 3). Jednotlivé genetické alterácie sú asociované s odlišnými odpoveďami pri cielej liečbe tyrozín kinázovými inhibítormi (TKI), aj v závislosti od druhu a dávky použitého TKI. V tejto práci popisujeme prípad pacienta s GISTom žalúdka diagnostikovaným z endoskopickej biopsie s verifikovanou mutáciou v exóne 11 *c-KIT* génu, u ktorého došlo napriek cielej liečbe TKI k progresii ochorenia a vzniku sekundárnych genetických zmien v ďalších exónoch génu *c-KIT* s následnou rezistenciou na všetky podávané TKI.

## Priebeh ochorenia a patologický nález

53-ročný muž so symptómami anémie, niekoľko mesiacov trvajúcimi bolesťami v epigastriu, úbytkom na váhe a melénou podstúpil v marci 2013 USG a CT vyšetrenie brucha, pri ktorom boli zistené suspektne ložiská nádoru v pečeni. Následná gastroscopia v apríli 2013 potvrdila prítomnosť tumoru v oblasti fundu žalúdka s klinicky udávanou

**Obr. 1.** PET/CT s nálezom zvýšenej akumulácie FDG v zhrubnutej stene žalúdka (šírka do 26 mm,  $SUV_{max}$  15,0) s maximom zmien v oblasti fundu a tela žalúdka a ďalej v leme hypodenzného ložiska v pravom laloku pečene (veľkosť 89 × 73 mm,  $SUV_{max}$  8,1) – nález zodpovedá primárnemu tumoru s metastázou v pečeni



veľkosťou 4 × 5 cm. Histopatologickým vyšetrením bioptickej vzorky primárneho nádoru odobranej pri gastroscopickom vyšetrení bol verifikovaný *c-kit* (CD117) pozitívny zmiešanobunkový, predominantne epiteloidnebunkový GIST žalúdka s nízkou mitotickou aktivitou (2 m.f./5 mm<sup>2</sup>) a s nezvyčajne vysokou proliferáčnou aktivitou (Ki-67 index pribl. 30–40 %). Imunohistochemicky (IHC) boli ďalej nádorové bunky pozitívne pri dôkaze vimentínu a hladkosvalového aktínu (SMA), s parciálnou koexpresiou DOG-1 proteínu, zatiaľ čo boli negatívne pri dôkaze CD34 a dezminu. Sangerovo sekvenovanie odhalilo delečnú mutáciu *c-KIT* génu v exóne 11 (p.W557\_K558del). Pre limity endoskopického materiálu nemohli byť splnené kritériá určenia stupňa rizika malígneho správania podľa kritérií SZO klasifikácie (2).

Pacient bol prijatý na onkologickú kliniku, kde mu po PET/CT potvrdení tumorózne zmenenej steny žalúdka a dvoch metastatických ložísk v pečeni (obr. 1) bola nasadená liečba imatinibom v dávke 400 mg/denne, po ktorej dosiahol stabilizáciu ochorenia. Po roku opakované PET/CT vyšetrenie identifikovalo progresiu nádoru so zvýšením metabolickej aktivity. Eskalácia dávky imatinibu na hodnotu 2 × 400 mg viedla k pozitívnej odpovedi v zmysle regresie nálezu. V priebehu nasledujúcich 12 mesiacov došlo k ďalšej progresii v zmysle zväčšenia nádoru a opätovného zvýšenia jeho metabolickej aktivity. Liečba sunitinibom v intervale november 2015 – november 2016 vykazovala obdobný priebeh ako pri predošlej liečbe – najskôr

bola rádiologicky potvrdená regresia nádoru, do roka od iniciálnej kúry týmto TKI bol opäť potvrdený relaps ochorenia. Preto bola v januári 2017 indikovaná liečba regorafenibom, ako TKI 3. línie. V júni 2017 pacient podstúpil chirurgickú extirpáciu tumoru žalúdka spolu s resekciou chvosta pankreasu, časti bránice a splenektómiou, s dosiahnutím kompletnej remisie na kontrolnom postoperačnom PET/CT vyšetrení.

