

**UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Keramatollah A. Ebrahimi**

**Značaj mutacija u genima KIT i PDGFRA u  
evaluaciji lečenja bolesnika operisanih zbog  
gastrointestinalnog stromalnog tumora  
želuca**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**Beograd, 2018**

**Mentor: Akademik prof. dr Predrag Peško**, hirurg, redovni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu.

**Članovi komisije:**

- 1. Prof. dr Ivana Novaković**, redovni profesor humane genetike, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- 2. Doc. dr Predrag Sabljak**, hirurg, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- 3. Akademik prof. dr Radoje Čolović**, hirurg u penziji, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu.

Datum odbrane: \_\_\_\_\_

*Ne postoje slova, reči niti rečenice koje bi na adekvatan način ispisale svu zahvalnost koju moji roditelji, porodica i ja imamo za sve što je Akademik Predrag Peško učinio za mene. Imati Vas za pedagoga, učitelja i prijatelja je velika životna privilegija. Pored Vas pokušavam da svakodnevno naučim neke istinske ljudske vrednosti, a ne samo medicinu i hirurgiju, vrednosti koje nije moguće naučiti ni iz jedne knjige.*

*Večno sam zahvalan Predragu Sabljaku koji mi svakodnevno uči hirurgiju, rešava sve moje hirurške komplikacije, operativne dileme i poteškoće u svakodnevnom radu na klinici.*

*Mojim kolegama iz Centra za hirurgiju jednjaka, Dejanu Stojakovu, Milošu Bjeloviću, Aleksandru Simiću, Nebojši Radovanoviću i Milutinu Kotarcu, hvala im za svaki savet i pomoć koji su mi pružili.*

*Hvala mojim kolegama na odeljenju Dejanu Veličkoviću i Vladimiru Šljukiću sa kojima delim iste brige o pacijentima.*

*Posebno sam zahvalan mom prijatelju Ognjanu Skrobiću za veliku i nesebičnu pomoć koju mi je pružio tokom pripreme i izrade doktorske disertacije.*

*Hvala profesoru Marjanu Micevu koji je uvek bio tu da mi razjasni svaku dilemu tokom proučavanja patologije GIST-a.*

*Zahvaljujem se profesorki Ivani Novakoviću i Valeriji Dobričić koje su me uvele u svet genetike.*

*Hvala doktorki Melisi Saračević koja mi je pomogla u pisanju i oblikovanju svake reči i rečenice u ovoj disertaciji.*

*Doktoru Voinu Brkoviću sam zahvalan za statističku analizu podataka koju je uradio ne samo stručno već i prijateljski.*

*Hvala mojim dragim medicinskim sestrama sa kojima svakodnevno vodim brigu o pacijentima.*

*Hvala celom kolektivu Prve hirurške klinike koji me je prihvatio u svoj dom, svim mojim profesorima, učiteljima i prijateljima.*

*Hvala mojoj supruzi Sanji na podršci i razumevanju, mojim sinovima Kianu i Dariu zbog kojih sve što radim u životu ima smisla.*

*Mojim roditeljima hvala na vaspitanju i za sve što su mi „genetski“ podarili.*

***„Sa željom da podaci iz ove doktorske disertacije budu od koristi u lečenju bolesnika sa gastrointestinalnim stromalnim tumorima „***

## SAŽETAK

Naslov: Značaj mutacija u genima KIT i PDGFRA u evaluaciji lečenja bolesnika operisanih zbog gastrointestinalnog stromalnog tumora želuca.

### Rezime

Cilj: Ispitivanje genetskih mutacija na KIT i PDGFRA genima, prikazivanje njihove učestalosti, vrste mutacija i korelacije ovih specifičnih genskih mutacija sa patohistološkim i imunohistochemijskim karakteristikama tumora. Korelacija genetskih mutacija na KIT i PDGFRA sa kliničkim tokom operisanih bolesnika.

Metod: Prospektivna i delimično retrospektivna klinička studija koja je uključila 100 bolesnika operisane zbog GIST-a želuca u period od 2005 do 2016 godine. Načinjena je molekularna analiza na parafinskim kalupima tumorskog tkiva, a kod 45 bolesnika kod kojih su identifikovane KIT i PDGFRA mutacije sprovedena je dalja analiza, sa posebnim osvrtom na patološke karakteristike tumora, recidiv oboljenja i ukupno preživljavanje, te procena uticaja analiziranih genskih mutacija na navedene promene.

Rezultati: Od 100 operisanih bolesnika 46% su u grupi visokog rizika od kojih kod 54% nastaju metastaze ili lokalni recidiv. Od ukupno 100 ispitivanih bolesnika, kod 45 bolesnika je dobijen mutacioni status, gde su 37 (82%) bolesnika sa KIT mutacijama, 6 (14%) bolesnika sa PDGFRA mutacije i 2 (4%) bolesnika svrstani u "wild type". Analizom krive preživljavanja kod bolesnika operisanih zbog GIST želuca utvrđena je značajna razlika u javljanju metastaze i smrtnog ishoda u zavisnosti od tipa mutacije ( $p=0.023$ ). Cox-ovim regresionom analizom je pokazano da bolesnici visokog rizika sa recidivom bolesti koji nisu primali Imatinib imali su 7 puta veću verovatnoću smrtnog ishoda u odnosu na bolesnike lečene Imatinobom

Zaključak: Analiza mutacije na KIT i PDGFRA genima ima prognostički i prediktivni značaj kod bolesnika operisanih zbog GIST želuca. Imatinib ima značajnu ulogu u lečenju bolesnika koji su u grupi visokog rizika.

Ključne reči: KIT, PDGFRA, mutacija, GIST, želudac, operisani

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Hirurgija

## **APSTRAKT**

Title: Significance of KIT and PDGFRA gene mutation in evaluation of surgically treated gastric gastrointestinal stromal tumor patients

### Summary

Objective: KIT (KIT proto-oncogene receptor tyrosine kinase) and PDGFRA (Platelet derived growth factor receptor alpha) gene mutations represent major molecular forces inside the gastrointestinal stromal tumors (GIST). Aim of this study was to evaluate these mutations in patients who underwent surgical resection of gastric GIST

Methods: Retrospective clinical study included 100 patients who were operated due to gastric GIST from 2005 till 2016. Molecular analysis of paraffin embedded tumor tissue was performed, and the 45 patients who had presence of KIT and PDGFRA mutations were further evaluated, with regard to pathological tumor stage, disease recurrence and overall survival.

Results: Of the 100 patients who were operated 46% are in the high risk group of which at 54% of the resulting metastasis or local recurrence. From a total of 100 patients, in 45 patients we obtained mutational status, where 37 (82%) of patients had KIT mutations, 6 (14%) patients had PDGFRA mutations and 2 (4%) patients were classified into the “ wild-type”. The analysis of survival curves in patients surgically treated for gastric GIST showed a significant difference in emergence of metastases and death depending on the type of mutation ( $p = 0.023$ ). Cox's regression analysis shown that patients with a high risk of recurrent disease who were not receiving Imatinib had the 7 times greater probability of fatal outcome compared to patients treated with Imatinib.

Conclusion: Analysis of mutations in the genes KIT and PDGFRA has prognostic and predictive significance in patients surgically treated for gastric GIST. Imatinib has an important role in the treatment of patients who are in the group of high risk.

Key words: KIT, PDGFRA, mutation, GIST, gastric, surgically treated

Scientific area: Medicine

Specific topic: Surgery

# SADRŽAJ

1.	UVOD .....	1
1.1.	OPŠTE KARAKTERISTIKE GASTROINTESTINALNIH STROMALNIH TUMORA .....	1
1.2.	ISTORIJAT .....	4
1.3.	EPIDEMIOLOGIJA .....	8
1.4.	KLINIČKA SLIKA .....	10
1.5.	DIJAGNOSTIKA .....	11
1.5.1.	STANDARDNA ENDOSKOPIJA .....	11
1.5.2.	ENDOSKOPSKA ULTRASONOGRAFIJA .....	12
1.5.3.	BIOPSIJA GIST .....	13
1.5.4.	RADIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA .....	15
1.5.4.1.	KOMPJUTERIZOVANA TOMOGRAFIJA .....	15
1.5.4.2.	MAGNETNA REZONANCA .....	17
1.5.4.3.	PET (POZITRONSKA EMISIONA TOMOGRAFIJA) .....	18
1.5.5.	PATOLOŠKA DIJAGNOZA .....	20
1.5.5.1.	MORFOLOGIJA .....	20
1.5.5.2.	IMUNOHISTOHEMIJA .....	21
1.6.	PROGNOSTIČKI FAKTORI, PROCENA RIZIKA I STEJDŽING .....	24
1.7.	MUTACIONA ANALIZA .....	31
1.7.1.	OSNOVI MUTAGENEZE GIST .....	32
1.7.2.	NOMENKLATURA I TIPOVI MUTACIJA .....	34
1.7.3.	KIT MUTACIJE .....	36
1.7.3.1.	KIT EGZON 11 MUTACIJE .....	36
1.7.3.2.	OSTALE KIT MUTACIJE .....	36
1.7.4.	PDGFRA MUTACIJA .....	37
1.7.5.	WILD-TYPE GIST .....	37
1.7.6.	SDH-DEFICIJENTNI GIST .....	38
1.7.7.	GIST U OKVIRU NEUROFIBROMATOZE 1 .....	41
1.7.8.	GIST SA BRAF MUTACIJAMA .....	41
1.7.9.	SINDROM NASLEDNIH GIST .....	41
1.8.1.	PREOPERATIVNA PROCENA I BIOPSIJA .....	42
1.8.2.	INDIKACIJA ZA HIRURŠKO LEČENJE .....	43
1.8.3.	HIRURŠKE RESEKCIJE MARGINE .....	44
1.8.4.	LIMFADENEKTOMIJA I GIST .....	45
1.8.5.	ENDOSKOPSKE PROCEDURE U TRETMANU GIST ŽELUCA .....	46
1.8.5.1.	EMR (Endoscopic Mucosal Resection- Endoskopska mukozna resekcija) .....	47
1.8.5.2.	EBL (Endoscopic Band Ligation- Endoskopska band ligatura) .....	47
1.8.5.3.	ESD (Endoscopic Submucosal Dissection- Endoskopska submukozna disekcija) .....	48
1.8.5.4.	ESE (Endoscopic Submucosal Excavation - Endoskopska submukozna enukleacija) .....	48
1.8.5.5.	EFTR (Endoscopic Full-Thickness Resection-Endoskopska resekcija cele debljine zida) .....	49
1.8.5.6.	STER (Submucosal Tunneling Endoscopic Resection - Endoskopska submukozna tunelska resekcija) .....	49
1.8.5.7.	LECS (Laparoscopic and Endoscopic Cooperative Surgery - Laparoskopska i endoskopska kooperativna hirurgija) .....	50
1.8.6.	OPERATIVNE PROCEDURE U TRETMANU GIST ŽELUCA .....	51
1.8.6.1.	LAPAROSKOPSKA PROCEDURA U TRETMANU GIST ŽELUCA .....	52
1.8.6.2.	ROBOTSKA ASISTIRANA OPERACIJA .....	54
1.8.6.3.	OTVORENA TEHNIKA U OPERATIVNOM LEČENJU GIST .....	55
1.8.6.4.	HIRURŠKO LEČENJE TOKOM ADJUVANTNE TERAPIJE IMATINIBOM .....	56
1.8.7.	CILJANA MOLEKULARNA TERAPIJA .....	57

1.8.7.1.	ADJUVANTNA TERAPIJA .....	58
1.8.7.2.	NEOADJUVANTNA TERAPIJA .....	58
1.8.7.3.	IMATINIB - PRVA LINIJA TERAPIJE .....	59
1.8.7.4.	SUNITINIB - DRUGA LINIJA TERAPIJE .....	61
1.8.7.5.	REGORAFENIB - TREĆA LINIJA TERAPIJE .....	62
1.8.8.	LEČENJE UZNAPREDOVALE BOLESTI (MULTIDISCIPLINARNI PRISTUP) .....	63
1.9.	PRAĆENJE .....	63
2.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	65
3.	MATERIJAL I METODOLOGIJA .....	66
3.1.	DIZAJN STUDIJE .....	66
3.2.	GENETIČKA ANALIZA .....	67
3.3.	STATISTIČKA ANALIZA .....	68
4.	REZULTATI .....	69
4.1.	KARAKTERISTIKE SVIH BOLESNIKA UKLJUČENI U STUDIJU .....	69
4.1.1.	OPERATIVNE POROCEDURE .....	72
4.1.2.	PATOHISTOLOŠKA ANALIZA .....	73
4.1.3.	IMUNOHISTOHEMIJSKA ANALIZA .....	75
4.2.	REZULTATI BOLESNIKA SA GENETSKOM ANALIZOM .....	81
4.3.	REZULTATI BOLESNIKA SA TUMORIMA VISOKOG RIZIKA .....	89
5.	DISKUSIJA .....	99
6.	ZAKLJUČCI .....	110
7.	REFERENCE .....	111

# 1. UVOD

## 1.1. OPŠTE KARAKTERISTIKE GASTROINTESTINALNIH STROMALNIH TUMORA

Gastrointestinalni stromalni tumori (GIST) predstavljaju najučestalije mezenhimalne tumore digestivnog trakta koji vode poreklo od Cajal-ove intersticijalne ćelije ili njenih prekursora(1). Ranije su ovi tumori bili klasifikovani kao tumori porekla glatkih mišićnih ćelija (leiomiomi, leiomiblastomi, leiomiosarkomi). Termin GIST uveli su Mazur i Clark 1983. godine, kako bi ukazali na posebnu grupu mezenhimalnih tumora digestivnog sistema koji se ne mogu klasifikovati kao neurogeni niti kao tumori koji vode poreklo od glatkih mišićnih ćelija(2). GIST se sada definišu kao mezenhimalni tumori gastrointestinalnog trakta koji ekspiriraju KIT protein(3).

Pomoću elektronske mikroskopije i imunohistohemijskih ispitivanja, uočeno je da ćelije GIST pokazuju ultrastrukturne karakteristike i ekspiriraju ćelijske markere tipične za Cajal-ove intersticijalne ćelije, na osnovu čega je prihvaćeno gledište da GIST vode poreklo od Cajal-ove intersticijalne ćelije ili njenih prekursora. Imunohistohemijskim ispitivanjima utvrđeno je da ćelije GIST ekspiriraju KIT tirozin kinazni receptor (CD 117), kao i CD34 (antigen hematopoetskih matičnih ćelija), što ove tumore razlikuje od neurogenih i tumora koji vode poreklo od glatkih mišićnih ćelija. Genetska ispitivanja pokazala su da većina GIST poseduje mutaciju sa sticanjem funkcije (*gain-of-function mutation*) KIT ili PDGFRA (*platelet-derived growth factor receptor alpha*) gena(4). Približno 10-15% GIST u adultnoj populaciji i 85% GIST u pedijatrijskoj populaciji ne poseduju ove mutacije i ovi tumori klasifikovani su kao wild-type GIST (WT-GIST)(5).GIST se mogu javiti duž celog gastrointestinalnog trakta, a najčešći su u želucu (60%-70%) i tankom crevu (20-30%).Ovi tumori se javljaju najčešće oko 60. godine života i klinički se dominantno prezentuju krvarenjem iz gornjih partija digestivnog trakta i bolom u gornjim partijama trbuha(6).

Postoje različiti sistemi koji se koriste u cilju procene stepena malignog potencijala GIST, pri čemu su u kliničkoj praksi u upotrebi najčešće dva uporedna sistema. Prvi sistem uzima u obzir veličinu tumora i mitotski indeks kao parametre za utvrđivanje stepena malignog potencijala, dok drugi, pored navedenih parametara uzima u obzir i lokalizaciju tumora u digestivnom sistemu. Na



osnovu navedenih parametara, svi GIST mogu se klasifikovati kao GIST veoma niskog, niskog, intermedijarnog ili visokog malignog potencijala(7)(8).

Kompletna hirurška resekcija (R0) predstavlja metod izbora u lečenju resektabilnog GIST-a, kao i u lečenju lokalnog recidiva ili metastaze(9). U zavisnosti od veličine i lokalizacije tumora, kao i opšteg stanja bolesnika, u obzir dolaze različiti tipovi hirurških resekcija, koje imaju za cilj da obezbede R0 resekciju.

Utvrđivanje postojanja gain-of-function mutacije KIT gena, kao i ekspresije KIT tirozin kinaznih receptora na ćelijama GIST, omogućili su uvođenje inhibitora tirozin kinaze, kao što je imatinib mesilat u terapiju ovih tumora, počev od 2000. godine(10). Kako su GIST rezistentni na primenu zračne i hemioterapije, uvođenje inhibitora tirozin kinaze predstavljalo je uvođenje prve efektivne sistemske terapije za pacijente sa metastatskim ili lokalno neresektabilnim GIST. Sada se inhibitori tirozin kinaze, pored primene u metastatskoj fazi bolesti ili u slučaju pojave lokalnog recidiva, primenjuju i u formi adjuvantne ili neoadjuvantne terapije u procesu lečenja GIST. Istraživanja su takođe pokazala da tipovi mutacije KIT i PDGFRA gena imaju veliki značaj u predikciji terapijskog odgovora na primenu inhibitora tirozin kinaze, odnosno, da je efekat primene inhibitora tirozin kinaze u direktnoj vezi sa tipom genetske mutacije(11).

Detekcija postojanja i određivanje vrste mutacije KIT ili PDGFRA gena sve više dobijaju na značaju, s obzirom na činjenicu da novija istraživanja ukazuju na njihovu potencijalno zasebnu prognostičku i prediktivnu vrednost(12). Osnova za ispitivanje mutacionog statusa KIT i PDGFRA gena je dvostruka. Kao prvo, prognostička implikacija mutacionog statusa leži u činjenici da su dosadašnje studije pokazale da su mutacije u pojedinim egzonima KIT i PDGFRA gena različito distribuirane kod GIST visokog, odnosno niskog ili intermedijarnog malignog potencijala. S druge strane, već je pokazano da mutacioni status KIT i PDGFRA gena ima veliki značaj u proceni terapijskog odgovora na imatinib, odnosno da pojedine genetske mutacije dovode do pojave rezistencije na ovaj lek.

Dugogodišnja istraživanja GIST, kao relativno retke i kliničko-patološki specifične grupe tumora, dovela su do znatno boljeg razumevanja njihove biologije i kliničkog ponašanja, kao i značajnjeg napretka na polju dijagnostikovanja i lečenja ovih tumora. Stoga je današnji

pristup lečenju ovih tumora postao prototip savremenog kombinovanog multidisciplinarnog hirurškog i ciljanog molekularnog pristupa u lečenju neoplazmi(13),(14),(15),(16).

## 1.2. ISTORIJAT

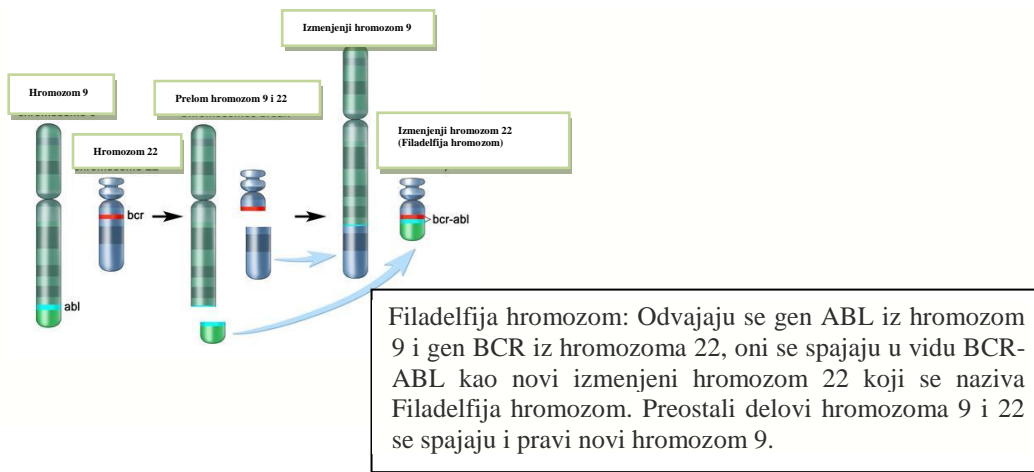
Gastrointestinalni stromalni tumori su u protekle četiri decenije intenzivno i temeljno proučavani, počevši od unapređenja patohistološke analize tumora, preko imunohistohemijskog i genetskog proučavanja. Paralelno sa napretkom znanja o poreklu ovih tumora unapređena je i njihova operativna i medikamentozna terapija. Nakon znatno dugog perioda nedovoljnog poznavanja prirode ovih tumora, u kratkom vremenskom roku dolazi do izuzetnog napretka u toj oblasti, međutim, ostalo je još prostora za usavršavanje. Ovde je dovoljno napomenuti, da čak i u najnovijoj, odnosno desetoj Međunarodnoj klasifikaciji bolesti (MKB), termin GIST ne postoji kao zaseban entitet.

Ovi tumori su ranije bili klasifikovani kao leiomiomi, leiomiosarkomi, leiomoblastomi, pleksosarkomi ili maligni fibrozni histocitomi. Prvu prekretnicu ka boljem razumevanju ovih tumora predstavljao je rad objavljen od strane Mazura i Klarka 1983.godine(2).Oni su dokazali da pored leiomioma, koji kao tipični tumori glatkih mišićnih ćelija ekspremiraju desmin i aktin i švanoma, tipičnih tumora nervnih ćelija koji ekspremiraju S 100, postoji i posebna grupa tumora koja slabije ekspremira desmin, aktin i S 100. Ova činjenica je sugerisala da se radi o posebnoj grupi tumora koji ne ekspremiraju markere karakteristične za tumore glatkomišićnih ćelija, odnosno tumore nervnih ćelija, tako da su oni ove tumore označili kao stromalne tumore. Treba naglasiti da su u radovima objavljenim pre 1998.godine tumori koji su imali sve karakteristike GIST-a bili klasifikovani kao drugi mezenhimalni tumori(17). Druga značajna prekretnica je kapitalni rad Hirota i saradnika iz 1998.godine(4).Ovi autori su svojim istraživanjima ukazali na novi koncept dijagnostike ovih tumora. Oni su na osnovu imunohistohemijskih markera dokazali da gastrointestinalni tumori ekspremiraju KIT (CD117) i CD34, dok ni jedan švanom ili leiomiom ne ekspremira CD 117 ili CD34 markere. Dalje su dokazali da i intersticijalne Cajalove ćelije, koji predstavljaju pejsmajker ćelije u zidu digestivnog trakta, takođe ekspremiraju ove imunohistohemijske markere, te je postavljena čvrsta pretpostavka da GIST potiču od Cajalovih ćelija ili njihovih prekursora u zidu digestivnog sistema. Nastavak ovih istraživanja primenom genetske analize c-KIT gena, ukazao je na postojanje aktivirajućih mutacija c-kit gena u egzonima 9, 11, 13 i 17 koji kodiraju jukstamembranozni domen KIT proteina, koji dovodi do konstitutivne aktivnosti c-kit tirozin kinaznog receptora u odsustvu

liganda. Na kraju, ubrizgavanje mutiranih c-kit u eksperimentalne miševe dovelo je do pojave tumora. Na osnovu ovih istraživanja prihvaćena je teza da GIST potiču od intersticijalnih Cajalovih ćelija sa aktivnom mutacijom na transmembranskom, odnosno jukstamembranoznom delu tirozin kinaze, koja dovodi do konstitutivne aktivacije receptora i posledično aktivacije intracelularnih signalnih puteva koji na kraju dovode do pojave tumora.

Treći značajni napredak predstavlja otkriće efikasnog medikamentoznog tretmana ovih tumora, naročito u metastatskoj i neresektabilnoj fazi. Uporedo sa otkrićima Hirota i saradnika o mutacionoj genezi GIST, tokom proučavanja hronične mijelogene leukemije otkriven je Filadelfija hromozom (BCR-ABL)(18). Filadelfija hromozom je izmenjeni hromozom 22 koji nastaje na taj način što se iz hromozoma 9 odvaja ABL gen, a iz hromozoma 22 se odvaja BCR gen. Preostali deo hromozoma 22 i 9 se spajaju i nastaje novi hromozom 22, dok odvojeni geni ABL iz hromozoma 9 i odvojeni ABL gen iz hromozoma 22 se spajaju fuzijom, pri čemu nastaje novi hromozom 9 koji se naziva Filadelfija hromozom. Ovaj BCR-ABL fuzioni hromozom se nalazi kod većine bolesnika sa hroničnom mijeloidnom leukemijom, ređe kod bolesnika sa akutnom limfoblastnom leukemijom ili u akutnoj mijelogenoznoj leukemiji. Otkriće Filadelfija hromozoma dovelo je do pronalaska inhibitora tirozin kinaze (TKI) i imatinib-mesilata, u sklopu istraživanja lečenja leukemije sa Filadelfija hromozomom, odnosno lečenja BCR-ABL pozitivne hronične mijeloidne leukemije.

Slika 1: Filadelfija hromozom



Tokom navedenih istraživanja na polju delovanja inhibitora tirozin kinaza (imatinib) tokom lečenja BCR-ABL pozitivne mijeloidne leukemije, konstatovano je da KIT i ABL imaju zajedničke strukturalne karakteristike, kao i da imatinib nema samo specifičan inhibitorni efekat na ABL, već i na KIT i PDGFRA receptore. Samo dve godine nakon otkrića c-KIT kao aktivirajuće mutacije u GIST, prvi pacijent sa uznapredovalim i metastatskim GIST ulazi u istraživanje lečenja imatiniba(19). Primena imatiniba u fazi uznapredovalih GIST, dovela je do velikog pomaka u lečenju bolesnika u ovoj fazi bolesti. Nakon ispitivanja u sklopu raznih studija, došlo se do podatka da je ukupno preživljavanje sa 9 meseci u uznapredovaloj fazi podignuto na 55 do 57 meseci. Na ovaj način, imatinib je zvanično uveden u terapiju GIST u uznapredovaloj i metastatskoj fazi bolesti.

S druge strane, nakon kompletne hirurške resekcije tumora većih od 3 cm i nakon primene imatiniba u vidu jednogodišnje adjuvantne terapije, dokazano je poboljšanje jednogodišnjeg "recurrence-free" preživljavanja. Nakon ovih saznanja, sprovedena su istraživanja o primeni imatiniba u vidu adjuvantne terapije u trajanju od tri godine, koja su pokazala bolje "recurrence free" i ukupno preživljavanje pacijenata u odnosu na jednogodišnju primenu, te je aktuelna preporuka adjuvantna primena imatiniba u trajanju

od 3 godine(20). Nove studije o značaju i efektivnosti adjuvatne primene imatiniba u petogodišnjem periodu su u toku.

Pored poboljšanja stope preživljavanja nakon uvođenja imatiniba u terapiju GIST, pokazano je da oko 10% bolesnika pokazuju primarnu rezistenciju na imatinib, dok čak 50% bolesnika razvijaju sekundarnu rezistenciju na primenu imatiniba. Postojanje, odnosno razvoj rezistencije na imatinib, doveo je do uvođenja sunitiniba i regorafeniba u vidu druge, odnosno treće linije terapije GIST(21),(22).

Tokom prethodnih 35 godina, a naročito prethodnih 20 godina došlo je do značajnog unapređenja poznavanja patohistološke, imunohistohemijske i genetske prirode, kao i hirurških i molekularnih modaliteta lečenja GIST. I pored intenzivnog napretka na tom polju, i dalje postoji potreba za pronalaženjem boljih modaliteta lečenja ovih tumora.

### 1.3. EPIDEMIOLOGIJA

Gastrointestinalni stromalni tumori, iako retki, spadaju u najčešće mezenhimalne tumore gastrointestinalnog trakta. Međutim, kako GIST predstavlja entitet novijeg datuma, realna procena incidence i prevalencije ovih tumora na globalnom nivou je još uvek limitirana zbog nedostatka uniformnih dijagnostičkih kriterijuma, kao i nepostojanja specifične šifre u MKB sistemu. Određeni uvid u epidemiološke karakteristike GIST može se steći na osnovu podataka dostupnih i do sada objavljenim studijama, pri čemu nisu svi geografski regioni podjednako zastupljeni u pogledu dostupnosti i relevantnosti podataka(23), (24), (25), (26), (27), (28).

Većina studija pokazuje godišnju incidenciju od 10 do 15 slučajeva na milion stanovnika i prevalenciju od 130 slučajeva na milion stanovnika. Visoka incidenca od 19 do 22 slučaja na milion stanovnika zabeležena je na severu Norveške, u provincijama Hong Kong i Šangaj u Kini, kao i u Koreji, što predstavlja gornju granicu opsega incidence u do sada objavljenim studijama. S druge strane, najniža incidenca od 4,3 do 6,8 slučajeva na milion stanovnika zabeležena je u studijama iz Šansi provincije u Kini kao i u Češkoj, Slovačkoj i Severnoj Americi(29).

Iako se GIST mogu javiti u bilo kom životnom dobu, prosečna starost pacijenata u trenutku postavljanja dijagnoze u većini studija iznosi 60 godina, sa većinom pacijenata u starosnoj grupi od 40 do 80 godina. GIST koji se javljaju u pedijatrijskoj populaciji, kod mlađih odraslih i u sklopu sindroma povezanih sa GISTsu znatno ređi i predstavljaju zasebnu kliničko-patološku podgrupu, koja se po pojedinim karakteristikama razlikuje od konvencionalnih sporadičnih GIST sa mutacijama KIT ili PDGFRA gena. Distribucija po polovima pokazuje praktično podjednaku zastupljenost muškaraca i žena. Osim pojedinih razlika u incidenciji, većina epidemioloških karakteristika kao što su raspodela po polu, prosečna starost, klinička prezentacija i lokalizacija tumora, ne pokazuju značajnije varijacije u pogledu geografske distribucije(30),(31).

GIST mogu nastati duž celog digestivnog trakta, a najčešće se javljaju u želucu (60%) i tankom crevu (20-30%), znatno ređe u kolorektumu (5%) i jednjaku (5%). Izuzetno retko mogu se javiti kao ekstragastrintestinalni stromalni tumori (eGIST) u uterusu, rektovaginalnom septumu, vagini, mezenterijumu, omentumu ili retroperitoneumu(32).

Pored toga što se GIST najčešće javljaju u sporadičnoj formi, opisani su retki slučajevi familijarne pojave GIST kao i pojava GIST u sklopu određenih sindroma.

Familijarni GIST karakterišu segerminativnom mutacijom bilo KIT ili PDGFRA gena i autozomno dominantnim načinom nasleđivanja, a klinički se prezentuju pojavom multiplih GIST u digestivnom traktu kod relativno mlađih osoba(33).

Carney-Stratakis sindrom klinički se prezentuje pojavom dijade koju čine GIST želuca i paragangliom, dok Carney trijada pored GIST želuca podrazumeva postojanje plućnih hondroma i ekstraadrenalnih paraganglioma(34).

Zapaženo je da su pacijenti oboleli od neurofibromatoze1(NF1, Morbus von Recklinghausen) u većem riziku za dobijanje GIST(35). Studija sprovedena na 70 pacijenata sa NF1 u Švedskoj pokazala je incidencu GIST u ovoj grupi od oko 7%. Osim toga, zapaženo je da se kod pacijenata sa NF1 GIST predominantno javljaju u tankom crevu, da su nešto drugačijih kliničko-patoloških karakteristika u odnosu na sporadične GIST, kao i da su rezistentni na imatinib. Navedene opservacije najverovatnije ukazuju na to da se mehanizam karcinogeneze GIST razlikuje kod bolesnika sa NF1 u odnosu na one koji ne boluju od NF1(36).

Kao posebna grupa mogu se izdvojiti pedijatrijski GIST zbog razlika u odnosu na GIST koji se javljaju u adultnoj populaciji. Pedijatrijski GIST karakterišu se odsustvom mutacija KIT i PDGFRA gena u čak 85% slučajeva, učestalijom multicentričnom pojavom tumora, kao i učestalijom rezistencijom na imatinib(37).



#### 1.4. KLINIČKA SLIKA

Klinička slika GIST zavisi od veličine i lokalizacije tumora, ali je uglavnom nespecifična i zasniva se na simptomima pritiska i pratećim komplikacijama koje nastaju tokom sporog rasta tumora. Veličina GIST varira od nekoliko milimetara do preko 30 centimetara, i upravo veličina najčešće diktira simptome. Tumori malih dimenzija su uglavnom asimptomatski i najčešće se otkrivaju tokom dijagnostičkih ili hirurških procedura, zbog drugih bolesti. Incidentalno otkrivanje GIST se sreće u oko 30% slučajeva i to se pre svega odnosi na tumore manje od 2-3 cm, koji su češće intramuralni ili polipoidni, dok su tumori dimenzija većih od 5 cm obično egzofitnog ili mešovitog tipa rasta i uglavnom simptomatski.

GIST su u oko 70% slučajeva simptomatski i najčešća klinička prezentacija je krvarenje iz gastrointestinalnog trakta (oko 50% slučajeva), koje je češće akutno i zahteva urgentnu intervenciju (40%), nego hronično, koje se manifestuje hroničnom anemijom. Krvarenja su najčešće uzrokovana ulkusom na tumoru. Nespecifični simptomi kao što su mučnina, povraćanje, nelagodnost u trbuhu, značajan gubitak telesne težine i pojava rane sitosti često mogu pratiti GIST želuca. Bol u trbuhu, nadutost ili palpabilna masa u trbuhu sreću se ređe, u oko 20% slučajeva i to uglavnom u slučaju GIST većih dimenzija, dok se u slučaju eGIST (ekstragastrointestinalni GIST) ovakva prezentacija viđa kod 80% pacijenata i to po pravilu ukoliko je tumor veličine preko 10 cm. Retko, može doći do krvarenja iz tumora u trbušnu duplju, što uzrokuje bol ili nastanak anemije. GIST tankog creva najčešće se prezentuje kliničkom slikom opstruktivnog ileusa. Ruptura tumora, kao i crevna perforacija koja može nastati kao posledica rasta tumora, predstavljaju urgentna stanja praćena pneumoperitoneumom i krvarenjem i zahtevaju urgentnu hiruršku intervenciju.

U oko 10% slučajeva, prva manifestacija bolesti uzrokovana je prisustvom tumorskih metastaza, posebno u jetri, ređe peritonealnom diseminacijom, dok su limfonodalne i ekstraabdominalne metastaze izuzetno retke.

## **1.5. DIJAGNOSTIKA**

Dijagnostikovanje GIST-a zavisi pre svega od kliničke prezentacije i stadijuma bolesti. Nakon anamneze i kliničkog pregleda, najčešće se sprovodi endoskopska i radiološka dijagnostika. U određenim situacijama, prvenstveno u urgentnim uslovima (ileus) ili u slučajevima akutnog krvarenja iz GIT nejasnog porekla, klinička dijagnostika je često intraoperativna.

U endoskopske dijagnostičke procedure spadaju ezofagogastroduodenoskopija i endoskopska ultrasonografija. U radiološke dijagnostičke procedure spadaju ultrazvuk abdomena, MDCT abdomena i male karlice, MR adomena i male karlice i po potrebi i PET-CT. Na osnovu navedenih procedura može se postaviti sumnja na postojanje GIST, dok se definitivna dijagnoza GIST može postaviti isključivo nakon patohistološkog i imunohistohemijskog pregleda reseciranog tumora. U nejasnim situacijama, kada ni patohistološka ni imunohistohemijska ispitivanja ne mogu potvrditi dijagnozu GIST, ispitivanje mutacija na genima KIT i PDGFRA mogu da potvrde konačnu dijagnozu GIST. Izuzetno retko, uz rizik od nastanka krvarenja i ruptur tumora, može se izvršiti endoskopska biopsija tumora.

### **1.5.1. STANDARDNA ENDOSKOPIJA**

Endoskopskim pregledom GIST se mogu prezentovati kao submukozna loptasta izbočenja koja prominiraju u lumen (jednjaka, želuca, creva) sazategnutom, zaravnjenom mukozom bez nabora, uglavnom kao jasno ograničeni tumori, ponekad sa umbilikacijom, odnosno ulceracijom na vrhu, gde se može videti krvarenje.

Tokom endoskopskog pregleda treba imati u vidu da u diferencijalnu dijagnozu ulazi paleta različitih submukoznih promena kao što su polipi, ciste, pseudociste, lipomi, liposarkomi, leiomiomi, leiomiosarkomi, hemangiomi, variksi, aneurizme, neurinomi, inflamatorni tumori, aberantno tkivo pankreasa ili ekstraluminalna kompresija, od strane susednih organa ili kompresija od strane tumora susednih organa(38). Neke karakteristike kao što su lokalizacija, veličina, boja, čvrstina i zaravnjenost mukoze nad tumorom sa ili bez ulceracije sugerisu na GIST(39). Pored svih karakteristika, prava dijagnoza GIST se postavlja na osnovu imunohistohemijske analize isečaka tumora, koja je u slučaju

endoskopske biopsije izuzetno otežana. S obzirom na to da GIST potiču od dubljih struktura zida, odnosno polaze od mišićnog sloja, uobičajene endoskopske biopsije uglavnom nisu reprezentativne, i zavisno od uznapreovalosti tumora samo u 30% slučajeva mogu da budu validne za potvrdu GIST. Uzimanje endoskopske biopsije metodom " Bite-on-bite" tj. uzimanje više biospijasa istog mesta u cilju dobijanja uzoraka dubljih slojeva zida ili uzimanje biospije "Jumbo" forcepsom, povećavaju validnost endoskopske biopsije u cilju potvrđivanja dijagnoze GIST na samo 42%(40). Treba naglasiti da je ovakav vid uzimanja biopsije često praćen pojavom krvarenja, koje zahteva neki vid hemostaze.

Na osnovu endoskopskog pregleda, može se postaviti sumnja da je viđena submukozna tumorska promena GIST. Udiferencijalnoj dijagnozi dolaze u obzir sve druge submukozne i intramuralne lezije u zidu želuca kao što su leiomiomi, leiomiosarkomi, švanomi ili lipomi. Ekstramuralna kompresija zida želuca od strane drugih patoloških promena u trbuhu, kao što su tumori transverzalnog kolona, pankreasa ili jetre, mogu da daju endoskopsku sliku koja može ličiti na GIST(41).

### **1.5.2. ENDOSKOPSKA ULTRASONOGRAFIJA**

U diferencijalnoj dijagnozi kao i u cilju bolje vizualizacije submukoznog tumora u zidu želuca, endoskopska ultrasonografija može da pruži dodatne informacije o tumoru, kao što su: sloj zida želuca u kome je tumor lokalizovan, veličina tumora, struktura građe tumora, granice tumora kao i eventualne neregularnosti granica tumora, invazivnost tumora u smislu infiltracije dubljih slojeva zida ili susednih organa, kao i informacije o stanju regionalnih limfnih nodusa. EUS za razliku od endoskopskog pregleda pruža informacije o građi i unutrašnjosti submukozne lezije i omogućava razlikovanje intramuralnih tumora želuca od vaskularnih lezija u zidu želuca ili ekstramuralne kompresije.

Tokom endoskopske ultrasonografije, s obzirom da GIST polazi od lamine muskularis proprije, odnosno od četvrtog sloja zida, GIST manjih dimenzija manifestuje se kao jasno ograničena, homogena i hipoehogena tumorska promena koja polazi od mišićnog zida. Kada je GIST većih dimenzija, tada se prikazuje kao iregularna masa koja probija i u druge slojeva zida(42). Endoskopska ultrasonografijane samo da omogućava diferencijaciju

GIST od drugih submukoznih tumora i ukazuje na veličinu i lokalizaciju GIST u zidu želuca, već nekada može na osnovu ultrasonografskih karakteristika tumora, pomoći u razlikovanju GIST benignih karakteristika od GIST malignih karakteristika. U EUS karakteristike koje mogu ukazivati na maligni karakter GIST spadaju dimenzije tumora veće od 5cm, kao i iregularne granice tumora (43). Drugi parametri koji mogu ukazati na maligni karakter GIST su lokalna invazija, heterogenost, postojanje ulceracije, invazija susednih organa, uvećanje okolnih limfnih nodusa. Ovi znaci mogu sa sigurnošću od 80% do 100% da ukažu na maligni karakter GIST. Postoji više objavljenih radova i studije koje ukazuju na značaj EUS u diferencijalnoj dijagnozi GIST od drugih submukoznih lezija želuca(44),(45). Bez obzira na sve prednosti EUS, preciznost endoskopske ultrasonografije u diferencijalnoj dijagnozi GIST od drugih subepitelih lezija u znatnoj meri zavisi i od iskustva endoskopiste i njegove interpretacije.

Nove tehnike uvedene u endoskopskoj ultrasonografskoj dijagnostici kao što su EUS ojačana kontrastom, real-time elastografija i digitalna analiza snimaka, mogu da budu od pomoći u poboljšanju dijagnostičkih kapaciteta EUS(46). Endoskopska ultrasonografija ima značajnu ulogu ne samo u postavljanju dijagnoze GIST, već i u slučajevima praćenja tumora, u slučajevima kada nije bila indikovana resekcija. U takvim slučajevima EUS ima značajnu ulogu u praćenju prirode tumora i može da ukaže na indikaciju za operativni tretman. S druge strane, EUS može da bude od velike koristi u cilju selekcije bolesnika kod kojih je indikovana endoskopska resekcija tumora.

### **1.5.3. BIOPSIJA GIST**

S obzirom na submukozni i transmuralni rast GIST, uglavnom je teško dobiti adekvatan uzorak tumorskog tkiva za patohistološku verifikaciju putem endoskopske biopsije. Osim toga, endoskopska biopsija nije preporučljiva zbog potencijalnog izazivanja krvarenja i rupture tumora. Perkutana iglena biopsija je predložena kao preoperativna dijagnostička procedura, ali ni ova metoda zbog pratećih rizika i nedovoljne senzitivnosti nije generalno prihvaćena. Perkutana iglena biopsija ili laparoskopska biopsija peritonealnih depozita i depozita u jetri, indikovane su samo u inoperabilnim slučajevima, a u cilju potvrde dijagnoze pre primene sistemske terapije inhibitorima tirozin kinaze.

S obzirom da je resekcija terapija izbora u lečenju GIST u svim slučajevima kada je na osnovu preoperativnih dijagnostičkih procedura postavljena sumnja na simptomatski GIST koji je resektabilan, nije preporučeno uzimanje uzoraka i patohistološke potvrde dijagnoze GIST u preoperativnom periodu.

Patohistološka potvrda GIST je neophodna u slučajevima neresektabilnih tumora, odnosno kada je indikovano uvođenje neoadjuvantne terapije inhibitorima tirozin kinaze. Za patohistološku potvrdu GIST uzimanje isečka tumora je moguće na različite načine, koji sa sobom nose i mogućnost nastanka komplikacija, kao što su krvarenje, ruptura tumora ili rasejavanje tumorskih ćelija. Ranije su spomenuti endoskopska klasična biopsija, endoskopska "Bite-on-bite" biopsija, "Jumbo forceps" biopsija, EUS-FNA (endoskopska ultrasonografska iglena aspiracija), EUS-FNB (endoskopska ultrasonografska iglena biopsija), endoskopska submukozna resekcija, laparoscopska ili hirurška resekcija.

Endoskopska ultrasonografska iglena aspiraciona biopsija (Endoscopic UltraSound Fine Needle Aspiration: EUS-FNA) omogućava uzimanje uzoraka iz submukoznih tumora i znatno je efikasnija kod uzimanja uzoraka iz GIST želuca u odnosu na GIST duodenuma ili jednjaka. Često, čak do 33% uzoraka dobijenih ovom metodom nisu adekvatni za potvrdu patohistološke dijagnoze(47). Druga metoda koja se koristi za patohistološku potvrdu dijagnoze je EUS-guided Tru-cut core biopsy (endoskopska ultrasonografska vođena iglena biopsija), odnosno uzimanje biopsije tumora pod kontrolom endoskopskog ultrazvuka Tru-cut iglom. Bez obzira na gore navedeno, zbog prirode tumora i teškoće pri uzimanju uzoraka, naročito pri lokalizaciji GIST u predelu kardije i fundusa, ova metoda ima svoje limite i preporučena je samo u slučajevima kada je indikovana primena neoadjuvantne terapije, te je potrebno biopsijom potvrditi patohistološku i imunohistohemijsku dijagnozu GIST(48). Intraoperativna, „*ex tempore*“ i makroskopska dijagnostika može biti jako sugestivna za GIST ukoliko se vidi ekstraluminalna (intramuralna ili ekstramuralna) ekspanzivna masa, koja može biti delimično lobulizovana, žilavo-čvrste do mekano-elastične građe sa pseudokapsulom ili prekrivena glatkom serozom. Tumor se može videti i kao pendularna masa ili masa odvojena od digestivne cevi, nekada može biti praćena manjim okolnim satelitskim nodusima (multinodularna prezentacija), što se mora razlikovati od multiple (multisegmentne) prezentacije ili metastatskih depozita.

Preporučuje se histološko dokazivanje mezenhimalnog tipa tumora „ex tempore“, ali tek nakon ekstrakcije tumora iz organizma, zbog visokog rizika od jatrogenog intraabdominalnog rasejavanja tumora i krvarenja, izuzev u inoperabilnim situacijama, kada je biopsija obavezna radi potvrde dijagnoze GIST.

#### **1.5.4. RADIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA**

Kompjuterizovana tomografija (CT) predstavlja „zlatni standard“ preoperativne dijagnostike za sve GIST intraabdominalne lokalizacije, dok se za pelvičnu i rektalnu lokalizaciju preporučuje pregled magnetnom rezonancom (MR). Ovim pregledima se dobro vizualizuju lokalizacija i ekstenzivnost tumora i od izuzetne suvažnosti u proceni resektabilnosti kako primarnih, tako i metastatskih promena. Ultrazvučna dijagnostika, kao i radiološka snimanja s barijumskim kontrastom, mogu biti od koristi u primarnoj proceni proširenosti tumora i detekciji metastaza. Pozitronska emisiona tomografija (PET scan) je od manjeg značaja u preoperativnoj dijagnostici GIST, ali je naročito korisna u detekciji sekundarnih depozita tumora, pa se preporučuje kod malih ili slabo detektabilnih depozita dobijenih na standardnoj CT, kao i za diferencijalnu dijagnostiku benignih tumora i nekrotičnih masa od GIST. Osim toga, PET i CT su od izuzetne važnosti u postoperativnoj evaluaciji bolesti, a naročito u proceni efekta primene neoadjuvantne ili adjuvantne terapije.

##### **1.5.4.1. KOMPJUTERIZOVANA TOMOGRAFIJA**

Gastrointestinalni tumori želuca, zavisno od svoje veličine, različito se prezentuju na CT-u. Uglavnom se detektuju kao tumorska masa sa ravnim konturama, obično dobro vaskularizovana. Manji tumori su dobro ograničeni i prezentuju se u vidu homogene loptaste strukture koja prominira u lumen želuca ili se nalazi u samom zidu. Veći tumori su heterogene strukture sa solidnim i cističnim komponentima, mogu da imaju i intraluminalne, transmuralne ili ekstraluminalne komponente i uglavnom su dobro vaskularizovani. Mogu da budu jasno ograničeni ili bez jasne granice i da naležu na susedne organe. U masi tumora može se detektovati nekrotično polje ili se može videti *per os* dati kontrast u masi tumora, kroz fistulozne komunikacije tumora sa lumenom želuca. U slučaju perforacije tumora u peritonealnu duplju, detektuje se hidropneumoperitoneum i razlivanje

kontrasta u trbušnu duplju(49). CT pored prikazivanja primarnog tumora, može da detektuje i metastaze u jetri, odnosno njihovu veličinu, lokalizaciju i broj. Pored toga, CT pokazuje i eventualno postojanje limfadenopatije, kao i postojanje peritonelane diseminacije. Kao poseban podatak je CT nalaz koji ukazuje na stanje neresektabilnosti tumorskog procesa koji zahteva uvođenje neoadjuvantne terapija imatinibom.

Posebnu ulogu koju CT ima je procena efekta primene inhibitora tirozin kinaze. Predložena je primena RECIST kriterijuma (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors - Kriterijumi za procenu odgovora u solidnim tumorima) koji na osnovu promene veličine tumora na osnovu CT nalaza ukazuju na efekat primene terapije(50).

Tabela1: RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors - Kriterijumi za procenu odgovora u solidnim tumorima)

Kriterijumi	Odgovor	Objašnjenje
<b>RECIST</b>	CR	Bez vidljive target lezije koje su bili viđene pre terapije. Svi suspekti limfni nodusi su smanjeni na < 10 mm
	PR	Smanjenje najduže ose tumora za $\geq 30\%$ u odnosu na primarne dužine pre primene terapije
	SD	Nema znakova parcijalnog odgovora ni znakova progresije bolesti
	PD	Povećanje od $\geq 20\%$ u dužini najdužeg prečnika ose primarne lezije, sa apsolutnim povećanjem od >5mm u dužini najduže prečnik ose tumora u odnosu na period pre tretmana Pojave nove lezije

**RECIST** : Response Evaluation Criteria in Solid Tumors - Kriterijumi za procenu odgovora u solidnim tumorima

**CR**: Complete Response - kompletan odgovor

**PR**: Partial Response - parcijalni odgovor

**SD** : Stable Disease - stabilna bolest

**PD**: Progressive disease - progresije bolesti

Posebno treba naglasiti i ulogu CT -a u praćenju bolesnika operisanih zbog GIST. Ukratko, bolesnicima koji su operisani zbog GIST visokog rizika, prve tri godine treba raditi CT tri do četiri puta godišnje, potom naredne dve godine dva puta godišnje i potom jednom godišnje. Za bolesnike operisane zbog GIST niskog rizika, CT se radi jednom ili dva puta godišnje u prvih pet godina nakon operacije.

Nakraju treba spomenuti i primenu novih tehnoloških metoda u CT dijagnostici kao što su trodimenzionalni CT (3D) , "Dual Energy CT" (DECT) i perfuzioni CT koji su senzitivniji za detekciju patoloških lezija i njihovo praćenje(51),(52),(53). U slučaju da CT nalaz iz bilo kog razloga nije dovoljno pouzdan za procenu stanja tumora, dijagnostiku treba dopuniti MR i PET-CT nalazom.

#### 1.5.4.2. MAGNETNA REZONANCA

MR je alternativna dijagnostička metoda koja se primenjuje u slučajevima kada postoji kontraindikacija za upotrebu CT sa kontrastom. S druge strane MR-om se bolje vizualizuju sekundarni depoziti u jetri.



#### **1.5.4.3. PET (POZITRONSKA EMISIONA TOMOGRAFIJA)**

PET-CT se zasniva na primeni analoga glukoze-fluorodeoksiglukoze (FDG), koja je obeležena ciklotronskim proizvodom, izotopom fluora ( $^{18}\text{F}$ ). Ova kombinacija molekula glukoze i radioaktivne supstance nakon intravenske aplikacije ulazi u metabolizam glukoze u organizmu. Tokom metabolizma, radioaktivno obeležena glukoza emituje pozitron koji se registruje kao signal. Kako maligne ćelije intenzivnije metabolišu glukozu u odnosu na normalne ćelije, tako se i radioaktivno obeležena glukoza ( $^{18}\text{F}$  FDG) više se nakuplja i metaboliše u malignim ćelijama i malignom tkivu. Po tom principu, u kombinaciji sa CT-om koji pokazuje morfologiju organa, dobija se trodimenzionalna slika koja ukazuje na lokalizaciju tumora, odnosno sekundanih depozita (54). PET-CT se ne koristi rutinski u cilju postavljanja primarne dijagnoze GIST, međutim kada je na osnovu drugih dijagnostičkih metoda tumor na granici resektabilnosti, "borderline" PET-CT ima značajnu ulogu u cilju donošenja odluke o daljem lečenju.