Chirurgicky odstránená tumorózna masa, celkovo veľkosti 13 × 11 × 7 cm, bola makroskopicky na reze multifokálne nekrotická. V nej bol identifikovaný GIST zmiešanobunkovej morfológie, so zložkou vreteno – aj epiteloidnebunkovou, s fokálne akcentovanými bunkovými atypiami v zmysle anizocytózy a anizokleózy a s proliferáčnym Ki-67 indexom v hodnote do 15 %. V porovnaní s primárnym nádorom bolo zrejmé zvýšenie mitotickej aktivity na hodnotu 7 m.f./5 mm<sup>2</sup>. Pri IHC analýze bunky nádoru vykazovali najmä vo vretenobunkovej komponente čiastočnú pozitivitu expresie CD117 aj CD34 a negativitu („stratu“) expresie DOG-1 a SMA antigénov. V štyroch súčasne vyšetrených lymfatických uzlinách bol obraz úplného zotretia ich pôvodnej štruktúry metastázou zloženou z morfológicky identických nádorových buniek GISTu. Vzhľadom k recidíve a metastatickému šíreniu nádor zodpovedal vysokorizikovej kategórii GISTov (2).

Genetická analýza Sangerovým sekvenovaním realizovaná z dvoch nesúvisiacich excízií hlavnej masy nádoru potvrdila prítomnosť

dvoch, resp. troch mutácií *c-KIT* génu. V prvej vzorke sme identifikovali identickú delečnú mutáciu v exóne 11 ako v primárnej biopstickkej vzorke tumoru, ktorá mala za následok chýbanie aminokyselín tryptofánu a lyzínu (p.W557\_K558del) a súčasne aj substitučnú mutáciu v exóne 13 (p.V654A). V druhej excízii bola okrem predošlých dvoch uvedených aktivujúcich mutácií verifikovaná súčasne aj tretia mutácia v exóne 17 *c-KIT* génu (p.Y823D).

V priebehu pol roka od chirurgického zákroku bola u pacienta zaznamenaná ďalšia výrazná progresia ochorenia s nálezom mnohopočetných metastatických ložísk na peritoneu, mezenteriu a v pľúcach s následnou indikáciou paliatívnej liečby imatinibom (400 mg/denne). Pre celkovo zhoršujúci sa klinický stav pacienta bola v marci 2018 ukončená špecifická onkologická terapia a pacient bol prevedený na liečbu symptomatickú do ambulantnej starostlivosti v mieste svojho trvalého bydliska, kde v júni 2018 – celkovo po vyše piatich rokoch od diagnózy jeho ochorenia, zomrel.

## Diskusia a záver

Gastrointestinálne stromálne tumory, ktoré tvoria približne 1–2 % všetkých neoplázií GITu, predstavujú najčastejšie mezenchýmové nádory tráviaceho traktu (1). Tieto nádory sú rezistentné na konvenčnú chemoterapiu a rádioterapiu s rôznou úspešnosťou chirurgickej resekcii nádoru aj v závislosti od rozsahu ochorenia. Až nedávno akceptovaná biologická liečba inhibítormi tyrozínových kináz dvoch najčastejšie v predterapeutickom období mutovaných génov týchto nádorov – *c-KIT* a *PDGFRa*, výrazne zlepšila prognózu pacientov. Napriek tomu táto cieľená liečba pri naša neraz limitovaný benefit pre pacienta ako ukazuje aj nami analyzovaná kazuistika.

Tu opisujeme prípad metastatického gastrointestinálneho stromálneho tumoru žalúdka, v ktorom po liečbe TKI vznikli ďalšie dve sekundárne zriedkavé mutácie *c-KIT* génu v prítomnosti perzistujúcej delečnej mutácie

exónu 11. Nález rozdielného počtu zistených mutácií v dvoch vzdialených biopstickkých excíziách recidivujúceho GISTu veľmi pravdepodobne súvisí s intratumorálnou heterogenitou nádorov. Tieto zmeny, keď dochádza k „zachovaniu“ primárnej a súčasne k vzniku ďalšej sekundárnej patogénnej mutácie u pacientov s relabovaným GISTom, boli pozorované v menej ako 10 % relapsov (4).

Je známe, že časť GISTov vykazuje po liečbe TKI zmenu v morfológii a častejšie aj v imunofenotype nádoru (4–6). U prezentovaného pacienta došlo v tkanive recidivujúceho a progredujúceho nádoru k zníženiu expresie CD117, úplnej strate pozitivity DOG-1 a SMA antigénov pri zvýšení mitotickej aktivity a paradoxne znížení proliferatívnej aktivity. Naopak, pôvodne CD34 negatívny primárny nádor vykazoval pri recidíve po liečbe TKI pozitívitu expresie tohto antigénu. Tieto imunohistochemické zmeny by mohli tiež súvisieť so vznikom ďalších subklonov nádoru v zmysle vnútronádorovej heterogenity spôsobenej zmenami na jeho molekulárnej úrovni. V tomto kontexte je zaujímavý údaj Lasotu et al. (7) o porovnávaní imunofenotypu a genotypu GISTov, podľa ktorého koexpresia CD34 antigénu bola takmer pravidelne asociovaná s nádormi s mutáciou v exóne 13 *c-KIT* génu.