S obzirom na to da se prvi znaci efekta primene terapije mogu registrovati na PET-CT-uveć 24časa nakon uvođenja terapije, PET-CT ima izuzetno značajnu ulogu u proceni efekta primeneneoadjuvantne terapije imatinibom kod GIST, naročito u prve 2-3 nedelje od uvođenja terapije, kada treba da se proceni njen efekat i da se donese odluka o nastavku ili ukidanju terapije(55). Na osnovu specifičnosti PET-CT u proceni efekta primenjene terapije kod GIST, 2009. godine je formiran PET kriterijum za procenu terapijskog odgovora u solidnim tumorima, takozvani PET Response Criteria in Solid Tumors (PERCIST)(56).

Tabela 2: PERCIST (PET Response Criteria in Solid Tumors- PET kriterijumi za procenu terapijskog odgovora u solidnim tumorima)

Kriterijumi	Odgovor	Objašnjenje
<b>PERCIST</b>	CMR	Potpuni nestanak FDG iz obolelog organa
	PMR	Smanjenje FDG za $\geq 30\%$ u obolelom organu
	SMD	Bez znakova za CMR, PMR ili PMD
	PMD	Povećanje FDG za $>30\%$ u obolelom organu
		Pojave novog nakupljanja FDG

**RECIST:** PET Response Evaluation Criteria in Solid Tumors - PET kriterijumi za procenu terapijskog odgovora u solidnim tumorima

**CMR :** Complete Metabolic Response - metabolički kompletan odgovor

**PMR:** Partial Metabolic Response - metabolički parcijalni odgovor

**SMD :** Stable Metabolic Disease - metabolička stabilna bolest

**PMD:** Progressive Metabolic disease - metabolički progresivne bolesti

### **1.5.5. PATOLOŠKA DIJAGNOZA**

Iako GIST mogu da se jave u bilo kom segmentu digestivnog trakta, najčešće se javljaju u želucu (60%) i tankom crevu (30%). GIST se retko javljaju na lokacijama van gastrointestinalnog trakta, kao na primer u omentumu, mezenterijumu ili u retroperitoneumu (57). GIST mogu biti veličine od nekoliko milimetara (kada su uglavnom asimptomatski i dijagnostikuju se incidentalno) do veličine preko 35 cm(58).Bez obzira na veličinu, GIST pokazuju tipične morfološke karakteristike kao i imunohistoheмиjske reakcije na c-Kit (CD 117), a mogu posedovati onkogene mutacije na KIT (80% - 85%) ili PDGFRA (5% -7%) genu(59).

#### **1.5.5.1. MORFOLOGIJA**

Makroskopski GIST se prikazuju kao dobro ograničene submukozne (intramuralne) promene, često sa karakterističnom centralnom ulceracijom. Na preseku, tumori su uglavnom inkapsulirani Veliki tumori često na poprečnom preseku pokazuju zone nekroze, hemoragije ili cistične degeneracije. GIST imaju tendenciju intramuralnog rasta i uglavnom zahvataju submukozni i mišićni sloj zida. Veliki tumori imaju uglavnom zvonasti izgled, sa probojom u lumen organa ili/i van seroze.

Morfološki GIST su tumori varijabilne celularnosti sastavljeni prvenstveno od vretenastih ćelija, u manjem procentu od epiteloidnih ćelija, a retko su mešovite, vretenasto-epiteloidne građe. Iako morfologija ovih tumora može biti lako prepoznatljiva i vrlo sugestivna, GIST se teško mogu razlikovati od drugih stromalnih tumora samo na morfološkom nivou. Na osnovu histoloških karakteristika GIST se mogu podeliti u tri histološke podgrupe: vretenasto-ćelijski, epiteloidni i mešoviti tip GIST.

Vretenasti tip ćelija je najčešće zastupljen i viđa se u 70% slučajeva GIST-a. Ove ćelije su nejasno ograničene, karakteriše ih bleđa eozinofilna citoplazma i vretenasta ili ovoidna, uglavnom uniformna jedra. GIST imaju kraće vretenaste ćelije, kraća ovalna jedra i bleđu, manje fibrilarnu citoplazmu, za razliku od leiomiogenih tumora koji imaju izdužene vretenaste ćelije i fibrilarnu citoplazmu. Takođe, građa tumora je manje fascikularna sa nepravilnim ćelijskim snopovima.

Epiteloidni tip ćelija prisutan je u oko 20% GIST. Epiteloidne ćelije su okruglaste ćelije koje se odlikuju eozinofilnom do svetlom citoplazmom, organizovane u nepravilne gnezdaste formacije. Ćelije su obično manje uniformne po veličini i obliku, nego kod vretenastoćelijskih tumora. Ovaj tip tumora karakteriše se varijabilnom celularnošću i češćim stromalnim promenama.

Mešoviti tip tumora javlja se u 10% slučajeva i karakteriše se prisustvom oba tipa gore pomenutih ćelija.

U retke citomorfološke tipove GIST, koji se javljaju u 5-10% slučajeva, spadaju: gigantocelularni tip, okrugloćelijski (anaplastični) tip i pleomorfni tip. Ovi tipovi, iako retki, mogu predstavljati veliki dijagnostički problem.

#### **1.5.5.2. IMUNOHISTOHEMIJA**

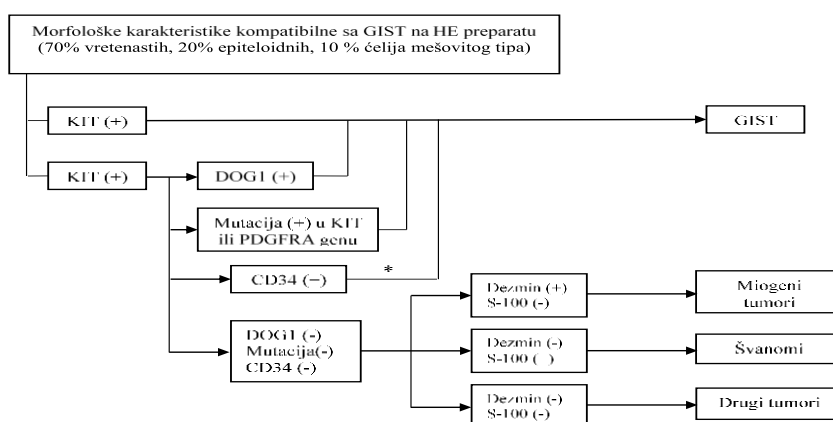
Patološka dijagnoza GIST uglavnom se postavlja na osnovu histološkog profila tumora, međutim, u cilju potvrde dijagnoze neophodno je sprovesti imunohistohemijska ispitivanja(7). Dok ispitivanje KIT (CD 117) i CD 34 imunopozitivnosti, uz postojanje karakterističnih patomorfoloških karakteristika, predstavlja zlatni standard za postavljanje dijagnoze GIST. Dodatna imunohistohemijska ispitivanja sa dodatnim antitelima (imunohistohemijskim markerima) mogu biti od koristi u cilju potvrđivanja dijagnoze ili u diferencijalnom dijagnostikovanju ovih tumora. Imunohistohemijski 94-98% GIST pokazuju pozitivnost na KIT (CD 117) protein, koji je retko eksprimiran u drugim abdominalnim tumorima, dok 60-80% GIST pokazuje imunopozitivnost na CD34.

Imunohistohemijska ispitivanja sa novootkrivenim antitelom na DOG1 (*discovered on gastrointestinal stromal tumor 1*) pokazuju pozitivnost u 85%-95% slučajeva c-KIT pozitivnih GIST i u 30%-36% slučajeva c-KIT negativnih GIST (60), zbog čega imunohistohemijska reakcija na DOG1 može biti od koristi za potvrdu dijagnoze GIST, naročito u slučajevima c-KIT negativnih GIST. U slučaju da tumor poseduje morfološke karakteristike koje odgovaraju GIST, kao i ako je imunohistohemijska reakcija na c-KIT pozitivna, dijagnoza GIST može biti postavljena. U slučaju da je tumor imunohistohemijski c-KIT negativan, ali da pokazuje DOG1 imunopozitivnost, dijagnoza GIST može biti

potvrđena. Ako su imunohistochemijski i c-KIT i DOG1 negativni, ali se genetskim analizama potvrdi postojanje KIT ili PDGFRA mutacija, u tom slučaju se može postaviti dijagnoza GIST. U slučaju gastrointestinalnih mezenhimalnih tumora koji na osnovu gore navedenih kriterijuma nisu dijagnostikovani kao GIST, diferencijalno dijagnostički se vrše ispitivanja na druge imunohistochemijske markere, među kojima su CD34, SMA, S-100, desmin i protein kinaza C (PKC) (61). Gore navedeni kriterijumi za postavljanje dijagnoze GIST prikazani su u šemi 2.

Oko 5% GIST su c-KIT negativni(62). U ovoj grupi c-KIT negativnih GIST oko 40%-45% su pozitivni na CD34, oko 75% su pozitivni na PKC-theta i oko 30%-40% su pozitivni na SMA(63). U cilju isključivanja neuralnih tumora vrši se ispitivanje imunopozitivnosti na S-100, dok se ispitivanje imunopozitivnosti na desmin koristi u cilju isključivanja glatkomišićnih tumora.

Slika 2: Algoritam potvrde dijagnoze GIST pomoću imunohistohemije i genotipizacije.  
 Znak \* označava da je u navedenom slučaju potrebno isključiti postojanje solitarnog fibroznog tumora.(HE – hematoksilin-eozin bojenje).



Ispitivanje imunohistohemijskih karakteristika ćelija GIST počinje 1994.godine, kada je otkriveno da ćelije GIST pokazuju imunoreaktivnost na antigen humanih hematopoetskih matičnih ćelija (CD 34, *stem cell factor*), nakon čega 1997. godine sledi otkriće još značajnije imunoreaktivnosti GIST tumorskih ćelija na antitela protiv KIT proteina (CD 117), koji predstavlja tirozin kinazni receptor na površini ćelijske membrane i koji je proteinski produkt c-kit gena. Taj trenutak predstavlja prekretnicu u daljem istraživanju i razumevanju onkogeneze GIST, kao i u daljem razvoju dijagnostike i lečenja ovih tumora. Kindeblom i saradnici su 1998.godine sugerisali da GIST vode poreklo od Cajal-ove intersticijalne ćelije ili njenih prekursora, s obzirom na to da je otkriveno da od svih ćelija u gastrointestinalnom sistemu jedino Cajal-ove ćelije pokazuju imunopozitivnost na KIT. Cajal-ove intersticijalne ćelije predstavljaju deo mijenteričnog plexusa, imaju ulogu „pejsmejкера” u zidu organa digestivnog sistema, odnosno, zadužene su za započinjanje

peristaltičkog talasa i nalaze u prostoru između autonomne inervacije zida creva i glatke mišićne ćelije.

## **1.6. PROGNOŠTIČKI FAKTORI, PROCENA RIZIKA I STEJDŽING**

Napredak znanja o poreklu i načinu lečenja gastrointestinalnih stromalnih tumora doveo je do sve veće potrebe za bolju i precizniju definiciju stepena agresivnosti, odnosno predikciji daljeg toka bolesti. S druge strane uvodjenjem inhibitora tirozine kineza u lečenju ovih tumora kao adjuvantna terapija, nametnuo je pitanje koja grupa od ovih tumora ima indikaciju za molekularnu ciljanu terapiju.

GIST pokazuju različit stepen agresivnosti, te njihovo kliničko ponašanje može biti teško predvidivo. Tako klinički mali GIST mogu biti praćeni agresivnim ponašanjem, sa ranim metastaziranjem ili pojavom lokalnog recidiva, dok klinički veliki GIST mogu pokazati benigni tok, bez pojave lokalnog recidiva ili metastaza i nakon dugog perioda praćenja. Petogodišnje preživljavanje pacijenata nakon primarne hirurške resekcije GIST-a iznosi od 48–80%. S obzirom na ovako širok raspon preživljavanja, adekvatna procena rizika za recidiviranje i metastaziranje nakon primarne hirurške resekcije je od krucijalnog značaja, ne samo u cilju procene prognoze, već i radi procene potencijalnog benefita od adjuvantne terapije inhibitorima tirozin kinaze.

U najvažnije prognostičke faktore spadaju mitotski indeks, veličina i lokalizacija tumora, pored kojih od značaja mogu biti i drugi parametri kao što su: Ki-67 indeks, lokalno invazivni karakter tumora (infiltracija mukoze i seroze), tumorska nekroza, simptomatska bolest, histološki tip, imunohistohemijski profil, postojanje regionalnih ili udaljenih metastaza, spontana ili intraoperativna ruptura kapsule. Do sada je predloženo više sistema za procenu malignog potencijala GIST koji uzimaju u obzir neke od navedenih parametara. U cilju procene rizika za recidiviranje i metastatskog rizika GIST, najčešće se koriste dva prognostička parametra: mitotski indeks i veličina tumora.

Mitotski indeks standardno se izražava kao broj mitoza na 50 HPF (engl. *High Power Field*– mikroskopsko polje velikog uveličanja), slučajno izabranih iz različitih ali visoko celularnih delova tumora, pri čemu nije dokazan poseban značaj atipičnih mitoza.

2001. godine na konsenzus konferenciji o GIST, Američkog nacionalnog instituta za zdravlje (*National Institutes of Health*, NIH), predložena je prva klasifikacija stepena rizika GIST koja kategorizuje stepen rizika gastrointestinalnih tumora bazirana na veličini tumora u centrimetrima, i mitotskog indeksa tumora na 50 mikroskopskih polja velikog uveličavanja(7). Od tada je ova klasifikacija poznatija kao NIH ili Fletcherova klasifikacija je bila najviše korišćena u cilju kategorizacije stepena rizika GIST(tabela 3.).



Tabela 3. Klasifikacija GIST po NIH konsenzus sistemu iz 2001. godine (klasifikacija po Flecher-u), bazirana na veličini tumora i mitotskog indeksa na 50 HPF\*.

Stepen rizika	Veličina tumora	Mitotski indeks
Veoma nizak rizik	< 2 cm	< 5 / 50 HPF
Nizak rizik	2-5 cm	< 5 / 50 HPF
Intermedijarni rizik	< 5 cm	6-10 / 50 HPF
	5-10 cm	< 5 / 50 HPF
Visoki rizik	≥ 5 cm	≥ 5 / 50 HPF
	≥ 10 cm	bilo koji mitotski indeks
	bilo koja veličina	≥ 10 / 50 HPF

\* HPF (engl. High Power Field– mikroskopsko polje velikog uveličanja)

Iako je značaj lokalizacije GIST zapažen u više studija, još uvek ne postoji konsenzus o tome da lokalizacija može predstavljati nezavistan prognostični faktor. Zapaženo je da tumori na određenim lokalizacijama u gastrointestinalnom traktu (jednjak, tanko crevo, peritoneum, retroperitoneum) poseduju veći metastatski potencijal i potencijal recidiviranja u odnosu na tumore sličnih histoloških parametara na drugoj lokalizaciji (želudac). Najbolju prognozu u odnosu na lokalizaciju pokazuje гастриčni GIST.

Miettinen i saradnici iz Armed Forces Institut of Patology(64) su 2005. godine prezentovali preporuke za procenu histološkog maligniteta na osnovu dugotrajnog praćenja 1765 pacijenata sa гастриčnim GIST, 156 GIST duodenuma, 1091 GIST jejunuma i ileuma i 113 GIST rektuma, pri čemu su pokazali da intestinalni tumori, a posebno tumori tankog creva, poseduju veći maligni potencijal u odnosu na гастриčne tumore. Na osnovu toga, Miettinen i saradnici izdvajaju гастриčne od intestinalnih GIST i predlažu 5 kategorija stepenovanja malignog potencijala u odnosu na 8 grupa tumora, uzimajući u obzir i lokalizaciju tumora, pored veličine i mitotskog indeksa. Istovremeno, on pretpostavlja da postojanje više od 5 mitoza na pregledanih 50 mikroskopskih polja velikog uveličanja sigurno nosi maligni potencijal bilo kog GIST-a. Bazirana na rezultatima Miettinen i saradnika koji su prilikom određivanja stepena rizika GIST pored mitotskog indeksa i veličine tumora uzeli u obzir i lokalizaciju tumora (65) *Armed Forces Institute of Pathology (AFIP)* predlaže takozvani Miettinen-ov, odnosno AFIP kritirijum za procenu malignog potencijala GIST. (Tabela 4.).

Tabela 4. Procena malignog potencijala GIST-a na osnovu lokalizacije, veličine i mitotskog indeksa

Kategorija	Grupa	Veličina tumora	Mitotski indeks	Lokalizacija			
				G*	D	J+I	R
veoma niski, uslovno benigni (B), bez mortaliteta	1	≤ 2 cm	≤ 5 / 50 HPF	B	B	B	B
nejasni maligni potencijal (NP), nejasni/nepoznati ishodi	2	2-5 cm		NP	N	N	N
	3a	5-10 cm		N	M	U	M
niski maligni potencijal (N), <3% progresije tumora	3b	> 10 cm		U	M	M	M
	4	≤ 2 cm		> 5 / 50 HPF	NP	NP	M
umereni maligni potencijal (U), 12-15% mortaliteta	5	2-5 cm	U		M	M	M
	maligni (M), 50-86% mortaliteta	6a	5-10 cm		M	M	M
6b		> 10 cm	M		M	M	M

\*G= gastrična, D= duodenalna, J+I= jejunno-ilealna, R= rektalna lokalizacija

Miettinen i saradnici su pokazali da je rizik od progresije bolesti (pojava metastaza ili recidiva) kod bolesnika sa GIST želuca koji je manji od 5 cm u dijimetru i ima mitozu manje od 5 na 50 HPF, oko 2-3 %. Sa druge strane, u slučaju da je dijimetar tumora veći od 10cm i broj mitozu iznosi više od 10 na 50 HPF, rizik od pojave metastaze je čak 86%(Tabela 5.)

Tabela 5. Prognostički stepen pojave metastaze zavisno od lokalizacije, veličine i mitoze.

Lokalizacija	Broj bolesnika	Stepen progresije bolesti				
		Veličina	< 5 cm.	< 5 cm.	> 10 cm.	>10.cm.
		Mitoza	<5/50 HPF	> 5/50 HPF	<5/50 HPF	> 5/50.HPF
<b>Želudac</b>	1765		2-3%	15%	11%	86%
<b>Duodenum</b>	156		8%	50%	34%	100%
<b>Tanko crevo</b>	1091		2-3%	24%	50%	86%
<b>Rektum i anus</b>	133		<1%	66%	71%	70%

Posebno treba naglasiti da i sama lokalizacije GIST u želucu ima poseban prognostički značaj, GIST iste veličine i mitotskog indeksa u predelu fundusa i kardije imaju lošiju prognozu u odnosu na tumore iste veličine u predelu antruma i uz male i velike krivine želuca.

Lokalizacija GIST u drugim delovima digestivnog sistema takođe ima svoje specifičnosti u zavisnosti od veličine, mitotskog indeksa i lokalizacije. Treba naglasiti da su i drugi parametri kao što su tumorska nekroza, ulceracija ili invazije mukoze faktori koju utiču na lošiju prognozu(66). Posebno treba naglasiti da pojave spontane ruptura tumora ili zbog manipulacije znatno povećavaju rizik(67). Tumori koji u trenutku postavljanje dijagnoza već imaju metastaze takođe imaju lošiju prognozu.

2008. godine je predstavljena modifikovana NIH klasifikacija koja je predložena od strane Joensuu-a(8). Ona kombinuje prednosti NIH klasifikacije (veličina tumora i mitotski indeks) i prednosti AFIP klasifikacije (lokalizacije tumora) uz dodatak još jednog faktora - ruptur tumora (Tabela 6.)(67).

Tabela 6. Modifikovana NIH klasifikacija za procenu rizika po Joensuu-u.

Kategorija rizika	Veličina tumora (cm)	Mitotski indeks (/50HPF)	Lokalizacija
Veoma nizak rizik	≤2.0	≤5	Bilo koja
Nizak rizik	2.1-5.0	≤5	Bilo koja
Umeren rizik	≤5.0	6-10	Gastrična
	5.1-10.0	≤5	Gastrična
Visok rizik	Bilo koja	Bilo koji	Ruptura tumora
	>10.0	Bilo koji	Bilo koja
	Bilo koja	>10	Bilo koja
	>5.0	>5	Bilo koja
	≤5.0	>5	Ne-gastrična
	5.1-10.0	≤5	Ne-gastrična

S obzirom na to da modifikovana NIH klasifikacija uzima u obzir četiri bitna faktora, a to su veličina tumora, broj mitoza, lokalizacija i ruptura tumora, ova klasifikacija je sada od strane većine eksperata prihvaćena kao najbolja za selekciju bolesnika za primenu adjuvantne terapije. Yanagimoto i saradnici ukazali su da je modifikovana NIH klasifikacija najsenzitivnija u detekciji bolesnika sa povećanim rizikom za pojavu recidiva(68).

U sedmom izdanju TNM klasifikacije tumora 2010.godine od strane UICC (*Union for International Cancer Control*), predložena je TNM klasifikacija i stadijum gastrointestinalnih tumora (Tabela 7). I u ovoj klasifikaciji GIST želuca je zbog svoje specifičnosti posebno kategorizovana. T stadijum se određuje na osnovu veličine tumora. Stadijum tumora se određuje na osnovu T stadijuma i mitotskog indeksa(69).

Tabela 7. TNM klasifikacija za GIST\* (UICC sistem 2010)

Veličina cm.	Mitoza /50HPF	T stadijum (želudac)	T-stadijum (ne želudac)	UICC* (želudac)	UICC* (ne želudac)
≤2 cm	≤ 5	T1	T1	IA	I
>2-≤5 cm	≤ 5	T2	T2	IA	I
>5-≤10 cm	≤ 5	T3	T3	IB	II
>10 cm	≤ 5	T4	T4	II	IIIA
≤2 cm	> 5	T1	T1	II	IIIA
>2-≤5 cm	> 5	T2	T2	II	IIIB
>5-≤10 cm	> 5	T3	T3	IIIA	IIIB
>10 cm	> 5	T4	T4	IIIB	IIIB

\*Svi tumori koji su N1 ili M1 spadaju u IV stadijum

Pored mitotskog indeksa, drugi markeri proliferativne aktivnosti kao što su PCNA (engl. *proliferating cell nuclear antigen*- jedarni antigen proliferativnih ćelija), Ki-67 ili Ki-67 analozi (MIB-1, Ki-S5), pokazali su značajnu korelaciju s malignim potencijalom. Iako generalno prate mitotsku aktivnost, nisu jasno definisane vrednosti indeksa ovih markera koje bi imale sigurnu prediktivnu vrednost. Izuzetak čini vrednost od preko 10% jedara pozitivnih na Ki-67/MIB-1, koja korelira s pojavom metastaza, bez obzira na vrednosti mitotskog indeksa. Međutim, ovakav nalaz važi za dokazan CD117+ imunoprofil GIST, ali ne i za srodne gastrointestinalne mezenhimalne tumore (GIMT). S druge strane, dodatna diferencijacija kod GIST-a prema nekim saopštenjima može biti u korelaciji s boljom prognozom. Tako se ekspresija SMA češće viđa kod manje agresivnih GIST-ova sa izuzetkom distalne (kolo-rektalne) lokalizacije, a neki neurogeni i neuroendokrini markeri češće prate agresivnije GIST-ove i posebno GANT/plexosarcoma tumore. U istom smislu, agresivnije biološko ponašanje je primećeno kod GIST –a bez ekspresije CD117 i/ili CD34.

## 1.7. MUTACIONA ANALIZA

Oko 80% primarnih GIST poseduju mutaciju KIT gena, od kojih 65% poseduju mutaciju na egzonu 11, 10% mutaciju na egzonu 9, dok su mutacije na egzonima 13 i 17 KIT gena ređe. Mutacija na PDGFRA genu se javlja u oko 10% primarnih GIST i uglavnom se javljaju u slučajevima GIST želuca i to GIST epiteloidnog tipa sa dobrom prognozom(70). Najčešća PDGFRA mutacija je na egzonu 18 i praćena je sa rezistencijom na imatinib. Analiza mutacija za sada ne spada u obavezne procedure prilikom postavljanja dijagnoze GIST, u slučaju da tumor poseduje histološke odlike GIST sa pozitivnim imunohistohemijskim reakcijama na c-KIT i/ili DOG1.

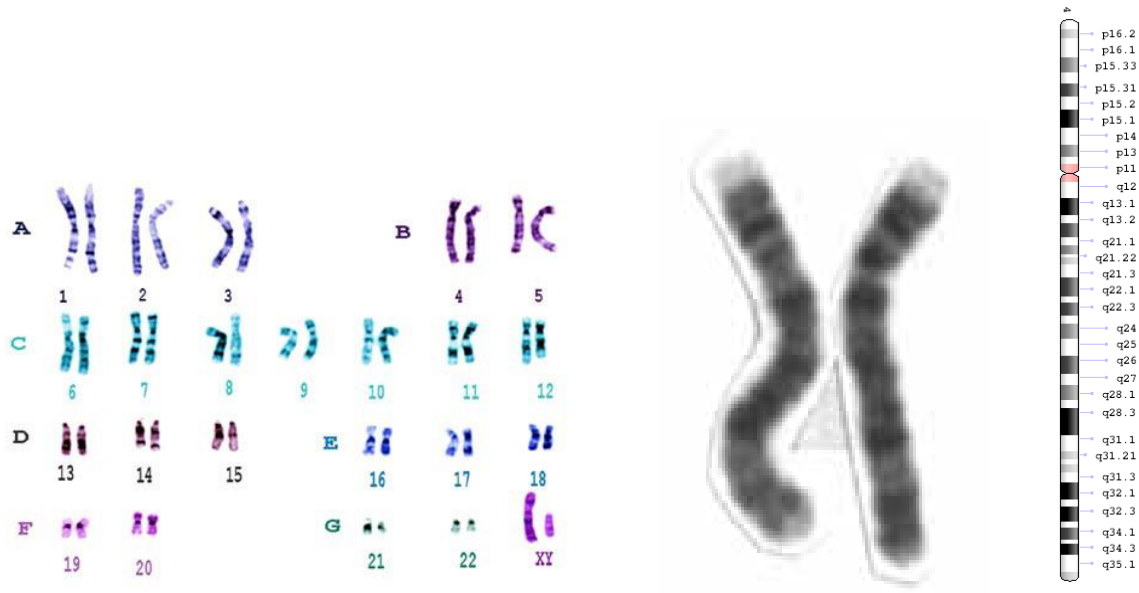
Analizu mutacija treba izvršiti u slučajevima kada je tumor imunohistohemijski c-KIT negativan. Posebno treba istaći značaj i potrebu sprovođenja genetske analize u slučajevima kada je potrebno predvideti odgovor na terapiju imatinibom(71), naročito u cilju otkrivanja imatinib-rezistentnih GIST pre primene neoadjuvantne, odnosno adjuvantne terapiju, kao i u cilju određivanja doze imatiniba kod GIST sa mutacijom na egzonu 9 KIT gena(59).

Analiza mutacija na KIT egzonima 9, 11, 13 i 17, kao i na PDGFRA egzonima 12, 14 i 18 može se izvršiti na formalinskim i parafinskim preparatima, kao i na svežim preparatima tumora. Iako većina GIST poseduju mutacije na KIT i PDGFRA genu, postoji i manji procenat ovih tumora koji ne poseduju mutacije KIT i PDGFRA gena. Ovi tumori se označavaju kao „wild-type” GIST i mogu posedovati mutacije sukcinat dehidrogenaza (SDH) kompleksa, uključujući SDHA, SDHB, SDHC ili SDHD, BRAF, KRAS i NRAS(34). GIST sa mutacijom na SDH kompleksu posebno često se javljaju u pedijatrijskoj populaciji i to u sklopu Carney trijade (gastrični epiteloidni GIST, plućni hondrom i ekstraadrenalni paragangliomi u mladih devojaka) ili Carney-Stratakis sindroma. GIST sa mutacijom na SDH kompleksu uglavnom se javljaju u želucu i imaju specifične karakteristike, kao što su pretežno epiteloidne ćelije, hipervaskularna građa sa limfovaskularnom invazijom i limfonodalnim metastazama (GIST želuca i paragangliomi)(72).

### 1.7.1. OSNOVI MUTAGENEZE GIST

Geni koji kodiraju KIT i PDGFRA receptore nalaze se na početnom delu dugog kraka 4 hromozoma (4q12) (slika 3).

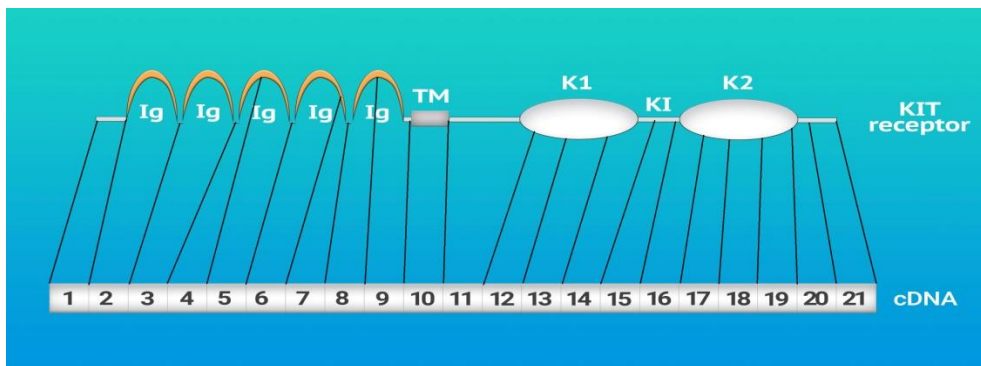
Slika 3 : Kariotip, četvrti hromozom i lokacije KIT i PDGFRA gena



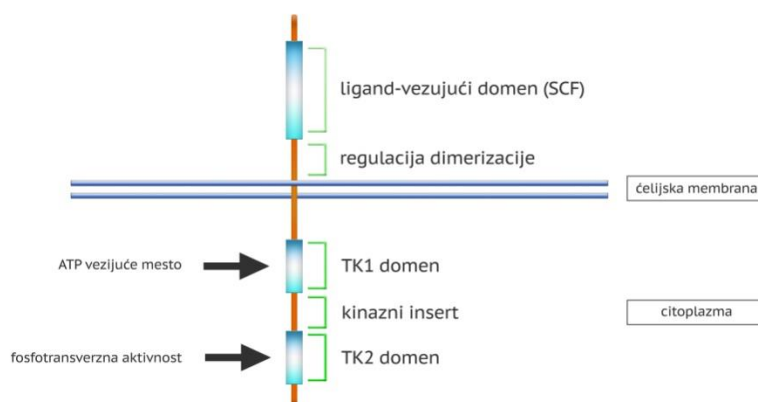
Ovi geni kodiraju transmembranske proteine koji pripadaju grupi tirozin kinaznih receptora tip III (Slika 5). Ova grupa receptora karakteriše se specifičnom molekularnom strukturom koja se sastoji od ekstracelularnog domena (EC) sa pet petlji, sličnim kao kod imunoglobulina i citoplazmatskog domena koji čine jukstamembranozni (JM) i tirozin kinazni region (TK). Tirozin kinazni region čine adenozin-trifosfat (ATP) vezujući region (TK1) i fosfotransferazni region (TK2), između kojih se nalazi hidrofилna kinazna insercija (KI) (Slika 6). Ekstracelularni i citoplazmatski domen povezani su transmembranskim delom(73). Vezivanje liganda, u koje spadaju faktori matičnih ćelija (Stem Cell Factor-SCF) i faktori rasta trombocita (platelet-derived growth factors, PDGF), dovodi do aktivacije KIT i PDGFRA receptora u fiziološkim uslovima. Vezivanje liganda na ekstracelularnom delu receptora dovodi do dimerizacije receptora i fosforilacije tirozin-kinaznih rezidua u citoplazmatskim delovima receptora, što uzrokuje kaskadnu

fosforilaciju tirozin kinaznih rezidua na intracelularnim signalnim molekulima i aktivaciju intracelularnih signalnih puteva, uključujući Ras/MAP kinaze, Rac/Rho-JNK, PI3K/AKT i SFK/STAT signalne puteve(74). Aktivacija KIT tirozin kinaze regulisana je pomoću jukstamembranarnog domena, koji dovodi do inhibicije aktivacije u odsustvu liganda(75). KIT receptor učestvuje u regulaciji važnih ćelijskih funkcija, kao što su proliferacija, apoptoza, hemotaksa, adhezija, kao i diferencijacija određenih ćelijskih linija, u koje spadaju hematopoetske ćelije, mastociti, melanociti, gametociti i Cajal-ove intersticijalne ćelije (ICC)(76)(77).

Slika 5: Genetska organizacija *KIT* gena čiji egzoni kodiraju odgovarajuće sekvence KIT protoonkogena.



Slika 6 : Strukturna i funkcionalna organizacija KIT proteina





Smatra se da GIST nastaju od KIT-pozitivnih prekursorskih ICC ćelija kroz KIT ili PDGFRA mutacije, za koje se smatra da predstavljaju početni korak u patogenezi ovih tumora(1). S druge strane, ispitivanja familijalnih GIST sindroma ukazuju na to da poliklonalna ICC hiperplazija može predstavljati prekursorску leziju, kao i da razvoj GIST zahteva dodatne genetske abnormalnosti, pored aktivirajućih KIT ili PDGFRA mutacija(78). Pored toga, velika incidenca malih GIST i relativno mala učestalost malignih GIST ide u prilog ovoj teoriji(79).

Imatinib mesilat (Gleevec/Glivec™) specifično inhibira ABL, KIT i PDGFRA tirozin kinazne receptore i primenjuje se u lečenju uznapredovalih, neresektabilnih ili metastatskih GIST(10). Iako veliki broj tumora reaguje na terapiju imatinibom, tokom terapije može doći do razvoja rezistencije na imatinib, zbog nastanka sekundarnih KIT ili PDGFRA mutacija(80). In vitro eksperimenti, kao i kliničke studije ukazuju na to da tip KIT ili PDGFRA mutacije mogu uticati na osetljivost tumora na primenu imatiniba(59).

### **1.7.2. NOMENKLATURA I TIPOVI MUTACIJA**

U GIST mogu se registrovati sledeći tipovi mutacija KIT i PDGFRA gena: delecije (del), supstitucije (tačkaste mutacije), duplikacije (dup), insercije (ins) i kompleksne mutacije, u koje spadaju delecije-insercije (delins), duplikacije-insercije i delecije sa insercijom obrnutih komplementarnih sekvenci, koje su u jednoj studiji označene kao delecije-inverzije (delinv)(81).

KIT i PDGFRA mutacije u GIST mogu se podeliti u dve kategorije: primarne i sekundarne. Primarne KIT i PDGFRA mutacije predstavljaju mutacije registrovane u primarnim tumorima pre terapije inhibitorima tirozin kinaze, odnosno mutacije koje su povezane sa patogenezi GIST. Sekundarne KIT i PDGFRA mutacije predstavljaju mutacije koje se registruju tokom terapije i koje dovode do rezistencije na terapiju imatinibom.

Onkogene KIT i PDGFRA mutacije dovode do konstitutivne fosforilacije tirozin kinaznog receptora, odnosno njegove konstitutivne aktivacije (aktivacije u odsustvu liganda). Ove mutacije mogu se podeliti na mutacije regulatornog domena receptora (ekstracelularnog i jukstamembranskog domena) i mutacije intracelularnog enzimatškog (tirozin kinaznog) domena(82). Većina KIT mutacija u GIST lokalizovana je u jukstamembranskom (egzon

11) i ekstracelularnom domenu(egzon 9). Mutacije u jukstamembranskom domenu utiču na njegovu autoregulatornu funkciju i to tako što dovode do spontane aktivacije tirozin kinaze, u odsustvu liganda(83). Mutacije u ekstracelularnom domenu mogu dovesti do izostanka antidimerizacije u odsustvu liganda, što dovodi do spontane dimerizacije i aktivacije receptora(59). Većina PDGFRA mutacija zahvata TK2 intracelularni domen (egzon 18) i uzrokuje konformacione promene ATP-vezujućeg domena, što takođe rezultira aktivacijom tirozin kinaze (84). Kontinuirana ligand-nezavisna aktivacija KIT iliPDGFRA tirozin kinaze dovodi do aktivacije intracelularnih signalnih puteva koji stimulišu preživljavanje i proliferaciju ćelija.

U sporadičnim GIST primarne KIT mutacije javljaju se u ekstracelularnom (egzon 9), jukstamembranskom (egzon 11), TK1 i TK2 (egzoni 13 i 17) domenima, dok se primarne PDGFRA mutacije javljaju u jukstamembranskom (egzon 12), TK1 i TK 2 (egzoni 14 i 18) domenima. Sekundarne mutacije registrovane su isključivo u KIT-TK1 i -TK2 (egzoni 13, 14 i 17) domenima, u regiji kinazne insercije (egzoni 15 i 16) i PDGFRA-TK2 (egzon 18) domenu(5).

Germinativne KIT i PDGFRA mutacije u familijanim GIST sindromima slične su mutacijama kod sporadičnih GIST. Međutim, u pojedinim slučajevima familijarnih GIST sindroma, registrovane su mutacije koje do sada nisu viđene u slučajevima sporadičnih GIST, kao što su KIT Asp419del (c.1276\_1278delGAC) i PDGFRA Tyr555Cys (c.1803AfiG) mutacije, zabeležene kod dve porodice sa GIST sidromima(85)(86). U jednoj studiji opisan je slučaj pacijenta sa germinativnom PDGFRA Asp561Val mutacijom, kod koga je zabeležena pojava multiplih intestinalnih fibroznih polipa, lipoma i GIST.

Dosadašnja ispitivanja KIT i PDGFRA mutacija pokazala su da neke mutacije mogu biti povezane sa određenim kliničko-patološkim karakteristikama GIST(5).

Smatra se da su KIT i PDGFRA mutacije međusobno isključive i da samo jedna KIT ili PDGFRA mutacija može biti zabeležena u primarnom tumoru i posledičnim metastazama. Ipak, u nekoliko studija opisani su tumori sa sekundarnim, primarno tihim missense ili nonsense KIT mutacijama (5)(87).

### **1.7.3. KIT MUTACIJE**

#### **1.7.3.1. KIT EGZON 11 MUTACIJE**

Približno 90% mutacija u KIT genu uključuju egzon 11, odnosno, jukstamembranozni domen(87). Ove mutacije dovode do prekida alfa-helične strukture jukstamembranoznog domena, što omogućava spontanu dimarizaciju i fosforilaciju KIT receptora(82). Mutacije u egzonu 11 uključuju čitav spektar delecija od 3-21 ili ređe većeg broja baznih parova, supstitucije pojedinačnih nukleotida, interne tandemske duplikacije, kao i kombinacije navedenih tipova mutacija, dok su prave insercije ne-duplikativnih genomskih sekvenci retke(5)(88). Uopšteno, većina tumora sa mutacijama u egzonu 11 KIT gena su senzitivni na imatinib.

Delecije u jukstamembranoznom domenu KIT receptora uključuju 5' segment egzona 11 između kodona 550 i 560. Tumori koji poseduju delecije u ovoj regiji, a naročito delecije kodona 557 i 558, pokazuju klinički agresivnije ponašanje u odnosu na tumore sa supstitucijama pojedinačnih nukleotida, što je posebno izraženo u slučajevima GIST želuca(89)(24).

Supstitucije pojedinačnih nukleotida u egzonu 11 KIT gena uglavnom su ograničene na sledeća 4 kodona: 557, 559, 560 i 576. Interne tandemske duplikacije javljaju se u 3' segmentu egzona 11 i povezane su sa tumorima želuca i povoljnim tokom bolesti(90). Generalno gledano, GIST sa mutacijama u egzonu 11 KIT gena osetljivi su na imatinib, iako pojedine retke varijante mogu pokazati različit nivo rezistencije(87).

#### **1.7.3.2. OSTALE KIT MUTACIJE**

Mutacije u egzonu 9, koji kodira ekstracelularni domen KIT receptora, su retke i uglavnom ograničene na intestinalne GIST(91)(92). Većina mutacija su identične duplikacije 2 kodona, koje kodiraju tandemski par alanin-tirozin (A502-Y503). Tumori sa ovom mutacijom pokazuju slabiji odgovor na imatinib, te se u terapiji ovih tumora preporučuje primena veće doze imatiniba od 800mg/dan ili primena alternativnih inhibitora tirozin kinase (71). S druge strane, rezultati obimne serije sprovedene pre uvođenja imatiniba u

terapiju ovih tumora nisu ukazali na to da tumori sa mutacijom u egzonu 9 KIT gena imaju lošiju prognozu u odnosu na tumore sa mutacijama u egzonu 11(25).

Retko se mogu registrovati mutacije u domenu 1 KIT tirozin kinaze, koji kodira egzon 13, odnosno u domenu 2 KIT tirozin kinaze (egzon 17). Mutacije u egzonu 13 obično uključuju kodon 642, dok se mutacije u egzonu 17 obično dešavaju u kodonu 822(93). Tumori sa ovim mutacijama pokazuju različitu osetljivost na imatinib.

#### **1.7.4. PDGFRA MUTACIJA**

PDGFRA mutacije nalaze se u 30% KIT wild type (WT) tumora. Pokazano je da su KIT i PDGFRA mutacije međusobno isključive u GIST(94). Mutacije u PDGFRA genu praktično su ograničene na GIST želuca i obuhvataju oko 10% svih GIST želuca. Većina tumora sa PDGFRA mutacijama su klinički indolentni tumori, sporijeg rasta i kliničkog toka. Osim toga, uočena je i delimična predilekcija ka epiteloidnoj morfologiji, kao i slabija KIT ekspresija u nekim od ovih tumora(95). Iako ovi tumori ekspimiraju PDGFRA receptor, standardna imunohistohemija nije korisna za detekciju tumora sa PDGFRA mutacijama, s obzirom na to je PDGFRA receptor široko ekspimiran u svim GIST, kao i u drugim tumorima. Mutacije u PDGFRA genu, slično mutacijama u KIT genu, obuhvataju delecije, supstitucije pojedinačnih nukleotida i interne tandemske duplikacije. U većini slučajeva radi se o D842V supstituciji u egzonu 18 (domen 2 PDGFRA tirozin kinaze), dok se retko registruju mutacije u egzonu 12 (juktamembranozni domen) i egzonu 14 (domen 1 PDGFRA tirozin kinaze)(95). Tumori sa D842V supstitucijom poznati su po svojoj primarnoj rezistenciji na imatinib, zbog čega je u terapiji ovih tumora indikovana primena drugih, potentnijih i inhibitora tirozin kinase (96).

#### **1.7.5. WILD-TYPE GIST**

Približno 10-15% GIST ne poseduju mutacije na KIT i PDGFRA genima i oni se označavaju kao wild-type GIST. Otkriveno je da oko polovina wild-type GIST poseduje inaktivirajuće mutacije gena koji kodiraju subjedinice sukcinat-dehidrogenaza (SDH) kompleksa, dok deo preostalih wild type GIST poseduju mutacije BRAF, HRAS, NRAS ili

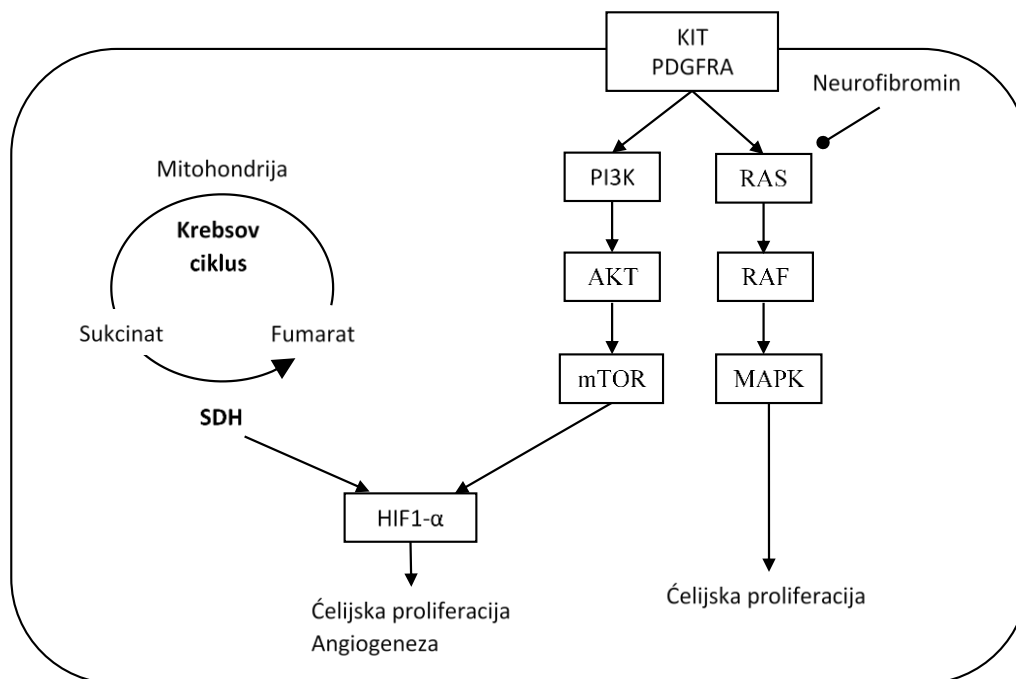
PIK3CA (oko 1% svaki)(97)(98). Smatra se da ove mutacije dovode do konstitutivne aktivacije KIT intracelularnih signalnih puteva.

#### **1.7.6. SDH-DEFICIJENTNI GIST**

Približno 7,5% GIST želuca, naročito GIST kod dece i mlađih odraslih, poseduju tumor-specifičan gubitak funkcije SDH kompleksa, što se smatra ključnim faktorom u patogenezi ovih tumora. SDH-deficijentni GIST javljaju se skoro isključivo u želucu i ne poseduju mutacije u KIT i PDGFRA genima(72)(99).

Patogeneza ovih tumora leži u germinativnoj mutaciji koja vodi gubitku funkcije subjedinica SDH kompleksa. SDH kompleks sastoji se od 4 subjedinice (A, B, C i D) i nalazi se na unutrašnjoj mitohondrijalnoj membrani, gde ima ulogu u lancu prenosa elektrona, kao i u ciklusu trikarboksilnih kiselina (TCA ciklus, Krebs-ov ciklus), pretvarajući sukcinat u fumarate (100). Gubitak funkcije SDH kompleksa dovodi do akumulacije njegovog supstrata sukcinata koji uzrokuje stabilizaciju HIF1- $\alpha$ , a koji potom dovodi do transkripcije ciljnih onkogeni i ćelijske proliferacije(100).

Slika 7. Intracelularni signalni putevi u ćelijama GIST.



Najčešća mutacija zahvata subjedinicu SDHA, ali i subjedinice B, C i D mogu biti izmenjene mutacijama(99). Bar polovina pacijenata sa ovim tumorima poseduje germinativne mutacije, koje, uz dodatne somatske mutacije u tumoru, dovode do gubitka funkcije celog SDH kompleksa u tumorskom tkivu. Kod pacijenata koji ne poseduju germinativne mutacije, pretpostavljeni mehanizam onkogeneze uključuje aktivaciju hipoksijom inducibilnih faktora signalizacije, što za posledicu ima aktivaciju receptora insulinu-sličnog faktora rasta 1 (*insulin-like growth factor 1-receptor, IGF1R*)(99).

Dijagnostički marker SDH-deficijentnih GIST je imunohistohemijski gubitak inače ubikvitarno eksprimiranog SDHB, koji nastaje u slučaju gubitka bilo koje od subjedinica SDH kompleksa(72)(101)(102). SDHA-deficijentni tumori pokazuju i gubitak SDHA subjedinice, koji se takođe može potvrditi imunohistohemijski(103). Za imunohistohemijsku analizu SDHC i SDHD subjedinica trenutno ne postoje pouzdani testovi.

SDH-deficijentni GIST uglavnom se javljaju kod dece i mlađih odraslih i čine većinu GIST u pedijatrijskoj populaciji, kao i polovinu GIST želuca kod mlađih od 40 godina. U dečjem

uzrastu, znatno je veća incidencija GIST kod devojčica, tumori se obično javljaju u drugoj dekadi i retko pre 10.godine života. Zanimljivo je da nije zapaženo postojanje familijarne tendencije u slučajevima SDH-deficijentnih GIST, iako do 50% pacijenata poseduje germinativne mutacije(72).

Opisana su dva klinička sindroma koja uključuju postojanje SDH-deficijentnih GIST želuca. Pojava GIST i paragangioma kod pacijenata sa germinativnom mutacijom SDH gena, definiše Carney-Stratakis sindrom(104). Pojava GIST, paragangioma i pulmonalnih hondroma u odsustvu germinativne mutacije SDH gena definiše Carney trijadu(105). Ova dva sindroma obuhvataju 10-20% SDH-deficijentnih GIST, po trenutno dostupnim podacima(106).

Klinički, SDH-deficijentni GIST specifični su po tome što se često prezentuju u formi multiplih gastričnih tumora i što imaju određenu tendenciju ka metastaziranju u regionalne perigastrične limfne noduse i formiranju multiplih peritonealnih mikronodusa, ali do sada nije dokazano da navedene tendencije negativno utiče na prognozu ovih tumora. Većina pacijenata dobije lokalni recidiv nakon operacije i obično se posle različitog vremenskog perioda podvrgnu totalnoj gastrektomiji. Metastaze u jetri javljaju se u 20-25% slučajeva, ali često pacijenti prežive duži vremenski period, čak i sa metastazama, što ove tumore razlikuje od tumora sa mutacijama u KIT genu. Mortalitet uzrokovan tumorom iznosio je oko 15% u kohortnoj studiji sa prosečnim periodom praćenja od 15 meseci(72)(103). Generalno gledano, SDH-deficijentni GIST su manje predvidljivog kliničkog ponašanja u odnosu na GIST sa KIT mutacijama istih prognostičkih faktora. Neophodno je doživotno praćenje pacijenata, s obzirom na rizik od nastanka metastaza i sindromskih tumora, kao što su paragangiomi, tokom vremena. Najduži zabeleženi interval od detekcije primarnog tumora do pojave metastaza u jetri iznosio je 42 godine(106).

Optimalan terapijski pristup lečenju ovih tumora još uvek nije definisan. SDH-deficijentni GIST pokazuju različit odgovor na terapiju imatinibom u odnosu na GIST sa mutacijama u KIT genu. Primenjivani su i alternativni inhibitori tirozin kinaze, kao što je sunitinib, ali su podaci o tome još uvek oskudni. Moguća buduća terapijska strategija podrazumeva primenu inhibitora receptora insulinu-sličnog faktora rasta-1 (IGF1R)(107)(108).

### **1.7.7. GIST U OKVIRU NEUROFIBROMATOZE 1**

Kako se približno 1-2% svih GIST javlja kod pacijenata sa neurofibromatozom 1 (NF1), GIST tumori svrstani su u spektar tumora koji se javljaju u okviru ovog sindroma, a u koji spadaju neurofibromi, maligni tumori omotača perifernih nerava, feohromocitomi i drugi. Autopsijska studija sprovedena na pacijentima sa NF1 otkrila je prethodno nedijagnostikovane GIST kod čak trećine njih, što može sugerisati da je incidencija pojave GIST u okviru NF1 verovatno značajno veća nego što se pretpostavlja(109).