Delečné mutácie patria medzi najčastejšie mutácie gastrointestinálnych stromálnych tumorov a rovnako aj medzi najčastejšie mutácie GISTov nájdené v exóne 11 *c-KIT* génu (2, 3, 8). Kodóny 557 a 558 predstavujú mutačné „hot-spots“ exónu 11. Napriek ich senzitivite k imatinibu, viaceré štúdie dokumentovali zvýšené riziko relapsu GISTov s týmto typom delečnej mutácie v porovnaní s rozdielnymi mutáciami exónu 9 a 11 *c-KIT* génu a tiež aj s *c-KIT/PDGFRa* „wild type“ GISTmi (8–10). Ďalší poukázali na fakt, že delécie v kodónoch 557 a/alebo 558 sa vyskytujú zvyčajne u pacientov s väčším a mitoticky aktívnym nádorom s nepriaznivým klinickým priebehom, rovnako tiež s vyšším rizikom metastázovania v porovnaní s GISTmi s inými typmi mutácií v exóne 11 *c-KIT* génu

(9, 11). V štúdií Wozniakovej et al. (10) bol dokázaný negatívny prognostický status GISTov s mutáciou *c-KIT* exón 11 p.W557\_K558del špecificky v tých prípadoch, ktoré boli lokalizované v žalúdku, aj keď ich výskyt bol približne rovnaký v žalúdku aj mimo neho.

Mutácie v exónoch 13 a 17 *c-KIT* génu vznikajú obvyčajne ako sekundárne mutácie. Kvôli raritnosti ich výskytu (1–2 %) je len málo dostupných informácií o rizikovej stratifikácii týchto prípadov. Prognostický význam *c-KIT* exón 13 mutovaných GISTov sa zdá byť závislý predovšetkým od lokalizácie nádoru. V porovnaní s celkovou skupinou GISTov v žalúdku bol dokázaný agresívnejší priebeh ochorenia u tých, ktoré zároveň vykazovali mutáciu v exóne 13. V prípade GISTov tenkého čreva takýto rozdiel medzi nádormi s mutáciou v exóne 13 ani v exóne 17 v porovnaní s ostatnými pozorovaný nebol (7).

Záverom možno konštatovať, že v nami analyzovanom prípade biologická liečba umožnila predĺženie života pacienta. V priebehu ochorenia vznikla postupne rezistencia na všetky tri použité inhibítory tyrozínových kináz, pričom táto liečba nezabránila relapsu ochorenia aj po eradikácii nádoru v čase jeho chirurgickej resekcii. V súlade so závermi viacerých publikovaných štúdií, mutácia *c-KIT* exón 11 p.W557\_558 Kdel poukazuje aj v tomto prípade na závažný priebeh ochorenia s nepriaznivým celkovým prežívaním a prežívaním bez relapsu. Dokumentuje tiež potrebu implementácie genetických analýz do rizikovej stratifikácie pacientov v rutinej klinickej praxi. Následné možnosti modifikácie terapeutického prístupu, ako v nedávnej práci ukázal Serrano et al. (12), s uprednostnením striedania jednotlivých TKI namiesto monoterapie, prípadne využitie špecifického typu imunoterapie v kombinácii s TKI u nádorov s charakteristickými molekulárnymi zmenami detegovanými NGS analýzou (13) by mohli do budúcnosti priniesť efektívnejší výsledok v terapii imatinib-rezistentných GISTov.

## LITERATÚRA

- Joensuu H. Gastrointestinal stromal tumor (GIST). *Ann Oncol* 2006; 17(10): 280–286.
- Dei Tos AP, Hornick JL, Miettinen M. Gastrointestinal stromal tumour. In: WHO Classification of Tumours Editorial Board. Digestive system tumours. IARC Lyon 2019: 439–443.

- Minárik G, Plank L, Lasabová Z, et al. Spectrum of mutations in gastrointestinal stromal tumor patients – a population-based study from Slovakia. *APMIS* 2012; 121: 539–548.
- Plank L, Buzalkova V, Szepe P, et al. Gastrointestinal stromal tumor after tyrosine kinase inhibition therapy: a review of bi-

opsies of 34 patients with clinically suspected relapse and/or progression of the tumor. *Neoplasma* 2017; 64(3): 464–473.

Ďalší literatúra u autorky  
a na [www.onkologiecs.cz](http://www.onkologiecs.cz)