GIST koji se javljaju u sklopu NF1 tipično su lokalizovani u tankom crevu, nekad u kolonu, dok su u želucu retki, često su multipli i većina njih se dijagnostikuje incidentalno. Ipak, 15-20% ovih tumora su klinički maligni(109)(110).

### **1.7.8. GIST SA BRAF MUTACIJAMA**

Aktivacija BRAF onkogen predstavlja pokretačni mehanizam mutageneze umelanomu, a tek nedavno je identična BRAF mutacija (V600E) otkrivena u maloj grupi KIT i PDGFRA-WT GIST. V600E mutacija može predstavljati alternativu KIT i PDGFRA aktivaciji u smislu molekularnog mehanizma patogene GIST. Iako ovi tumori pokazuju predilekciju za intestinalnu lokalizaciju, nisu zabeležene druge patološke karakteristike specifične za ovu podgrupu GIST. Što se tiče terapije, BRAF inhibitori bi mogli biti adekvatna terapija metastatskih i lokalno uznapredovalih BRAF-mutiranih GIST(111)(112)(113)(114).

### **1.7.9. SINDROM NASLEDNIH GIST**

Sindrom naslednih GIST predstavlja redak autozomno-dominantni poremećaj koji se odlikuje germinativnim mutacijama u KIT genu, ređe u PDGFRA genu. Strukturno gledano, ove mutacije slične su mutacijama kod sporadičnih GIST, iako je u jednoj podgrupi ovih tumora zabeležena mutacija u ezonu 8 KIT gena. Osobe sa ovim sindromom razvijaju hiperplaziju Cajal-ovih ćelija, a potom i multiple GIST u srednjem životnom dobu. Ostale karakteristike koje se mogu videti kod pacijenata sa KIT, ali ne i PDGFRA mutacijama, uključuju disfagiju, hiperpigmentacije kože, urticaria pigmentosa i mastocitoza. GIST u sklopu ovog sindroma mogu dugo vremena ostati stabilni, ali često postanu agresivni posle određenog vremenskog perioda(87)(99).



## **1.8. LEČENJE GIST ŽELUCA**

U lečenju bolesnika sa gastrointestinalnim stromalnim tumorim uporedo sa novim saznanjima o ovim tumorima pored hirurga uključeni su patolozi, onkolozi, farmaceuti, genetičari i gastroenterolozi. U cilju sveobuhvatnog lečenja ovih bolesnika sada je potreban multidisciplinarni pristup.

Hirurška resekcija je zlatni standard u lečenju primarnog lokalizovanog GIST. Kompletna resekcija sa negativnim resekcionim marginama (R0 resekcija) predstavlja izbor lečenje ovih tumora. Wedge resekcija predstavlja najučestaliji tip operacije u slučajevima malih do srednje velikih GIST želuca, pri čemu se obično mogu postići adekvatne resekционе margine. U slučajevima kada nije moguće obezbediti R0 resekcije za razliku od karcinoma ne mora se insistirati na ponovnoj operaciji, ako je resekciona margina pozitivna (R1 resekcije), nadalje za razliku od karcinoma nije potrebna ni limfadenektomija, sem u slučajevima evidentne makroskopske sumnjive limfadenopatije. Ove dve činjenice su omogućile da u operativnom lečenju GIST bude sve zastupljeniji laparoskopski pristup. U slučajevima kada shodno lokalizaciji i veličini ovih tumora, tehnički je izvodljivo uvedene su razne endoskopske procedure kao i hibridne endoskopske i laparoskopske procedure.

### **1.8.1. PREOPERATIVNA PROCENA I BIOPSIJA**

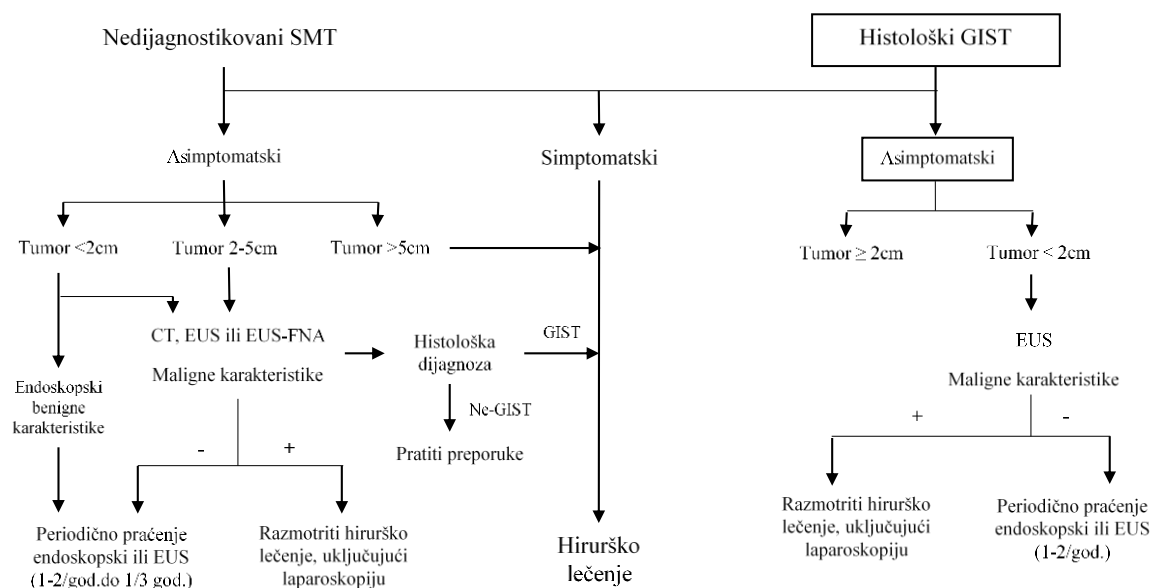
Inicijalna dijagnoza GIST se postavlja na osnovu endoskopskog pregleda, endoskopske ultrasonografije i kompjuterizovane tomografije, a koja se nakon resekcije tumora potvrđuje patohistološki. Preoperativna histološka dijagnoza je moguća, ali je teža za interpretaciju(6). CT abdomena i male karlice se preporučuje za detekciju eventualnih metastaza, a po potrebi radi se i magnetna rezonanca. CT grudnog koša retko je potreban, jer je pojava ekstraabdominalnih metastaza u inicijalnom stadijumu GIST izuzetno retka. PET se koristi u nejasnim slučajevima, kada postoje dileme u pogledu postojanja metastaza, kao i u sklopu uključivanja u pojedina klinička istraživanja. PET se posebno koristi u svrhu evaluacije efekta adjuvantne ili neoadjuvantne terapije imatinibom. Biopsija je obavezna u cilju potvrde dijagnoze u slučajevima kada postoji indikacija za primenu imatiniba u vidu neoadjuvantne terapije. Biopsiju je potrebno sprovesti uz oprez, kako ne bio došlo do rupture tumora i rasejavanja tumorskih ćelija. EUS vođena biopsija ima

prednost u odnosu na perkutanu biopsiju(14).Kada je na osnovu preoperativnih dijagnostičkih procedura tumor sugestivan na GIST, treba izbegavati uzimanje preoperativne biopsije(115).U slučaju postojanja metastaza, perkutana biopsija je dozvoljena.

### **1.8.2. INDIKACIJA ZA HIRURŠKO LEČENJE**

Kada je na osnovu preoperativnih dijagnostičkih procedura postavljena sumnja da se radi o resektabilnom GIST, indikovana je hirurška resekcija zbog malignog potencijala koji ovi tumori poseduju(116). Hirurška resekcija je metoda izbora za lečenje bolesnika sa lokalizovanim i potencijalno resektabilnim GIST. U slučaju gastričnih GIST hirurška resekcija je indikovana u slučajevima kada je tumor promera 2 cm i veći, u slučajevima izraženog rasta ili posedovanja karakteristika koje ukazuju na maligni potencijal, kao što su iregularne margine, ulceracije, krvarenje, cistične promene i nekroza u tumoru ili polja heterogene ehogenosti na EUS. Tumorimani od 2 cm bez znakova maligniteta mogu biti aktivno praćeni, međutim treba imati u vidu da i u slučaju malih tumora nije isključeno postojanje malignog potencijala, zato treba informisati pacijente da i mali tumori imaju potencijalno maligni karakter. Ovakvi mali tumori su pogodni za endoskopske resekcije. Strategija za dijagnostikovanje i lečenje GIST želuca ihistološki neidentifikovanih submukoznih tumora želuca prikazana je u šemi 4.

Slika 8: Strategija za dijagnostikovanje i lečenje GIST želuca i histološki neidentifikovanih submukoznih tumora želuca. U maligne karakteristike spadaju ulceracija, iregularne ivice, unutrašnja heterogenost, uvećanje regionalnih limfnih nodusa, kao i rast tumora tokom perioda praćenja. CT – kompjuterizovana tomografija; EUS – endoskopska ultrasonografija; EUS-FNA – endoskopskom ultrasonografijom vođena aspiraciona biopsija.



### 1.8.3. HIRURŠKE RESEKCIJNE MARGINE

U cilju kompletne resekcije, treba obratiti pažnju na to da tokom manipulacije ne dođe do povrede pseudokapsule tumora i treba obezbediti makroskopski negativne resekcione margine. U slučajevima kada postoji infiltracija susednih organa indikovana je kompletna „en bloc“ resekcija sa negativnim marginama(14).

U zavisnosti od veličine i lokalizacije tumora indikovana je totalna gastrektomija ili subtotalna gastrektomija. U većini slučajeva je parcijalna ekscizija zida želuca, tzv. “wedge resekcija” adekvatna operacija. U slučajevima kada je makroskopska resekciona marginapozitivna (R2), preporučuje se reoperacija, ukoliko je izvodljiva. U slučaju da je

mikroskopska resekciona linija pozitivna (R1), preporučuje se uvođenje adjuvantne terapije imatinibom ukoliko tumor pripada grupi visokog malignog potencijala, dok u slučaju tumora niskog malignog potencijala sa manjim rizikom od pojave recidiva nije indikovano uvođenje imatiniba, već se preporučuju redovne rutinske kontrole. Na osnovu jedne retrospektivne analize, konstatovano je da pozitivna margina ne predstavlja signifikantan prognostički faktor za pojavu recidiva u eri primene imatiniba(117).

#### **1.8.4. LIMFADENEKTOMIJA I GIST**

Kako GIST ne metastaziraju u lokalne i regionalne limfne noduse, limfadenektomija nije indikovana, osim u slučajevima uvećanih limfnih nodusa i kada postoji sumnja na postojanje limfonodalnih metastaza.

### **1.8.5. ENDOSKOPSKE PROCEDURE U TRETMANU GIST ŽELUCA**

Subepitelni tumori manjih dimenzija koji se dijagnostikuju tokom endoskopskih pregleda na osnovu endoskopske makroskopske karakteristike i ultrasonografske karakteristike, mogu se uvrstiti u GIST. Za precizniju dijagnozu, koristi se endoskopska ultrasonografski vođena iglena biopsija (EUS- FNA).

Lečenje GIST manjih dimenzija (manje od 2 cm) i dalje je predmet diskusije. S jedne strane postoje autori koji ukazuju da s obzirom da maligna priroda ovih tumora nije u potpunosti jasna i ovako male tumore treba ukloniti, s druge strane većina autora smatra da tumori manje od 2 cm, koji na osnovu endoskopske ultrasonografije nemaju maligne karakteristike, ne treba ukloniti, već ih treba endoskopski pratiti. Ovde treba napomenuti rad Kawanowa i saradnika(118), koji su na 100 reseciranih preparata želuca zbog karcinomau 35 preparata želuca našli čak 50 mikroskopskih GIST. S druge strane, postoje podaci koji ukazuju na to da tokom autopsije u želucu kod osoba iznad 50 godina u oko 1/4 slučajeva su vidjene GIST dimenzije od 1 do 10 mm (srednja veličina 4mm) i to u predelu kardije, fundusa i korpusa želuca(79). Ovakvi podaci ukazuju da mali procenat miroskopskih GIST prelazi u simptomatsku fazu i zahtevaju dalje lečenje.

Studija objavljena 2005. godine iz Švedskoj, ukazuje da je srednja dimenzija GIST slučajno dijagnostikovana bila oko 2.7cm, otkrivena tokom autopsije 3.4cm. dijagnostikovana zbog simptoma 8.9. cm.(119).

S obzirom na značajan broj asimtomatski otkrivenih GIST i njihove raznovrsnosti u pogledu veličine i lokalizacije, sve je veći broj GIST manjih dimenzija u želucu koje zahtevaju resekcije.

U šemi 3 je dat algoritam dijagnostike i lečenje GIST,sa posebnim osvrtom na GIST manjih dimenzija(2 cm). Preporuka (Guideline) većine centara je da gastrointestinalni stromalni tumori želuca koji su manji od 2 cm i koji na EUS ili na osnovu EUS-FNA imaju maligne karakteristike, treba resecirati, a oni tumori koji na osnovu EUS nemaju maligne karakteristike, mogu biti endoskopski praćeni(120).

Endoskopska i endoskopska ultrasonografska dijagnostika su omogućili otkrivanje sve više manjih GIST u želucu. Operativno lečenje GIST želuca se vrši otvorenim i

laparoskopskim putem. Pored operativnog lečenja, u slučajevima GIST manjih dimenzija, uvedene su razne endoskopske procedure.

Rani karcinomi i druge patološke promene koje su lokalizovane na mukozi ili površno u submukozi, mogu biti endoskopski ekscidirane, bez lezije dubljih struktura. GIST obično potiču od mišićnog sloja zida želuca, odnosno od četvrtog sloja zida tokom EUS, te predstavlja poseban izazov tokom endoskopske procedure, zbog nemogućnosti da se obezbedi R0 resekcija.

Nakon učinjene endoskopske intervencije vrše se patohistološka i imunohistohemijska ispitivanja tumora i u slučaju da na osnovu NIH klasifikacije tumor pripada intermedijarnoj grupi ili grupi visokog rizika, preporučuje se dodatna hirurška intervencija ili adjuvantna terapija imatinibom(121).

Postoje razne endoskopske procedure koje se izvode u cilju uklanjanja GIST želuca. U nastavku će biti objašnjene neke endoskopske procedure.

#### **1.8.5.1. EMR (Endoscopic Mucosal Resection- Endoskopska mukozna resekcija)**

Endoskopska mukozna resekcija je metoda gde obično nakon ubrizgavanja submukoznog sloja lezija se usisava u "kopicu" na vrh endoskopa i potom vrši se resekcija lezije endoskopskom omčom.

Ova metoda je podesna samo za mukozne lezije i izrazito retko za GIST manjih dimenzija koji polazi iz površnih slojeva mišićnog zida, jer dublji slojevi i veći tumori ne mogu biti usisani i ekscidirani u potpunosti ovim metodom. Krvarenje i perforacije su moguća komplikacija ove metode.

#### **1.8.5.2. EBL (Endoscopic Band Ligation- Endoskopska band ligatura)**

Endoskopska band ligatura je prvo upotrebljena za lečenje varikoziteta jednjaka i potom je korišćena i za površne lezije mukoze želuca. Sun i saradnici(122) 2007.godine prvi su objavili svoj rad o korišćenju ove metode u lečenju GIST želuca manjih dimenzija. Oni su u seriji od 29 bolesnika kod njih 28 imali su kompletnu resekciju bez pojave recidiva. Kod jednog bolesnika su imali R1 resekcije i pojavu recidiva. Porcedura se vrši tako što se

tumor usisava u providnu kapicu, plasira se band ligatura i potom iseče sa površine mukoze i submukoze i zatim se vrši disekcija tumora. EUS se koristi da se vidi da li je band ligaturom uhvaćen ceo tumor, hemoklipsovi se plasiraju oko band ligature da se smanji tenzija i smanji mogućnost perforacije. EBL se koristi samo za male tumore veličine manje od 12 mm, koji potiču od površnog mišićnog sloja.

#### **1.8.5.3. ESD (Endoscopic Submucosal Dissection- Endoskopska submukozna disekcija)**

Endoskopska submukozna disekcija je prvo u praksi uvedena u cilju ekscizije ranog karcinoma želuca(123). Ova metoda je potom korišćena i u lečenju manjih submukoznih tumora želuca(124). Procedura se izvodi na taj način što se nakon označavanja mesta submukoznog tumora u submukozi ubrizgava rastvor i nakon incizije mukoze i submukoze se vrši disekcija tumora endoskopskim makazama. Pošto se tumor ukloni na mestu otvora na mukozi plasiraju se klipsevi. Endoskopska submukozna disekcija se kao i EBL koristi za male tumore koji potiču sa površnih slojeva mišićnog zida želuca. Ova procedura je praćena sa mogućim komplikacijama u vidu pojave krvarenja, perforacije i retke pojave stenoze i aspiracione pneumonije. U pogledu lečenja manjih GIST želuca, ESD u komparaciji sa laparoskopskim procedurama ima prednosti u pogledu dužine procedure, kao i u količini gubitka krvi i dužini hospitalizacije.

#### **1.8.5.4. ESE (Endoscopic Submucosal Excavation - Endoskopska submukozna enukleacija)**

Endoskopskom submukoznom disekcijom ponekad nije moguće u potpunosti ukloniti tumor, naročito ako tumor počinje iz dubljih slojeva mišićnog sloja zida. 2011. godine Jeong i saradnici(125) su promovisali metodu koja je nazvana ESE, odnosno endoskopska submukozna enukleacija, koja je slična metodi ESD, s tim da je u ovoj proceduri moguće ući i u duble slojeve, korišćenjem vrhom izolovanog endoskopskog noža, koji sprečava povrede dubljih struktura i moguće perforacije. Tokom ove procedure, kao i tokom

prethodnih navedenih endoskopskih procedura, moguća je pojava komplikacije u vidu perforacije ili krvarenja.

#### **1.8.5.5. EFTR (Endoscopic Full-Thickness Resection-Endoskopska resekcija cele debljine zida)**

Suzuki i Ikeda(126) su 2001.godine uveli ovu tehniku u praksi. Metoda je slična kao i prethodne metode, s tim da se tokom ove procedure vrši resekcija celog obima zida želuca sa tumorom. Tehnički, nakon ubrizgavanja submukoze se preseku mukoza i submukoza oko tumora, potom se vrši dalja incizija oko tumora dublje od mišićnog sloja i zatim incizija seroznog sloja oko tumora i na taj način se pravi "aktivna perforacija" zida želuca prema peritonealnoj duplji. Po uklanjanju tumora, defekt zida se zatvara klipsevima(127). Moguće komplikacije ove procedure pored krvarenja su lokalni peritonitis i nadutost. Prednosti ove procedure su manji gubitak krvi i vremensko skraćenje procedure i dužine hospitalizacije u odnosu na laparoskopske metode(128).

#### **1.8.5.6. STER (Submucosal Tunneling Endoscopic Resection - Endoskopska submukozna tunelska resekcija)**

Ova procedura je prvo uvedena za submukozne tumore jednjaka i kardije(129). Tehnički ova procedura se izvodi kao i prethodna procedura. Po ubrizgavanju submukoznog sloja se formira incizija na mukozi proksimalno od tumora i kroz ove incizije se kreira submukozni tunel između submukoznog i mišićnog sloja. Potom se dolazi do tumora. Nakon disekcije tumora od mišićnog sloja, tumor se ukloni i ulazni otvor na mukozi se zatvara klipsevima. Ova procedura, pored čuvanja integriteta većeg dela mukoze ima preduslov za brže zarastanje i smanjene mogućnosti pojave peritonitisa. Kao i prethodne endoskopske procedure i ova procedura je praćena mogućim komplikacijama u vidu pojave krvarenja, lezije mukoze ili nadutosti(130).



#### **1.8.5.7. LECS (Laparoscopic and Endoscopic Cooperative Surgery - Laparoscopska i endoscopska kooperativna hirurgija)**

Sve prethodno navedene endoskopske procedure imaju svoje limite kada su u pitanju veličine i lokalizacije tumora. S druge strane laparoscopska metoda kod manjih endoluminalnih lezija nije podesna, jer nije moguće vizualizovati leziju, takodje, kod lezije bliže kardiji ili pilorusu laparoscopska ekscizija može dovesti do deformacije i suženja lumena. Iz ovih razloga Hiki i saradnici(131) su predložili hibridnu laparoscopsko - endoscopsku proceduru. LECS kombinuje prednosti endoskopije i laparoskopije i to u vidu endoscopske incizije mukoze i submukoze, dok se seromuskularna incizija izvodi laparoskopijom i incizioni otvor se zatvara staplerima laparoscopski. Ova metoda je podesna za posebno selektovane pacijente i ona obezbeđuje R0 resekciju i praćena je minimalnim komplikacijama.

### **1.8.6. OPERATIVNE PROCEDURE U TRETMANU GIST ŽELUCA**

Hirurška resekcija je tretman izbor u lečenju GIST, bez obzira da li je u pitanju primarna operacija ili je u pitanju operativni tretman nakon sprovedene neoadjuvantne terapije. R0 resekcija je cilj svake operativne procedure, međutim za razliku od karcinoma tokom resekcije GIST, limfadenektomija i omentektomijanu su neophodne. Lokalizacija i veličina tumora su glavni parametri koji određuju tipa operativne procedure. Lokalizacije GIST u predelu ezofagogastričnog prelaza ili u predelu pilorusa zahtevaju poseban tretman u cilju odluke o adekvatnom operativnom tretmanu. GIST su često izrazito fragilne i iz tog razloga zahtevaju izuzetno pažljivu manipulaciju tokom operativnog tretmana, jer ruptura tumora povećava mogućnosti pojave recidiva i samim tim smanjuje preživljavanje. Preoperativne dijagnostičke procedure kao što su EUS i CT mogu da ukažu da li tumor poseduje cistične i fragilne komponente.

Gastrointestinalni stromalni tumori želuca u slučaju rupture i perforacije u peritonealnu duplju ili u slučaju aktivnog krvarenja, zahtevaju hitan operativni tretman. Krvarenje iz GIST želuca koje nije moguće endoskopski tretirati, takođe zahteva hitno operativno lečenje. GIST želuca kod koji preoperativne dijagnostičke procedure ukazuju da je moguće izvršiti R0 resekcije su kandidati za hiruršku resekciju.

U slučaju da veličina i lokalizacija tumora ili ekspanzivnost tumora ukazuju na nemogućnost izvodjenja R0 resekcije, indikovano je uvođenje neoadjuvantne terapije imatinibom. Tokom terapije imatinibom u slučaju da postoji regresija tumora i mogućnost za obezbeđivanje R0 resekcije, operativno lečenje je indikovano.

GIST želuca manjih dimenzija koji nisu bili kandidati za endoskopske resekcije su takođe kandidati za operativno lečenje. GIST želuca manjih dimenzija koji imaju EUS visokog rizika (ehogena polja, nekroza ili iregularna margina) su takođe kandidati za operativni tretman.

Operativno lečenje treba prilagoditi u skladu sa lokalizacijom, veličinom i makroskopskom karakteristikom tumora, opštim stanjem bolesnika i hirurškim tehnikama, i to sve u cilju adekvatnog onkološkog tretmana. Pored ranije pomenutih endoskopskih resekcionih procedura za resekciju GIST želuca, druge procedure su otvorena i laparoskopska tehnika kao i "hand - assisted" ili "robot-assisted" procedure.

#### **1.8.6.1. LAPAROSKOPSKA PROCEDURA U TRETMANU GIST ŽELUCA**

Laparoskopski pristup se sve više primenjuje u slučajevima GIST veličine do 5 cm. U jednoj studiji pokazano je da laparoskopska i otvorena hirurgija karakterišu sličan 30-dnevni morbiditet, dugoročni onkološki efekat i klinički ishod, ali je u laparoskopskoj grupi zabeležen kraći postoperativni boravak u bolnici (4 naspram 7 dana) i nešto manji intraoperativni gubitak krvi. Konverzija u otvoreni pristup često je bila uzrokovana lokalizacijom tumora u regiji ezofagogastričnog prelaza ili na maloj krivini želuca(132). Tumori većih dimenzija zahtevaju otvoreni pristup i ekstenzivnije resekcije, kao što su distalna gastrektomija u slučaju lokalizacije GIST u regiji pilorusa ili male krivine, zatim totalna gastrektomija u slučajevima tumora velikih dimenzija, odnosno multiplih GIST(133),(134). Manipulacija i ruptura tumora povećavaju mogućnost peritonealnog rasejavanja tumorskih ćelija, pa ih stoga treba izbegavati.

Razvojem operativne laparoskopske tehnike i adekvatne laparoskopske instrumente omogućili su da se povećava procenat GIST želuca koji mogu uz postizanje odgovarajuće onkološke principe biti resecirani laparoskopskim putem. Veličina GIST je bila glavni kriterijum za laparoskopski pristup, tako da po preporukama NCCN ( National Comprehensive Cancer Network) za lečenje GIST želuca iz 2004. godine, tumori veličine do 2cm mogu biti laparoskopski resecirani(135). Sa razvojem laparoskopske tehnike dolazi do značajnog pomaka u uvođenju laparoskopske procedure u lečenju GIST, tako da NCCN preporuke iz 2010.godine(120) su da svaki GIST veličine 2 cm ili veći od toga, treba resecirati. GIST manji od 5 cm su podesni za laparoskopsku resekciju. Ako su GIST veći od 5 cm mogu se resecirati laparoskopsijom ili "hand-assistend" laparoskopijom. Trenutno ne postoje striktno restrikcije vezano za veličinu tumora u pogledu izbora otvorenog ili laparoskopskog pristupa. Izbor otvorene ili laparoskopske tehnike zavisi pored veličine i lokalizacije tumora i od laparoskopske veštine hirurga.

Specifičnosti GIST želuca koji za razliku od karcinoma ne zahtevaju široke resekcijske margine, omentektomiju i limfadenektomiju, kao i razvoj veštine hirurga u laparoskopiji, uz podesne laparoskopske opreme i laparoskopske staplere su doprineli da laparoskopija vremenom postaje metoda izbora u operativnom lečenju većine slučajeva GIST želuca.

Laparoskopske tehnike su slične kao i većina abdominalnih laparoskopskih operacija(136). Pacijent je položen na leđima sa raširenim rukama. Operator zauzima položaj između noge ili desno od bolesnika. Nakon kreiranja pneumoperitoneuma, plasiraju se pet trokara od kojih jedna služi za kameru i jedna za jetrin retraktor. Jedan trokar služi asistentu i ostala dva radna trokara služe operatoru. Nakon kreiranja pneumoperitoneuma i eksploracije trbušne duplje kao i eksploracije jetre, vizualizuje se tumor želuca. Po potrebi se može uraditi i intraoperativna endoskopija koja može da služi da tačno identifikuje mesto tumora i njegove granice i da na kraju operacije kontroliše suficijentnosti šavne linje na želuca. Tokom eksploracije jetre, naročito ako na osnovu preoperativne dijagnostike postoji sumnja prisustva metastaze, može se koristiti i intraoperativna ultrasonografija.

Kada je u pitanju laparo-endoskopska procedura(137), pored operatora i asistenta na tipičnim mestima uz pacijenta, iznad glave pacijenta se nalazi endoskopista. Nakon kreiranja pneumoperitoneuma i eksploracije trbušne duplje, vrši se endoskopska eksploaracija želuca, vizuelizuje se tumor i potom se plasiraju dva trokara koji nakon probijanja trbušnog zida, pod kontrolom endoskopa ulaze u lumen želuca. Za disekciju i eksciziju tumora se koristi 2 ili 5 milimatarski instrumenti sa balonima koji služi za njihovu stabilizaciju u lumenu želuca. Vršiti se anemizacija submukoze i mišićnog zida, razblaženim adrenalinom koji se obično ubrizgava endoskopskim putem, potom laparoskopskim putem intragastrično pod vizijom endoskopa ili pod vizijom laparoskopske kamere se vrši preparisanje i ekscizija tumora. Mukozni sloj se suturira laparoskopski pod vizijom endoskopa. Resecirani tumor se stavlja u posebnu endoskopsku kesu i endoskopom se izvadi kroz usta ili se tumor izvadi endoskopskom omčom. Nakon vađenja trokara iz zida želuca, suturiraju se defekti zida želuca.

GIST može biti lokalizovan na bilo kom delu želuca. Najčešće lokalizacije su u proksimalnoj polovini korpusa i fundusa. Lokalizacije GIST u predelu prednjeg zida i velike krivine su najpodesnije za resekciju, dok lokalizacije u predelu kardije ili subkardijalne regije ili u prepiloričnoj regiji su zahtevnije za hirurga.

Kada je GIST ekstraluminalnog rasta i lokalizovan u predelu prednjeg zida ili duž velike krivine, lako se vizualizuje endoskopom. U slučaju da je tumor intraluminalnog rasta, vizualizacija se vrši endoskopom ili palpacijom sa dva posebna laparoskopska instrumenta.

Obično je dovoljno da se plasiraju dva podržna pojedinačna šava na oko 1 cm od margine tumora i potom endoGIA staplerom se vrši "wedge resekcija" zida sa tumora. U drugim slučajevima, može se i uz pomoć koagulacionih laparoskopskih instrumenata ekscidirati tumor sa okolnim zdravim zidom i potom suturirati nastali otvor na želucu.

Kod lokalizacije GIST na zadnjem zidu želuca, nakon "skletiranja" velike krivine i po potrebi i ligiranja kratkih gastričnih sudova, velika krivina se pomera ka gore i na taj način pristupa se zadnjem zidu želuca. Pristup tumorima na zadnjem zidu želuca moguć je i nakon formiranja gastrotomije na prednjem zidu, nakon čega se vrši ekscizija tumora zadnjeg zida kroz lumen želuca. Postoji i opcija da se radi laparoendoskopskom tehnikom (laparoskopska intragastrična odnosno endoluminalna hirurgija) plasiranjem trokara kroz prednjeg zida u lumen želuca i potom ekscizijom tumora i suturom pod kontrolom endoskopa.

U slučaju lokalizacije tumora u predelu velike ili male krivineslična je tehnika, s tim da se vrši na isti način skletiranje velike, odnosno male krivine i potom "wedge resekcija" zida želuca sa tumorom.

Laparoskopski pristup je indikovao u slučajevima manjih tumora na pogodnim lokacijama kao što je velika krivina ili prednji zid želuca(136).Tokom laparoskopske operacije treba izbegavati stiskanje i rupturu tumora, stoga se preporučuje korišćenje staplera za resekciju, kaoi laparoskopske kese za ekstrakciju tumora. U poređenju sa otvorenim pristupom, laparoskopske operacije imaju slične onkološke rezultate, međutim pokazuju prednostpo pitanju postoperativnog bola, invazivnosti, dužine hospitalizacije i kozmetskog efekta(138).

#### **1.8.6.2.     ROBOTSKA ASISTIRANA OPERACIJA**

Početna iskustva o uvođenju robotske hirurgije u lečenju GIST želuca su objavljene(139), (140),(141). Potrebna je još klinička studija, kako bi došli do potrebnih saznanja o mestu robotske hirurgije u lečenju GIST.

### 1.8.6.3. OTVORENA TEHNIKA U OPERATIVNOM LEČENJU GIST

U slučajevima GIST većih dimenzija i uznapredovalosti ili kod lokalizacije u predelu ezofagogastričnog prelaza ili prepilorične regije, kada obično nije moguće laparoskopskim putem obezbediti adekvatnu onkološku i bezbednu operaciju, otvorena operativna tehnika je najsigurnija i pruža onkološki adekvatan operativni tretman. Nadalje, u svim slučajevima kada po proceni hirurga otvorena metoda pruža sigurniji tretman, ne treba insistirati na drugim metodama. Posebno treba naglasiti i sve slučajeve kada se iz bilo kog razloga tokom laparoskopije proceni da postoji indikacija za konverziju u otvorenoj metodi.

Kod lokalizacije GIST u predelu prepilorične regije, treba voditi računa da ekscizijom tumora i suturom zida ne dovedemo do suženja pilorusa. Ako je tumor manji i nalazi se u predelu mukoze i submukoze, laparoendoskopskom tehnikom se vrši ekscizija zida. U slučaju većih tumora kod kojih nije moguće ekscidirati "wedge" resekcijom, indikovano je antrektomija ili distalna gastrektomija sa rekonstrukcijom.

Lokalizacija GIST u predelu ezofagogastričnog prelaza predstavlja poseban izazov, jer treba pored resekcije tumora u celini uz obezbeđivanje R0 resekcije sačuvati i funkciju kardije. Ako su tumori lokalizovani 2-3 cm dalje od ezofagogastričnog prelaza, zavisno od njihovog položaja, vrši se ekscizija kao što je prethodno navedeno. U slučaju da su tumori manjeg obima i nalaze se u predelu mukoze ili submukoze na ezofagogastričnom prelazu, vrši se enukleacija laparoendoskopskim putem.

Poseban tretman zahtevaju veći tumori lokalizovani u predelu ezofagogastričnog prelaza, odnosno u predelu kardije, kada enukleacija ili "wedge" resekcija nisu mogući. Kod ovakvih tumora, zavisno od veličine i proširenosti tumora na distalni jednjak ili na proksimalni želudac, dolazi u obzir više mutilantnih hirurških intervencija kao što su distalna ezofagektomija i totalna gastrektomija sa Roux-e-Y ezofagojejunu rekonstrukcijom, distalna ezofagektomija i proksimalna gastrektomija sa ezofagogastro anastomozom (Garlock-Sweet operacija), subtotalna ezofagektomija i proksimalna gastrektomija sa intrtorakalnom ezofagogastrplastikom (op.sec. Ivor Lewis) kao i distalna ezofagektomija i proksimalna gastrektomija sa interpozicijom jejunlane vijuge interezofagogastrično (op.sec.Merendino).

Kod lokalizacije GIST želuca koji infiltrišu korpus želuca i ostavljaju dovoljan segment proksimalnog želuca i antruma, moguće je uraditi mediogastričnu resekciju želuca sa gastrogastro anastomozom.

Gore navedene operativne procedure za uznapredovale GIST kardije se izvode u referentnim zdravstvenim ustanovama od strane iskusnih hirurga.

Laparoskopski pristup je indikovano u slučajevima manjih tumora na pogodnim lokacijama, kao što je velika krivina ili prednji zid želuca(136).Tokom laparoskopske operacije treba izbegavati stiskanje i rupturu tumora pa se stoga preporučuje korišćenje staplera za resekciju, kao i laparoskopska kesa za ekstrakciju tumora. U poređenju sa otvorenim pristupom, laparoskopske operacije imaju slične onkološke rezultate, međutim pokazuju prednost po pitanju postoperativnog bola, invazivnosti, dužine hospitalizacije i kozmetičkog efekta(138).

Otvoreni pristup je podesan za sve tipove i sve lokalizacije GIST i naročito za veće tumore, multiple tumore i lokalizacije u predelu ezofagogastričnog prelaza duž vertikalnog dela male krivine, kao i u prepiloričnoj regiji.Uvek kada na osnovu preoperativnih dijagnostičkih procedura tumor pokazuje znake granične resektabilnosti i nije moguće laparoskopijom doneti odluku o resektabilnosti, otvoreni hirurški pristup omogućava rešenje operativne dileme i odluku o daljem lečenju.

#### **1.8.6.4. HIRURŠKO LEČENJE TOKOM ADJUVANTNE TERAPIJE IMATINIBOM**

Lečenje GIST isključivo inhibitorima tirozin kinaze, retko dovodi do potpunog terapijskog odgovora, zato što tumorske ćelije koje su rezistentne na inhibitore tirozin kinaze nastavljaju da se razmnožavaju(142).Makroskopski zaostali deo tumora treba hirurški ukloniti, kako bi se sprečio dalji rast tumora. Produženje preživljavanja kombinovanjem hirurške resekcije i terapije imatinibom u slučajevima parcijalnog odgovora ili stabilne bolesti, predloženo je u više objavljenih studija(143).Operativno lečenje nakon primene imatiniba preporučuje se ukoliko pacijent koji ima GIST i prima terapiju imatinibom u periodu od 4 do 12 meseci pokazuje „parcijalan odgovor“ ili ima „stabilnu bolest“, i ukoliko su zaostale tumorske mase procenjene kao resektabilne, kao i u slučaju progresije

bolesti sa ograničenim i resektabilnim promenama(144).Pored hirurške resekcije, kako peritonealne tako i metastaze u jetri mogu se tretirati i drugim modalitetima lečenja, kao što je radiofrekventna ablacija. I nakon potpunog uklanjanja rezidualnih tumorskih promena ne treba obustaviti terapiju imatinibom.Za razliku od hirurške resekcije, nakon terapije imatinibom inicijalna hirurška resekcija bez prethodne primene imatiniba nije efikasna(145). U metastatskoj fazi GIST, inicijalno operativno lečenje nije indikovano.Standardna početna terapija je terapija imatinibom, jer ne postoji dokaz da hirurška resekcija pre inicijalne primene imatiniba produžava preživljavanje.

Hirurško lečenje metastaza sa posledičnom terapijom imatinibom, indikovano je u slučajevima metastaza sa razvojem rezistencije na imatinib, kao i u urgentnim situacijama, kao što je ruptura cističnih metastaza (146). Znači progresije tumora i nastajanja rezistencije na imatinib mogu se prepoznati na CT-u kao periferna zadebljanja cističnih metastaza, čak i u odsustvu porasta dimenzija metastaza (147).

#### **1.8.7. CILJANA MOLEKULARNA TERAPIJA**

Hirurško lečenje predstavljalo je donedavno jedini efektivan tretman u slučajevima lokalizovanih GIST.Primena radioterapije pokazala se kao bezuspešna, dok su efekti primene standardnih režima hemioterapije, kao što je pokazano u radovima objavljenim pre 2000.godine, bili izuzetno slabi i nisu mogli sprečiti ranu pojavu recidiva, kao ni smrtne ishode uzrokovane metastatskim GIST. Uvođenje ciljanog molekularnog terapijskog agensa imatinib mesilata 2001.godine, značajno je unapredilo ishod lečenja pacijenata sa GIST, naročito u slučajevima lokalno uznapredovalih i metastatskih GIST(144). Imatinib predstavlja selektivni inhibitor tirozin kinaznih receptora, uključujući c-KIT tirozin kinaze. Inicijalno, imatinib je odobren za terapiju hronične mijeloidne leukemije sa dokazanim mutacijama KIT i BCR-ABL gena. Nakon što je pokazan objektivni odgovor na terapiju imatinibom kod više od 50% pacijenata sa GIST, imatinib je ubrzo postao lek izbora u slučajevima neresektabilnih i metastatskih GIST(148).



### **1.8.7.1. ADJUVANTNA TERAPIJA**

Svrha primene adjuvantne terapije imatinibom je smanjenje ili odlaganje rasta mikroskopski zaostalih tumorskih ćelija nakon hirurške resekcije. Dosadašnje studije su pokazale da je godinu dana primene adjuvantne terapije imatinibom signifikantno produžilo „recurrence free survival“ pacijentima sa GIST nakon hirurške resekcije(149).

Druge studije su pokazale da primenaimatiniba u vidu adjuvantne terapije u vremenskom periodu od 36 meseci smanjuje rizik od pojave recidiva u grupi GIST intermedijarnog i visokog rizika(150).Druge studije su pokazale da primena adjuvantne terapije imatinibom u periodu od 36 meseci u odnosu na period od 12 meseci smanjuje rizik od recidiva i produžava preživljavanje kod bolesnikasa GIST visokog rizika, te je sada adjuvantna terapija imatinibom indikovana kod bolesnikasa GIST visokog rizika u preporučenom periodu od 36meseci(20).Za GIST intermedijarnog rizika i dalje ne postoje jasne preporuke za primenu adjuvantne terapije imatinibom.U cilju selekcije bolesnika kod kojih je indikovano sprovesti adjuvantnu terapiju imatinibom, koristi se modifikovana NIH klasifikacija.

Preporučuje se i genetsko ispitivanje tumora da bi se identifikovala PDGFRA egzon 18 D842V mutacija, naročito u slučajevima GIST želuca, jer je poznato da su GIST sa ovom mutacijom rezistentni na primenu imatiniba. Pored toga, poznato je i da wild-typeGIST slabije reaguju na primenu imatiniba,a naročito tumori u sklopu GIST sindroma, kao što su neurofibromatoza tip 1, Carney trijada i Carney-Stratakis sindrom(151).

### **1.8.7.2. NEOADJUVANTNA TERAPIJA**

U slučajevima velikih ili granično operabilnih GIST, kada se očekuje da bi hirurška resekcija uzrokovala veći morbiditet i gubitak funkcije organa, odnosno kada se očekuje da bi citoreduktivna terapija omogućila bezbedniju resekciju i očuvanje funkcije organa, preoperativna primena imatiniba se može uzeti u razmatranje. Preoperativna primena imatiniba ne povećava rizik od pojave hirurških komplikacija i pokazano je da je ovakav tretman bezbedan i izvodljiv, s druge strane dugogodišnji prognostički efekti nisu još uvek jasno definisani (152). Približno 6 meseci može biti adekvatno trajanje preoperativne terapije imatinibom, mada još uvek ne postoje konkretni dokazi i preporuke koje se odnose

na dužinu trajanja preoperativne terapije. Osim toga, ova grupa pacijenata može zahtevati adjuvantnu terapiju imatinibom u trajanju od 3 godine, s ciljem poboljšanja prognoze. Ukoliko dođe do progresije tumora tokom preoperativne terapije, savetuje se neodložni prekid terapije imatinibom i hirurško lečenje. Stoga je inicijalna evaluacija odgovora na imatinib, na primer mesec dana nakon početka terapije, od izuzetne važnosti.

### **1.8.7.3. IMATINIB - PRVA LINIJA TERAPIJE**

Imatinib mesilat predstavlja terapiju prve linije u slučaju primarno inoperabilnih GIST, metastatske bolesti ili recidiva GIST i primenjuje se u standardnoj dozi od 400 mg/dan. Primena imatiniba u dozi većoj od standardne (800 mg/dan) preporučena je od strane NCCN (National Comprehensive Cancer Network) i ESMO (European Society for Medical Oncology) u slučajevima GIST koji poseduju KIT egzon 9 mutaciju, jer je u kliničkim studijama pokazano da imatinib u dozi od 800 mg/dan dovodi do dužeg *progression-free survival-a* (PFS) u navedenim slučajevima(153). Ipak, navedene preporuke nisu implementirane u svim zemljama. Na primer u Japanu je primena imatiniba u dozi većoj od standardne u slučaju GIST sa KIT egzon 9 mutacijama označena kao opcionalna terapija.

Primena imatiniba u većoj dozi povezana je sa pojavom težih toksičnih efekata, u poređenju sa primenom u standardnoj dozi(154)(155), te je stoga obavezno individualno prilagođavanje terapije.

Prekidanje terapije imatinibom praćeno je progresijom bolesti(156), pa se stoga preporučuje neograničena primena imatiniba, ako je pacijent dobro podnosi, čak i u slučajevima kompletnog odgovora na terapiju ili nakon makroskopske resekcije rezidualnih tumora.

Studije su pokazale da polovina do dve trećine pacijenata sa metastatskim, odnosno recidivantnim GIST pokazuju objektivni odgovor na terapiju imatinibom, sa srednjim *progression-free survival-om* koji iznosi duže od 2 godine i približno 15% pacijenata kod kojih je zabeležen trajan odgovor na terapiju, duži od 10 godina(154)(156)(157)(158).

Srednji vremenski period do postizanja terapijskog efekta imatiniba iznosi 3 meseca, dok u nekim slučajevima može biti potrebno nekoliko meseci da bi se uspostavio terapijski

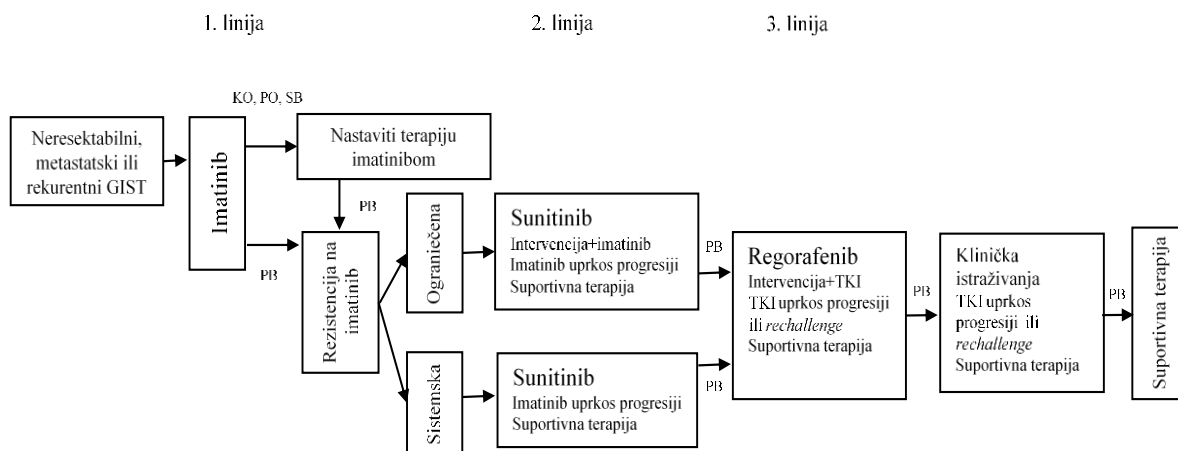
efekat(148). Osim toga, pacijenti sa stabilnom bolesti koja traje duže od 6 meseci, pokazuju sličan onkološki ishod kao pacijenti sa objektivnim odgovorom na terapiju(158), što ukazuje na značaj pažljivog praćenja odgovora na imatinib u ranoj fazi terapije. S druge strane, kod 10-15% pacijenata zabeležena je intolerancija, odnosno primarna rezistencija na terapiju imatinibom.

Kao biomarkeri aktivnosti imatiniba mogu poslužiti genotip i koncentracija leka u plazmi (11)(159). GIST sa mutacijom na egzonu 11 su najosetljiviji na imatinib, dok su GIST sa mutacijom na egzonu 9 manje osetljivi i mogu zahtevati primenu imatiniba u većoj dozi (800 mg/dan) u cilju postizanja dužeg *progression-free survival*-a. GIST koji poseduju određene mutacije, kao što su PDGFRA egzon 18 (D842V) ili KIT egzon 17 (D816V) mutacije, rezistentni su na imatinib(160). Smatra se da su wild-type GIST, koji ne poseduju mutacije KIT i PDGFRA gena, takođe rezistentni na primenu imatiniba. Stoga je analiza mutacija preporučljiva u svim slučajevima u kojima se terapija imatinibom uzima u obzir.

Neadekvatne koncentracije leka u plazmi mogu biti povezane sa kratkim *progression-free survival*-om(161). Određivanje koncentracije imatiniba u plazmi može biti korisno u slučajevima pojave neočekivanih toksičnih efekata, sumnje na slabije vezivanje leka, mogućih značajnih interakcija sa drugim lekovima, kao i u slučajevima neočekivane rane progresije bolesti tokom primene imatiniba u standardnoj dozi.

Rezistencija na imatinib se može javiti kao primarna i sekundarna. Primarna rezistencija na imatinib karakteriše se progresijom bolesti u toku prvih 6 meseci, dok se sekundarnom rezistencijom označava progresija bolesti nakon 6 meseci terapije. Glavni uzrok primarne rezistencije na imatinib su genotipovi u koje spadaju D842V mutacija, wild-type podtipovi i neke KIT egzon 9 mutacije. Do sekundarne rezistencije na imatinib dovode mutacije u ATP-vezujućem regionu ili aktivirajućoj petlji, koje nastaju tokom terapije imatinibom(162). Veća učestalost sekundarnih mutacija zabeležena je kod tumora sa mutacijom u KIT egzonu 11, u odnosu na tumore sa mutacijom u KIT egzonu 9. Sekundarne mutacije pokazuju klonalnu evoluciju i značajnu heterogenost u odnosu na lokacije metastaza, pa čak i u okviru samog tumora, iako je primarna mutacija ista u svim lezijama. Terapijski algoritam za lečenje neresektabilnih, metastatskih ili rekurentnih GIST prikazan je u šemi 5.

Slika 9. Terapijski algoritam za lečenje neresektabilnih, metastatskih ili rekurentnih GIST. Pod intervencijama podrazumevaju se hirurška resekcija, radiofrekventna ablacija i transkateterska arterijska embolizacija za pacijente sa ograničenom progresijom. TKI – inhibitori tirozin kinaze; KO – kompletan odgovor; PO – parcijalan odgovor; SB – stabilna bolest; PB – progresija bolesti.



#### 1.8.7.4. SUNITINIB - DRUGA LINIJA TERAPIJE

U slučajevima progresije bolesti tokom terapije imatinibom ili teških neželjenih efekata terapije, sunitinib malat je preporučen kao terapije druge linije(21).

U nekim slučajevima GIST rezistentnih na imatinib koji pokazuju znake fokalne progresije, rezistentne lezije se mogu tretirati hirurškom resekcijom, radiofrekventnom ablacijom ili transkateterskom arterijskom embolizacijom. Pokazano je da hirurško lečenje u slučajevima ograničene progresije dovodi do *progression-free survival*-a u trajanju od 6 do 12 meseci u retrospektivnim studijama (144)(163)(164), što ukazuje na to da ovakav pristup, uz nastavak terapije imatinibom može biti koristan u slučaju ograničene progresije bolesti. Alternativna terapijska opcija je povećanje doze imatiniba na 800mg/dan, što može produžiti vremenski period do pojave progresije bolesti za 3 meseca (165).

Sunitinib predstavlja *multitarget*-ni inhibitor, koji vrši inhibiciju KIT receptora, PDGF receptora, receptora vaskularnih endotelijanih faktora rasta 1-3 (*vascular endothelial growth factor receptor, VEGF 1-3*), CSF 1 (*colony stimulating factor 1*) receptora, kao i

RET (*rearranged during transfection*) receptora. Sunitinib je inicijalno odobren u lečenju GIST rezistentnih na imatinib, odnosno kod pacijenta sa intolerancijom na imatinib u dozi od 50mg/dan tokom 4 nedelje, sa posledičnom pauzom u trajanju od 2 nedelje. Kasnije je odobrena kontinuirana primena sunitiniba u dozi od 37,5mg/dan u SAD i Evropi, ali ne i u Japanu. Doza i slika primene sunitiniba može biti individualno prilagođena, u zavisnosti od odgovora na terapiju i pojave neželjenih efekata. Zabeležena je stopa odgovora na terapiju od približno 10%, dok je stopa kliničkog poboljšanja iznosila približno 50%, sa srednjim *progression-free survival*-om u trajanju od 8 meseci, što je bilo više nego četverostruko duže u odnosu na placebo (21). Najučestaliji neželjeni efekti pokazuju drugačiji profil i generalno su ozbiljniji u poređenju sa neželjenim efektima koji su zabeleženi tokom primene imatiniba.

Aktivnost sunitiniba zavisi od tipa primarnih, odnosno sekundarnih mutacija. Od primarnih mutacija, pacijenti sa GIST koji poseduju mutacije u KIT egzonu 9, kao i pacijenti sa wild-type GIST, imaju više koristi od terapije sunitinibom u poređenju sa pacijentima sa GIST koji poseduju mutacije u KIT egzonu 11. Što se sekundarnih mutacija tiče, pacijenti sa GIST sa sekundarnim mutacijama u ATP-vezujućem domenu pokazuju bolji odgovor i imaju bolju prognozu tokom terapije sunitinibom u odnosu na pacijente sa sekundarnim mutacijama u domenu aktivirajuće petlje(166).

#### **1.8.7.5. REGORAFENIB - TREĆA LINIJA TERAPIJE**

Regorafenib takođe predstavlja *multitarget*-ni inhibitor i vrši inhibiciju KIT receptora, PDGF receptora, VEGF 1-3 receptora, receptora za faktor rasta fibroblasta (*fibroblast growth factor receptor, FGF receptor*), RET i BRAF receptora. Primena regorafeniba je inicijalno odobrena u slučajevima GIST rezistentnih na imatinib i sunitinib u režimu primene od 160mg/dan tokom 3 nedelje, sa pauzom u trajanju od 1 nedelje. Tokom primene po navedenom režimu zabeležena je stopa odgovora na terapiju od 4,5%, stopa kliničkog poboljšanja od približno 50%, kao i srednji *progression-free survival* period od 5 meseci(22). Stoga regorafenib predstavlja terapiju treće linije u slučajevima GIST koji pokazuju progresiju tokom terapije sunitinibom. Alternativnu opciju predstavlja ponovno

uvođenje imatiniba, tzv. *rechallenge* imatinibom nakon zabeležene progresije bolesti tokom terapije sunitinibom, pri čemu je zabeleženo dvostruko povećanje *progression-free survival*-a (1,8 meseci) u odnosu na placebo(167). Hirurško lečenje u slučajevima fokalno progresivnih lezija tokom terapije sunitinibom može dati rezultate u određenim slučajevima(168).

### **1.8.8. LEČENJE UZNAPREDOVALE BOLESTI (MULTIDISCIPLINARNI PRISTUP)**

Približno 60% pacijenata sa GIST bude izlečeno nakon kompletne resekcije, dok kod ostalih 40% dođe do pojave recidiva tokom perioda praćenja koji zahteva primenu ciljane molekularne terapije (169). Svi vodiči preporučuju adjuvantnu terapiju imatinibom u trajanju od 3 godine za pacijente sa značajnim rizikom za recidiviranje, što poboljšava ne samo preživljavanje bez recidiviranja (*relapse-free survival*), već i ukupno preživljavanje pacijenata sa GIST visokog rizika, odnosno, pacijenata sa rupturiranim GIST (20). Adjuvantna primena imatiiba nije preporučena u slučajevima GIST veoma niskog i niskog stepena rizika, dok za tumore intermedijarnog rizika ne postoji konsenzus.

Analiza mutacija je od presudnog značaja prilikom donošenja odluke o primeni adjuvantne terapije. Nijedan vodič ne preporučuje adjuvantnu terapiju imatinibom u slučajevima GIST sa PDGFRA D842V mutacijom. Osim toga, smatra se da pacijenti sa wild-type GIST nisu kandidati za adjuvantnu terapiju, mada, s druge strane, nedostaju dokazi koji bi potvrdili navedenu pretpostavku. Za pacijente sa mutacijom u egzonu 9 KIT gena, preporučena je veća doza imatiniba (800 mg/dan) kao adjuvantna terapija.

## **1.9. PRAĆENJE**

Za pacijente sa tumorima visokog i intermedijarnog rizika preporučeno je postoperativno praćenje sa CT pregledom abdomena i male karlice na svaka 3-4 meseca tokom prve 3 godine nakon operacije, potom svakih 6 meseci do pete godine nakon operacije i nakon navedenog perioda jednom godišnje(6). Za pacijente sa tumorima niskog ili veoma niskog

malignog potencijala preporučuje se CT pregled na svakih 6 meseci tokom pet godina nakon operacije. Uloga PET u postoperativnom praćenju još uvek nije jasno definisana. Pre uvođenja adjuvantne terapije imatinibom, pojava metastaza je bila najčešća u jetri i peritoneumu u prve dve godine nakon operacije(15). Nova istraživanja ukazuju na to da je i u eri primene imatiniba kao adjuvantne terapije učestalost pojave recidiva najviša tokom prve dve godine nakon operacije (170).

## **2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

1. Prikazati osnovne demografske i patoanatomske karakteristike bolesnika operisanih zbog GIST-a želuca u ispitivanom periodu
2. Odrediti korelaciju između osnovnih patoloških determinanti GIST-a sa kliničkim tokom obolelih, odnosno korelaciju sa metastatskim statusom i ukupnim preživljavanjem
3. Odrediti incidence i tip mutacija u egzonima 9, 11, 13 i 17 KIT gena u GIST želuca u ispitivanoj grupi bolesnika
4. Odrediti incidence i tip mutacija u egzonima 12, 14, 16 i 18 PDGFRA gena u GIST želuca u ispitivanoj grupi bolesnika
5. Odrediti korelaciju između mutacionog statusa KIT i PDGFRA gena i stepena malignosti GIST prethodno utvrđenog na osnovu veličine tumora i mitotskog indeksa tumorskih ćelija, odnosno analizirati mutacioni status sa svim ostalim patološkim determinantama GIST-a
6. Utvrditi prediktivni značaj mutacionog statusa KIT i PDGFRA u kliničkom toku bolesti kod bolesnika operisanih zbog GIST-a želuca, odnosno u određivanju vremenskog intervala do pojave recidiva bolesti, te ukupnog preživljavanja u ovojgrupi bolesnika.



### **3. MATERIJAL I METODOLOGIJA**

#### **3.1. DIZAJN STUDIJE**

Dizajn studije je klinička kohortna prospektivna.

Studija je sprovedena u Centru za hirurgiju jednjaka, Klinike za digestivnu hirurgiju – Prve hirurške klinike i u službi za patohistologiju Klinike za digestivnu hirurgiju – Prve hirurške klinike, Kliničkog centra Srbije kao i u Institutu za humanu genetiku Medicinskog fakulteta u Beogradu i u Laboratoriji za genetičku i molekularnu dijagnostiku Klinike za neurologiju Kliničkog centra Srbije, u periodu od 2014. do 2016. godine.

Studija je obuhvatila 100 pacijenata operisanih od GIST želuca u Centru za hirurgiju jednjaka, Klinike za digestivnu hirurgiju KCS u periodu od marta 2005. do marta 2016. godine koji su bili u programu prospektivnog praćenja.

Kriterijumi za isključenje iz studije su bili: nepotpuni podaci u praćenju pacijenata, odstupanje od standardnog protokola praćenja, kao i nemogućnost dobijanja adekvatnog uzorka i sprovođenja adekvatne genetičke analize.

Za svakog bolesnika formiran je istraživački list koji obuhvata sledeće podatke: osnovni demografski podaci: ime i prezime bolesnika, starosna dob, pol, kontakt; podaci vezani za operativno lečenje: datum operacije, opseg resekcije, metod rekonstrukcije; patohistološki podaci: standardni patohistološki izveštaj i patohistološka dijagnoza nakon imunohistohemijske obrade, koja uključuje i određivanje CD 117, CD34, anti-SMA, anti-vimetin, anti S-100 i dezmin, uz određivanje rizika za metastaziranje (po Fletcher-u) i stepena malignog potencijala (po Miettinen-u); podaci o standardizovanom kliničkom praćenju operisanih bolesnika: kliničke kontrole na svakih 6 meseci tokom prve dve godine od operacije, a potom na godinu dana, nalazi kontrolne endoskopije na svakih godinu dana od operacije, nalaz kontrolnog CT pregleda abdomena na 6 meseci i potom na svakih godinu dana od operacije; u slučaju pojave metastaze ili recidiva bolesti: interval od operacije do pojave metastaze ili recidiva, lokalizacija metastaze ili recidiva, podaci o adjuvatnom tretmanu; u slučaju smrtnog ishoda: interval od datuma operacije do smrtnog ishoda.

Kompozitni događaj je definisan jedinstveni neželjeni događaj koji obuhvata pojavu smrtnog ishoda ili recidiva bolesti i metastaza tokom vremena praćenja.

Patohistološki kalupi i pločice bili su obrađeni i ispitani na prisustvo mutacija u KIT genu (egzoni 9, 11, 13 i 17), odnosno u PDGFRA genu (egzoni 12, 14, 16 i 18) u Institutu za humanu genetiku i laboratoriji za genetičku i molekularnu dijagnostiku Klinike za neurologiju. Po završenoj obradi načinjena korelacija mutacionog statusa KIT i PDGFRA sa:

Mitotskim statusom GIST-a želuca

Veličinom GIST-a želuca

Lokalizacijom GIST-a želuca

Intervalom između operacije i pojave recidiva bolesti („disease free“ intervalom)

Intervalom između operacije i smrtnog ishoda bolesnika („survival“ intervalom).

### **3.2. GENETIČKA ANALIZA**

Molekularno genetička analiza u genima KIT i PDGFRA učinjena je na materijalu parafinskih kalupa GIST. Nakon identifikacije tumorskog tkiva, uzorak iz parafinskog kalupa dimenzija 1x1cm korišćen je za izolaciju DNK. U prvom koraku obavljena je deparafinizacija, a potom fenol-hlorofomska ekstrakcija DNK iz tumorskog tkiva (organska metoda). Izolovana DNK korišćena je za analizu mutacija u odabranim egzonomima gena KIT i PDFGRA metodom direktnog sekvenciranja po Sangeru. Ovaj postupak podrazumeva najpre PCR amplifikaciju ciljanih regiona uz upotrebu specifičnih prajmera (aparati Verity Thermal Cycler, Life Technology, USA). Nakon pročišćavanja PCR produkata pristupilo se koraku PCR za sekvenciranje, uz korišćenje kita BigDye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing (Life Technology, USA). Analiza uzoraka primenom kapilarne elektroforeze učinjena je na aparatu ABI 3500 Genetic Analyzer, a za softversku obradu podataka korišćen je program Sequencher verzija 4.10.1. (10).

### 3.3. STATISTIČKA ANALIZA

Normalnost raspodele kontinuiranih numeričkih obeležja posmatranja testirana je Kolmogorov-Smirnovljevim testom i njihove vrednosti su izražene kao aritmetička sredina  $\pm$  standardna devijacija (SD) s obzirom da su sva testirana obeležja imala normalnu raspodelu. Značajnost razlike između dve nezavisne grupe kontinuiranih numeričkih varijabli je ispitivana Studentovim t testom, dok je značajnost razlike između četiri nezavisne grupe bolesnika ispitivana jednofaktorskom analizom varijanse (ANOVA). Za *post hoc* analizu korišćen je Tukeyev test.

Kategorijske varijable su prikazane apsolutnim bojem i procentom (%). Značajnost razlike između grupa je ispitivana  $\chi^2$  testom tj. Fišerovim testom tačne verovatnoće ukoliko nisu zadovoljene pretpostavke upotrebe  $\chi^2$  testa.

Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja je korišćena za prikaz pojave indeksnih događaja tokom vremena praćenja, a Log rank test za testiranje postojanja razlike između nezavisnih grupa tokom pomenutog perioda. Zavisni i nezavisni prediktori događaja tokom vremena praćenja određivani su upotrebom Cox-ove univarijatne i multivarijatne proporcionalne regresione analize. Varijable koje su u univarijatnoj analizi imale alfa grešku  $\leq 10\%$  testirane su u multivarijatnoj Cox-ovoj proporcionalnoj regresionoj analizi u kojoj je korišćen metod *forward stepwise* unosa podataka. Zadovoljenje pretpostavke proporcionalnosti Cox-ovog modela je dokazana upotrebom Schoenfeldt-ovih reziduala za svaku varijablu modela.

Nivo značajnosti za odbacivanje nulte hipoteze definisan je kao  $p < 0,05$ . Svi statistički proračuni rađeni su u softverskom paketu SPSS/PASW 18.0.

## **4. REZULTATI**

Rezultate bolesnika operisanih zbog GIST želuca u ovoj seriji podelili smo u tri segmenta. U početnom delu biće prikazani sve obuhvatni podaci za svih 100 bolesnika, potom biće posebno prikazani grupa od 45 bolesnika kod kojih su dobijeni kompletan genetski materijal i na kraju iz praktičnih razloga biće odvojena grupa od 46 bolesnik koji su u grupi visokog rizika po modifikovanoj NIH (National Institutes of Health) klasifikaciji.

### **4.1. KARAKTERISTIKE SVIH BOLESNIKA UKLJUČENI U STUDIJI**

U tabeli 8 prikazan je pregled kliničkih karakteristika 100 pacijenata operisanih zbog primarnog GIST želuca. Od ukupno 100 pacijenata, bilo je 51 žena i 49 muškaraca, starosti u rasponu od 23 do 84 godine (prosečna starost 60,39 godina). Pacijenti su podeljeni u 4 grupe prema modifikovanoj klasifikaciji procene rizika po NIH; u grupi vrlo niskog rizika je bio jedan bolesnik, u grupi niskog rizika bila su 25 pacijenta, u grupi umerenog rizika 28 pacijenata i u grupi visokog rizika 46 pacijent. Bez tegoba u trenutku postavljanja dijagnoze bilo je 5 pacijenata., od kojih je u 4 slučaja dijagnoza GIST postavljena incidentalno tokom dijagnostičkih procedura zbog drugih bolesti, dok je kod jednog pacijenta dijagnoza postavljena tokom holecistektomije. Kod ostalih 95 pacijenata klinička slika se prezentovala najčešće melenom kod 41 pacijenta, zatim bolovima u truhu kod 31 pacijenta, nadutost truhu bila je glavna tegoba kod 12 pacijenata, kod 4 pacijenta tumor se prezentovao kao palpabilna tumefakcija u truhu, kod 3 pacijenta hematemezom i kod 4 disfagijom. Većina tumora, 60 od ukupno 100, bila je lokalizovana u predelu korpusa želuca, 18 u predelu antruma, po 7 u predelu kardije i forniksa, 6 u subkardijalnoj regiji i 2 tumora u predelu korpusa patrljka želuca. Prosečna veličina tumora u celoj grupi pacijenata iznosila je 78,83 mm, u rasponu od 20 do 240 mm. U grupi GIST visokog rizika prosečna veličina tumora iznosila je 113,67 mm i zapažena je statistički značajna povezanost GIST visokog rizika sa većim dijametrom tumora. Intraoperativne metastaze zabeležene su u 9 slučajeva i to u jetri, što čini 9% svih pacijenata, odnosno 17,39% pacijenata sa tumorima visokog rizika; osam od navedenih devet bolesnika sa intraoperativno viđenim metastazama spadali su u grupu visokog rizika, pri čemu je zapažena statistički značajna

povezanost tumora visokog rizika sa postojanjem intraoperativnih metastaza. Osim toga, uočena je i statistički značajna povezanost između mitotskog indeksa i rizika tumora po modifikovanoj NIH ( National Institutes of Health) klasifikaciji.

Tabela 8: Karakteristike pacijenata operisanih zbog GIST želuca (n=100).

	Ukupno (n=100)	Vrlo nizak rizik (n=1)	Nizak rizik (n=25)	Intermedijarni rizik (n=28)	Visok rizik (n=46)	P
Žene, n (%)	49 (49,0%)	0 (0,0%)	13 (52,0%)	14 (50,0%)	22 (47,8%)	0,780
Muškarci, n (%)	51 (51,0%)	1 (100,0%)	12 (48,0%)	14 (50,0%)	24 (52,2%)	
Starost, godine ± SD	61±12,5	64±0	64±11,0	59±53,7	60±12,5	0,522
Tegobe, n (%)						0,850
Asimptomatski	5 (5,0%)	0 (0%)	3 (12,00%)	2 (7,1%)	0 (0,0%)	
Simptomatski	95 (95,0%)	1 (100,0%)	22 (88,0%)	26 (92,8%)	46 (100,0%)	
Melena	41 (41,0%)	1 (100,0%)	9 (36,0,0%)	13 (46,4%)	18 (39,2%)	
Bol u trbuhu	31 (31,0%)	0 (0%)	9 (36,0%)	8 (28,6%)	14 (30,4%)	
Nadutost	12 (12,0%)	0 (0%)	3 (12,0%)	3 (10,6%)	6 (13,0%)	
Palpabilan tumor	4 (4,0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0,0%)	4 (8,8%)	
Hematemeza	3 (3,0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3,6%)	4 (8,8%)	
Disfagija	4 (4,0%)	0 (0%)	1 (4,0%)	1 (3,6%)	2 (4,3%)	
Disfagija	4 (4,0%)	0 (0%)	1 (4,0%)	1 (3,6%)	2 (4,3%)	
Lokalizacija tumora, n (%)						0,172
Kardija	7 (7,0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3,8%)	6 (13,0%)	
Subkardijalna regija	6 (6,0%)	0 (0%)	1 (4,0%)	0 (0%)	5 (10,9%)	
Forniks	7 (7,0%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (14,2%)	3 (5,5%)	
Korpus	60 (60,%)	0 (0%)	17 (68,0%)	18 (64,3%)	25 (52,3%)	
Antrum	18 (18,0%)	1 (100,0%)	6 (24,0%)	4 (14,3%)	7 (15,3%)	
Korpus patrljka	2 (2,0%)	0 (0%)	1 (4,0%)	1 (3,7%)	0 (0,0%)	
Veličina tumora (cm)	7,9±5,1	2	3,9±0,8*	5,8±1,2§	11,4±5,4**§	<0,001
Intraoperativna metastaza	9 (9%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3,7%)	8 (17,4%)	0,007
Rezidualni status						1,000
R0	99 (99%)	1 (100,0%)	25 (100,0%)	28 (100,0%)	45 (100,0%)	
R1	1 (1%)	0	0	0	0	
Mitotski indeks						<0,001
≤5/50 HPF	56 (56%)	1 (100,0%)	25 (100,0%)	23 (82,1%)	7 (15,2%)	
>5/50 HPF	44 (44%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (17,9%)	39 (84,6%)	

\*p<0,001, §p<0,001

U odnosu na stepen rizika po NIH klasifikaciji bilo je značajne razlike u veličini tumora (p<0,001). Najveći dijametar tumora je bio u grupi bolesnika sa visokim rizikom po NIH (11,4±5,4cm), dok najmanji dijametar tumora u grupi vrlo niskog rizika (tab.8). Dodatnom analizom utvrđena je statistički značajna razlika u veličini tumora između grupe bolesnika sa visokim rizikom u poređenju sa bolesnicima sa niskim i intermedijarnim rizikom.

Najveći procenat intraoperativnih metastaza je registrovan u grupi bolesnika sa visokim rizikom (17,4%), u grupi bolesnika sa intermedijarnim rizikom jedan bolesnik (3,6%) imao intraoperativnu metastazu, dok one nisu registrovane u grupi bolesnika sa vrlo niskim i niskim rizikom, što predstavlja statistički značajnu razliku (p<0,001).

#### 4.1.1. OPERATIVNE POROCEDURE

Svi pacijenti su primarno hirurški lečeni. Učinjene su sledeće operacije: 57 wedge resekcija, 3 Billroth I, 3 Billroth II resekcije, 2 mediogastrične resekcije, 9 subtotalnih gastrektomija, 17 totalnih gastrektomija, 3 distalne ezofagektomije i totalne gastrektomije, 5 Merendino procedura i 1 Garlock-Sweet operacija. Od 100 pacijenata, kod 99 postignuta je R0 resekciona margina, dok je kod jednog pacijenta rezidualni status bio R1 i navedeni pacijent je spadao u grupu visokog rizika.

Tabela 9: Tip operacije (n=100).

Operacija	Ukupno (n=100)	Vrlo nizak rizik (n=1)	Nizak rizik (n=25)	Intermedijarni rizik (n=28)	Visok rizik (n=46)
“Wedge resekcija”,n (%)	57 (57.0%)	1 (100.0%)	21 (84.0%)	23 (82.1%)	12 (26.1%)
Billroth I resekcija, n (%)	3 (3.0%)	0 (0.0%)	1 (4.0%)	1 (3.6%)	1 (2.2%)
Billroth II resekcija, n (%)	3 (3.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	3 (6.5%)
Mediogastrična resekcija, n (%)	2 (2.0%)	0 (0.0%)	1 (4.0%)	0 (0.0%)	1 (2.2%)
Subtotalna gastrektomija, n (%)	9 (9.0%)	0 (0.0%)	1 (4.0%)	2 (7.1%)	6 (13.0%)
Totalna gastrektomija, n (%)	17 (17.0%)	0 (0.0%)	1 (4.0%)	1 (3.6%)	15 (32.6%)
Distalna ezofagektomija i totalna gastrektomija, n (%)	3 (3.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	3 (6.5%)
Merendino, n (%)	5 (5.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (3.6%)	4 (8.7%)
Garlock – Sweet, n (%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (2.2%)

#### **4.1.2. PATOHISTOLOŠKA ANALIZA**

Patohistološke karakteristike tumora prikazane su u tabeli 10. Prosečna veličina tumora iznosila je 78,83 mm, sa vrednostima od 20 do 240 mm. Mitotski indeks  $\leq 5/50$  HPF imalo je 56 tumora, dok je 44 tumora imalo vrednost  $>5/50$  HPF, pri čemu je evidentirana i statistički značajna povezanost između vrednosti mitotskog indeksa i procenjenog rizika tumora po NIH klasifikaciji. Makroskopski, 81 tumora bila su nodoznog tipa, 10 pseudocističnog, 4 zvonastog, 3 polipoidnog, dok su u 2 slučaja tumori bili makroskopski multipli. Morfološki 78 tumora spadalo je u tumore vretenastog tipa, 16 mešovito i 6 epiteloidnog tipa. Većina tumora bila je umerene do visoke celularnosti i niske celularne anaplazije.



Tabela 10: Patohistološke karakteristike GIST želuca (n=100).

	Ukupno (n=100)
Veličina tumora (mm) Srednja vrednost $\pm$ SD Medijana Raspon (min-maks)	78.83 $\pm$ 51.20 60 20-240
Veličina tumora (grupisano), n (%)	
$\leq$ 2 cm	1 (1.0%)
$>2\leq 5$ cm	31 (31.0%)
$>5\leq 10$ cm	46 (46.0%)
$>10$ cm	22 (22.0%)
Mitotski indeks , n (%)	
$\leq 5/50$ HPF	56 (56.0%)
$>5/50$ HPF	44 (44.0%)
Tumorska nekroza, n (%)	
Nema	69 (69.0%)
Fokalna	29 (29.0%)
Raširena	2 (2.0%)
Celularna anaplazija, n (%)	
Niska	97 (97.0%)
Visoka	3 (3.0%)
Celularnosti, n (%)	
Niska	6 (6.0%)
Umerena	55 (55.0%)
Visoka	39 (39.0%)
Citološki tip, n (%)	
Vretenasti	78 (78.0%)
Epiteloidni	6 (6.0%)
Mešoviti	16 (16.0%)
Makroskopski tip, n (%)	
Nodozni	81 (81.0%)
Multipli	2 (2.0%)
Zvonasti	4 (4.0%)
Polipoidni	3 (3.0%)
Pseudocistični	10 (10.0%)
Modifikovana NIH klasifikacija, n (%)	
Vrlo nizak	1 (1.0%)
Nizak	25 (25.0%)
Intermedijarni	28 (28.0%)
Visok	46 (46.0%)

#### 4.1.3. IMUNOHISTOHEMIJSKA ANALIZA

Imunohistoheмиjske karakteristike tumora prikazane su u tabeli 11. Većina tumora pokazivala je imunopozitivnost na CD 117, CD 34 i vimentin, dok je mali broj tumora bio pozitivan na SMA i S 100.

Tabela 11. Imunohistoheмиjske karakteristike GIST želuca (n = 100)

	Ukupno (n=100)
CD 117	
Pozitivan 91	91 (91.0%)
Negativan 9	9 (9.0%)
CD 34	
Pozitivan 89	89 (89.0%)
Negativan 11	11 (11.0%)
Smooth muscle actin (SMA)	
Pozitivan 31	31 (31.0%)
Negativan 69	69 (69.0%)
Vimentin	
Pozitivan 84	84 (84.0%)
Negativan 16	16 (16.0%)
S 100	
Pozitivan 8	8 (8.0%)
Negativan 92	92 (92.0%)

Tabela 12. Cox-ova univariatna regresiona analiza prediktora kompozitnog događja bolesnika operisanih zbog GIST želuca

	<b>B</b>	<b>p</b>	<b>HR (CI 95%)</b>
Muški pol	-0,232	0,585	0,793 (0,345-1,824)
Godine starosti	-0,004	0,780	0,996 (0,965-1,027)
Visok NIH rizik	2,312	<0,001	10,094 (3,003-33,928)
Veličina tumora, cm			1
≤5			
6-10	0,289	0,637	1,335 (0,402-4,437)
>10	0,431	0,462	1,539 (0,488-4,849)
Mitotski indeks / 50 HPF			1
≤5			
>5	2,334	<0,001	10,315 (3,071-34,649)
Nekroza tumora	1,722	<0,001	5,596 (2,833-11,054)
Visoka celularna anaplazija	2,153	0,005	8,607 (1,916-38,674)
Visok Miettinen skor rizika	2,423	<0,001	11,248 (3,825-33,248)
Celularnost epiteloidna			1
mešovita	-0,397	0,703	0,673 (0,087-5,175)
vretenast	-0,411	0,724	0,663 (0,068-6,463)
Mutacija gena			1
wt KIT/PDGFRA			
KIT	-0,347	0,659	0,707 (0,151-3,030)
PDGFRA	-13,575	0,979	0,011 (0,001-14,874)
Tip mutacije (KIT/PDGFRA)			1
wt KIT/PDGFRA			
KIT point/insertion	-1,903	0,122	0,149 (0,013-1,666)
KIT delecija	0,229	0,777	1,257 (0,259-6,091)
PDGFRA	-13,769	0,981	0,001 (0,001-12,005)

Univariatnom Coxovim regresionim analizom je pokazano da su prediktori kompozitnog događja, koji podrazumeva pojavu smrtnog ishoda ili recidiva bolesti tokom vremena praćenje bolesnika nakon operacije GIST želuca, visok rizik po modifikovanoj NIH klasifikaciji, mitotski indeks veći od 5, nekroza tumora, visok Miettinen skor rizika i visoka celularna anaplazija (tabela 12).

Tabela 13. Multivarijatna Cox-ova regresiona analiza prediktora kompozitnog događja bolesnika operisanih zbog GIST želuca

	<b>B</b>	<b>p</b>	<b>HR (CI 95%)</b>
Visok NIH rizik	-	0,403	-
Visoka celularna anaplazija	2,552	0,002	12,834 (2,554-64,490)
Mitotski indeks/ 50 HPF			1
≤5			
>5	1,941	0,002	6,963 (2,026-23,931)
Nekroza tumora	1,524	<0,001	4,592 (2,209-9,545)
Visok Miettinen skor rizika	-	0,398	-

Nezavisni prediktori kompozitnog događja tokom vremena praćenja bolesnika nakon operacije GIST želuca su visoka celularna anaplazija, mitotski indeks veći od 5/50HPF i nekroza tumora (tabela13). Bolesnici koji imaju tumor sa visokom celularnom anaplazijom imaju skoro 13 puta veću verovatnoću pojave smrtnog ishoda ili recidiva bolesti. Takođe, bolesnici koji imaju mitotski indeks veći od 5/50 HPF imaju skoro 7 puta veću verovatnoću pojave kompozitnog događaja, dok je ta verovatnoća 4,6 puta veća kod bolesnika kod kojih registrovana nekroza tumora (tablea 13).

Tabela 14. Cox-ova univariatna regresiona analiza prediktora kompozitnog događaja bolesnika operisanih zbog GIST želuca koji nisu lečeni imatinibom

	<b>B</b>	<b>p</b>	<b>HR (CI 95%)</b>
Muški pol	0,003	0,996	1,003 (0,290-3,473)
Godine starosti	0,009	0,750	1,009 (0,954-1,068)
Visok NIH rizik	2,872	0,080	151,889 (0,545-423005)
Veličina tumora, cm			1
≤5			
6-10	-0,539	0,423	0,583 (0,156-2,181)
>10	-1,137	0,300	0,321 (0,037-2,748)
Mitotski indeks / 50 HPF			1
≤5			
>5	2,948	0,005	19,065 (2,412-150,713)
Nekroza tumora	1,789	<0,001	6,611 (2,831-15,439)
Visoka celularna anaplazija	2,507	0,002	12,272 (2,519-59,791)
Visok Miettinen skor rizika	3,355	0,001	28,659 (3,620-226,880)
Citološki tip			1
epiteloidni			
mešoviti	-0,444	0,718	0,641 (0,058-7,116)
vretenast	-0,697	0,520	0,498 (0,060-4,162)
Mutacija gena			1
wt KIT/PDGFR			
KIT	-0,347	0,659	0,707 (0,151-3,030)
PDGFRA	-13,575	0,979	0,011 (0,001-14,874)
Tip mutacije (KIT/PDGFR)			1
PDGFRA			
KIT point/insertion	-0,001	0,999	0,999 (0,011-141,766)
KIT delecija	0,229	0,453	85,339 (0,012-896,886)

U grupi bolesnika koji nisu lečeni imatinibom univariantnom Coxovim regresionim analizom je pokazano da su visok Miettinen skor rizika, mitotski indeks veći od 5/50 HPF, visoka celularna anaplazija i nekroza tumora prediktori kompozitnog događaja tokom vremena praćenja nakon hirurške intervencije (tabela.14).

Tabela 15. Multivarijatna Cox-ova regresiona analiza prediktora kompozitnog događaja bolesnika operisanih zbog GIST želuca koji nisu lečeni imatinibom

	<b>B</b>	<b>p</b>	<b>HR (CI 95%)</b>
Nekroza tumora	1,786	<0,001	5,965 (2,236-15,910)
Mitotski indeks			1
≤5			
>5	2,308	0,032	10,054 (1,222-82,732)
Visok Miettinen skor rizika	-	0,551	-
Visoka celularna anaplazija	3,166	0,001	23,704 (3,395-165-512)

U grupi bolesnika sa GIST želuca koji nisu lečeni imatinibom nakon operacije nezavisni predictor smrtnog ishoda ili recidiva bolesti su visoka celularna anaplazija, mitotski indeks veći od 5/50HPF i nekroza tumora (tabela 15). Ukoliko je u pomenutoj grupi bolesnika prisutna visoka celularna anaplazija verovatnoća pojave kompozitnog događaja je 24 puta veća u odnosu na bolesnike koji nemaju visoku celularnu anaplaziju. Bolesnici sa tumorima koji imaju mitotski indeks veća od 5/50 HPF imaju 10 puta veću verovatnoća pojave neželjenog kompozitnog događaja, a verovatnoća recidiva i smrtnog ishoda je oko 6 puta veća kod bolesnika sa pojavom nekroze tumora.

Tabela 16. Cox-ova univariatna regresiona analiza prediktora kompozitnog događaja bolesnika operisanih zbog GIST želuca koji su lečeni imatinibom

	<b>B</b>	<b>p</b>	<b>HR (CI 95%)</b>
Muški pol	0,376	0,543	1,456 (0,434-4,885)
Godine starosti	0,020	0,250	1,021 (0,986-1,057)
Visok NIH	0,835	0,287	2,306 (0,496-10,720)
Veličina tumora, cm			1
≤5			
6-10	-1,051	0,157	0,350 (0,082-1,499)
>10	-0,960	0,305	2,612 (0,417-16,393)
Mitotski indeks			1
≤5			
>5	1,576	0,136	4,835 (0,610-38,350)
Nekroza tumora	1,623	0,023	5,070 (1,247-20,247)
Visok Miettinen skor rizika	1,452	0,070	4,270 (0,887-20,593)
Citološki tip			1
vretenast	-	-	
mešoviti	-0,607	0,568	0,545 (0,068-4,373)
Mutacija gena		1	
wt KIT/PDGfra	1,324		
KIT	-10,165	0,248	3,757 (0,398-35,501)
PDGFRA		0,990	0,008 (0,001-114,87)
Tip mutacije (KIT/PDGfra)			1
Wild tip	-	-	
PDGFRA	0,902	0,999	2,466 (0,001-187,99)
KIT point/insertion	13,904	0,954	1092 (0,011-941,766)
KIT delecija	1,208	0,303	3,348 (0,336-33,362)

Cox-ovim univarijantnom regresionom analizom je pokazano da je nekroza tumora jedini predictor kompozitnog događaja tokom vremena praćenje kod bolesnika operisanih zbog GIST želuca i potom lečenih imatinibom. Kod ovih bolesnika je pet puta veća verovatnoća pojave smrtnog ishoda ili recidiva bolesti ukoliko je prisutna nekroza tumora (tabela 16).

## 4.2. REZULTATI BOLESNIKA SA GENETSKOM ANALIZOM

U cilju dobijanje adekvatnih podataka o genetskoj mutaciji u našoj seriji od 100 bolesnika isključeni su 55 bolesnika kod kojih iz tehničkih razloga nije uspelo da se dobije DNK dobrog kvaliteta i adekvatan genetski materijal. Molekularno-genetička analiza u genima KIT i PDGFRA učinjena je na materijalu parafinskih kalupa GIST, a pojednostavljeni rezultati genetičke analize prikazani su u tabeli 17.

Mi smo posebno odvojeli grupu od 45 bolesnika kod kojih smo dobili mutacioni status gde su 37 (82%) bolesnika sa KIT mutacijama, 6 (14%) bolesnika sa PDGFRA mutacije i 2 (4%) bolesnika svrstani u "wild type". U grupi sa KIT mutacijama, KIT egzon 9 mutacije su bili prisutni kod 5 (10%) bolesnika od kojih jedan imao KIT egzon 9 insercija, on pripada grupi visokog rizika ali bez pojave metastaze i lokalnog recidiva u period praćenja. Dva bolesnika su sa KIT egzon 9 delecija, jedan od njih iz intermedijarnoj grupi, drugi iz grupe visokog rizika i oba bolesnika su živi bez pojave recidiva i metastaze. Dva bolesnika su sa KIT egzon 9 tačkasta mutacija, jedan iz grupe intermedijarnog i drugi iz grupe visokog rizika i oba bolesnika su živi bez metastaze i recidiva.

KIT egzon 11 mutacije je zabeležno kod 32 (72%) bolesnika, medju njima 18 (39%) bolesnika sa delecijom, 8 (17%) sa tačkastom mutacijom, 3 (8%) sa insercijom i 3 (8%) sa insercije-delecije.

U grupi od 18 bolesnika sa KIT egzon 11 delecije kojih je po učestalosti bilo i najviše, njih 4 su imali GIST niskog rizika, 2 GIST intermedijarnog rizika i 12 su imali GIST visokog rizika. Od ovih 18 bolesnika, 10 bolesnika nije imao pojavu recidiva ili metastaze tokom perioda praćenja. Jedan bolesnika je razvio lokalni recidiv i 7 bolesnika su imali pojavu metastaze u periodu praćenja i od njih 4 bolesnika su primali Imatinib i imaju regresiju bolesti i živi su, jedan bolesnik nije primao Imatinib i živ je, međutim ostalih 3 bolesnika koji nisu primali Imatinib su egzistirali.

Druga egzon mutacija po učestalosti u našoj seriji je bila KIT egzon 11 tačkasta mutacija i to kod 8 bolesnika od kojih 2 bolesnika su bili u grupi niskog rizika i 3 bolesnika u grupi intermedijarnog i 3 bolesnika u grupi visokog rizika. Ni jedan bolesnik nije razvio lokalni recidiv ili metastaza i od njih 7 bolesnika su živi i jedan je egzistirao zbog uzroka nevezano za GIST.



Tri bolesnika su imali KIT egzon 11 insercija od kojih 1 je bio u grupi intermedijarnog rizika i 2 u grupi visokog rizika od kojih 1 razvio metastazu u jetri, primao je Imatinib i zbog progresije bolesti egzistirao.

Tri bolesnika su imali KIT egzon 11 insercija-delecija, medju njim jedan bolesnik je iz intermedijarnoj grupi i dva su iz grupe visokog rizika, od kojih 1 razvio metastazu, nije primao Imatinib i egzistirao, drugi bolesnik razvio lokalni recidiv godinu dana nakon operacije, bolesnik je operisan i uveden mu je Imatinib, živ je 27 meseci nakon primarne operacije i sada je bez znakova bolesti.

PDGFRA mutacije je vidjeno kod 6 (14%) bolesnika. Jedan (2%) bolesnik imao PDGFRA egzon 12 delecija, ovaj bolesnik pripada intermedijarnoj grupi, jedan (2%) bolesnik je imao PDGFRA egzon 16 tačkasta mutacija i pripada grupi niskog rizika i živi je bez recidiva i metastaze. 4 (10%) bolesnika su sa PDGFRA egzon 18 tačkaste mutacije od kojih 1 je u grupi niskog rizika, jedan u grupi intermedijarnog rizika i oba bolesnika su živi bez metastaze i recidiva. Dva bolesnika su u grupi visokog rizika od koji jedan je razvio lokalni recidiv godinu dana nakon operacije, bolesnik je operisan i uveden mu je Imatinib, živ je 41 meseci nakon primarne operacije i sada je bez znakova bolesti.

Dva (4%) bolesnika koji su svrstani u grupi „wild typ“ , jedan je iz grupe niskog rizika , drugi iz grupe intermedijarnog rizika, oba bolesnika su razvili metastazu i primaju Imatinib i imaju regresiju bolesti i živi su.

Tabela 17. Distribucija KIT i PDGFRA mutacija u GIST želuca (n = 45).

Tip mutacije	Ukupno (n=45)
<b>KIT mutacija 37 (82.0%)</b>	
Egzon 9	
Insercija	1 (2.2%)
Delecija	2 (4.5%)
Tačkasta mutacija	2 (4.5%)
Egzon 11	
Insercija	3 (6.6%)
Delecija	18 (40.0%)
Insercija – delecija	3 (6.6%)
Tačkasta mutacija	8 (17.8%)
<b>PDGFRA mutacija 6 (14.0%)</b>	
Egzon 12	
Delecija	1 (2.2%)
Egzon 16	
Delecija	1 (2.2%)
Egzon 18	
Tačkasta mutacija	4 (8.9%)
<b>“Wilde –type” 2 (4.0%)</b>	2 (4.5%)

Tabela 18: Tipovi mutacija i stepen rizika po modifikovanoj NIH klasifikaciji

Tip mutacije	n (%)	Egzon mutacija	n (%)	Nizak rizik	Intermedijarni rizik	Visok rizik
	45(100%)		45(100.0%)	9 (20.0%)	13(29.0%)	23(51.0%)
<b>KIT mutacija</b>	37 (82.0%)	Egzon 9	5 (11.1%)	0 (0.0%)	2 (15.4%)	3 (13.0%)
		Egzon 11	32 (71.2%)	6 (14.0%)	8 (61.5%)	18 (78.3%)
<b>PDGFRA mutacija</b>	6 (14.0%)	Egzon 12	1 (2.2%)	0 (0.0%)	1 (7.7%)	0 (0.0%)
		Egzon 16	1 (2.2%)	1 (2.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
		Egzon 18	4 (8.9%)	1 (2.0%)	1 (7.7%)	2 (8.7%)
<b>Wild typ</b>	2 (4.0%)		2 (4.4%)	1 (2.0%)	1 (7.7%)	0 (0.0%)

U tabeli 18 prikazana je korelacija između tipova mutacije i stepena rizika po modifikovanoj NIH klasifikaciji. Konstatovano je da u grupi bolesnika sa KIT egzon 11 mutacije veći procenat su u visoko rizičnoj grupi te da među bolesnicima koji imaju GIST visokog rizika veći broj imaju KIT egzon 11 mutacije.

Ovo je još jedan dokaz o prognostičkom značaj određivanje genetske mutacije GIST.

Tabela 19: Tipovi mutacija i pojave recidiva i metastaze

Tip mutacije	n (%)	Egzon mutacija	n (%)	Bez recidiva	Recidiv ili metastaza
	45 (100%)		45 (100%)		
<b>KIT mutacija</b>	37 (82.0%)	Egzon 9	5 (11.1%)	5 (16.1%)	0 (0.0%)
		Egzon 11	32 (71.2%)	21 (67.7%)	11 (78.6%)
<b>PDGFRA mutacija</b>	6 (14.0%)	Egzon 12	1 (2.2%)	1 (3.2%)	0 (0.0%)
		Egzon 16	1 (2.2%)	1 (3.2%)	0 (0.0%)
		Egzon 18	4 (8.9%)	3 (9.8%)	1 (7.1%)
<b>Wild typ</b>	2 (4.0%)		2 (4.4%)	0 (0.0%)	2 (14.3%)

U tabeli 19 prikazana je korelacija između tipova mutacije i pojave recidiva ili metastaze i potvrđena je da od 32 tumora sa KIT egzon 11 mutacije njih 11 daju metastaze ili lokalni recidiv odnosno 78% tumora koji su dali lokalni recidiv ili metastaze pripadaju grupi sa KIT egzon 11 mutacijom. Ovo ukazuje na prognostički značaj određivanje genetske mutacije GIST.

Tabela 20: Tipovi mutacija i preživljavanje

Tip mutacije	n (%)	Egzon mutacija	n (%)	ANED	AWD	DOD	DUC
	45 (100%)		45 (100.0%)	31 (68.9%)	5 (11.1%)	8 (17.8%)	1 (2.2%)
<b>KIT mutacija</b>	37 (82.0%)	Egzon 9	5 (11.1%)	5 (16.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
		Egzon 11	32 (71.2%)	20 (64.5%)	3 (60.0%)	8 (100.0%)	1 (100.0%)
<b>PDGFRA mutacija</b>	6 (14.0%)	Egzon 12	1 (2.2%)	1 (3.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
		Egzon 16	1 (2.2%)	1 (3.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
		Egzon 18	4 (8.9%)	4 (12.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
<b>Wild typ</b>	2 (4.0%)		2 (4.4%)	0 (0.0%)	2 (40.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

ANED: Alive No Evidence of Disease (Živ i nema znakova bolesti) AWD: Alive With Disease (Živ sa bolešću)  
DOD: Died Of Disease (Umro od osnovne bolesti) DUC: Died of Unrelated Causes (Umro od nepovezanih uzroka)

U tabeli 20 prikazana je korelacija između tipova mutacije i preživljavanje. Konstatovano je da 8 bolesnika koji su egzistirali zbog progresije bolesti svi su bili u grupi sa KIT egzom 11 mutacije. Ovo je još jedan dokaz o prognostičkom značaj određivanje genetske mutacije GIST.

Tabela 21: Tipovi mutacija i efekat imatiniba

Tip mutacije	n (%)	Egzon mutacija	n (%)	Progresija	Regresija	ANED	AWD	DOD
<b>KIT mutacija</b>	6 (67.0%)	Egzon 11ins	1 (11.1%)	1(100.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1(100.0%)
		Egzon 11del	4 (44.5%)	0 (0.0%)	4 (50.0%)	0 (0.0%)	4(57.1%)	0 (0.0%)
		Egzon 11del-ins	1 (11.1%)	0 (0.0%)	1 (12.5%)	1(100.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
<b>PDGFRA mutacija</b>	1 (11.0%)	Egzon18 tač.mut	1 (11.1%)	0 (0.0%)	1(12.5%)	0 (0.0%)	1 (14.3%)	0 (0.0%)
<b>Wild typ</b>	2 (22.0%)		2 (22.2%)	0 (0.0%)	2(25.0%)	0 (0.0%)	2 (28.6%)	0 (0.0%)

ANED: Alive No Evidence of Disease (Živ i nema znakova bolesti)

AWD: Alive With Disease ( Živ sa bolešću)

DOD: Died Of Disease ( Umro od osnovne bolesti)

ins: insercija del: delecija del-ins: delecija—insercija tač.mu: tačkasta mutacija

U tabeli 21 prikazana je korelacija između tipova mutacije i primene imatiniba. U grupi od 9 bolesnika koji su primali imatinib zbog pojave metastaze i recidiva, jedan bolesnik je imao progresije bolesti tokom primene imatiniba i egzistirao. Ostalih osam bolesnika su imali regresije bolesti među njima najviše sa egzon 11 delecije.

Tokom sprovođenja statističke analize, ispitano je postojanje korelacije između određenih patoloških karakteristika tumora i tipova genetske mutacije (tabela 22). Pokazano je da postoji statistički značajna povezanost između vrednosti mitotskog indeksa i tipova mutacije u KIT genu ( $p=0,021$ ), dok u ostalim slučajevima nije dokazano postojanje statistički značajne povezanosti između ispitivanih varijabli.

Tabela 22. Korelacija između patoloških karakteristika tumora i tipova mutacije (n=45).

	KIT mutacijen (%)	PDGFRA mutacijen (%)	Wild typen (%)	P	KIT egzon 9 mutacije n (%)			KIT egzon 11 mutacije n (%)					PDGFRA mutacije n (%)				
					Ins*	Del*	TM*	Ins*	Del*	Ins-del*	TM*	p	Egzon 12 Del*	Egzon 16 TM*	Egzon 18 TM*	P	
<b>Citološki tip</b>																	
Vretenasti	30 (81,1)	4 (66,7)	2 (100,0)	0.685	1 (100,0)	0 (0,0)	2 (100,0)	3 (100,0)	15 (83,3)	2 (66,7)	7(87,5)	0.550	1 (100,0)	0 (0,0)	3 (75,0)	0.400	
Epiteloidni	2 (5,4)	1 (16,7)	0 (0,0)		0 (0,0)	1 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (5,6)	0 (0,0)	1(12,5)		0 (0,0)	0 (0,0)	1 (25,0)		
Mešo viti	5 (13,5)	1 (16,7)	0 (0,0)		0 (0,0)	1 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (11,1)	1 (33,3)	0 (0,0)		0 (0,0)	1 (100,0)	0 (0,0)		
<b>Mitotski indeks</b>																	
≤5/50 HPF	18 (48,6)	4 (66,7)	2 (100,0)	0.495	0 (0,0)	0 (0,0)	2(100,0)	2 (66,7)	6 (33,3)	1 (33,3)	7(87,5)	0.021	1 (100,0)	1 (100,0)	2 (50,0)	1.000	
>5/50 HPF	19 (51,4)	2 (33,3)	0 (0,0)		1 (100,0)	2(100,0)	0 (0,0)	1 (33)	12 (66,7)	2 (66,7)	1(12,5)		0 (0,0)	0 (0,0)	2 (50,0)		
<b>Tumorska nekroza</b>																	
Nema	24 (64,9)	5 (83,3)	2 (100,0)	0.879	1 (100,0)	1 (50,0)	2 (100,0)	1 (33,3)	11 (61,1)	1 (33,3)	7(87,5)	0.613	1 (100,0)	1 (100,0)	3 (75,0)	1.000	
Fokalna	11 (29,7)	1 (16,7)	0 (0,0)		0 (0,0)	1 (50,0)	0 (0,0)	2 (66,7)	5 (27,8)	2 (66,7)	1(12,5)		0 (0,0)	0 (0,0)	1 (25,0)		
Raširena	2 (5,4)	0 (0,0)	0 (0,0)		0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (11,1)	0 (0,0)	0 (0,0)		0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)		
<b>Celularna anaplazija</b>																	
Niska	36 (97,3)	6 (100,0)	2 (100,0)	1.000	1 (100,0)	2(100,0)	2 (100,0)	3 (100,0)	17 (94,4)	3 (100,0)	8(100)	1.000	1 (100,0)	1 (100,0)	4 (100,0)	X	
Visoka	1 (2,7)	0 (0,0)	0 (0,0)		0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (5,6)	0 (0,0)	0 (0,0)		0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)		
<b>Mod.NIH</b>																	
Vrlo nizak	8 (21,6)	2 (33,3)	1 (50,0)	0.627	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (33,3)	4 (22,2)	0 (0,0)	4(50,0)	0.145	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (25,0)	1.000	
Nizak	7 (18,9)	2 (33,3)	1 (50,0)		0 (0,0)	0 (0,0)	1 (50,0)	1 (33,3)	2 (11,1)	1 (33,3)	2(25,0)		1 (100,0)	0 (0,0)	1 (25,0)		
Umeren	6 (16,2)	0 (0,0)	0 (0,0)		0 (0,0)	1 (50,0)	1 (50,0)	1 (33,3)	1 (5,6)	1 (33,3)	1(12,5)		0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)		
Visok	16 (43,2)	2 (33,3)	0 (0,0)		1 (100,0)	1 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	11 (61,1)	1 (33,3)	1(12,5)		0 (0,0)	0 (0,0)	2 (50,0)		

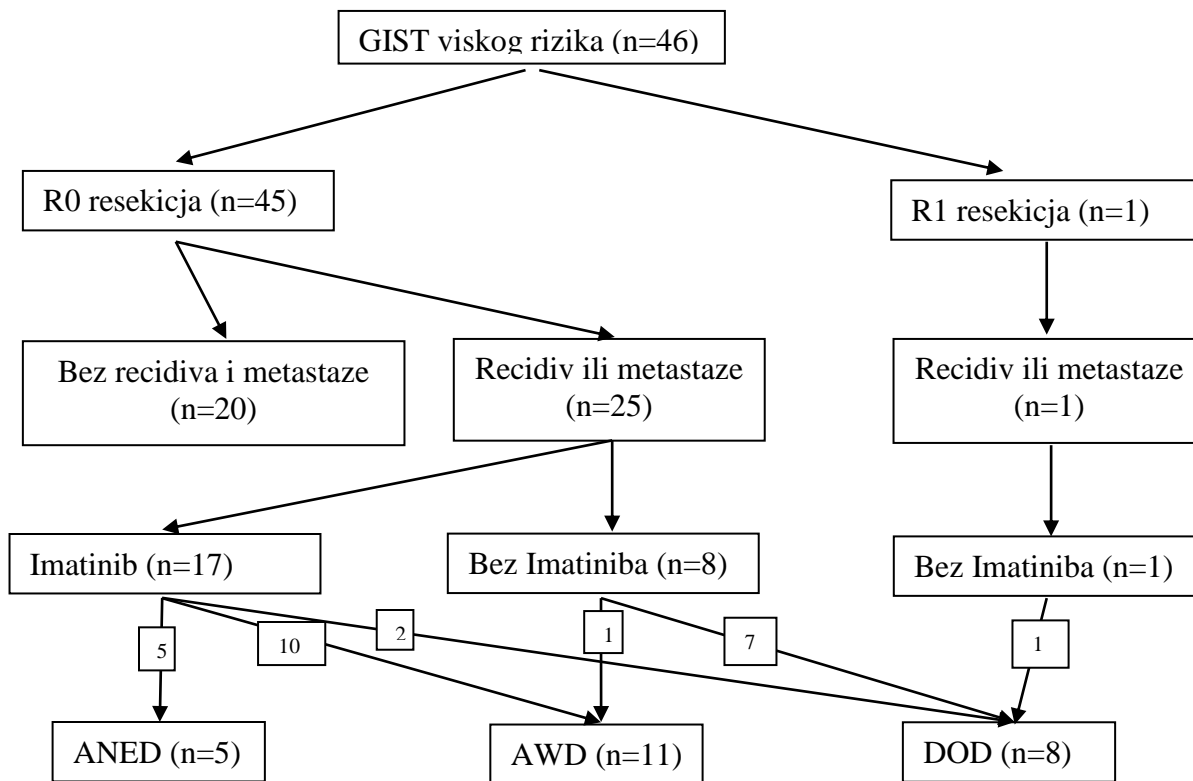
### **4.3. REZULTATI BOLESNIKA SA TUMORIMA VISOKOG RIZIKA**

Kao posebna grupa u našoj studiji odvojili smo grupa bolesnika sa GIST visokog rizika kako bi ukazali na posebnosti koja ova grupa poseduje u smislu stepena agresivnosti tumora, procenat pojave recidiva i metastaze i znatno lošiji preživljavanje te potrebe za uvođenje Imatiniba u terapiji ovih bolesnika.

Slika 10 je prikaz klinički ishod pacijenata sa tumorima visokog rizika. Od ukupno 46 pacijenata u ovoj grupi, kod 45 pacijenata postignuta je R0 resekcija, dok je kod jednog postignuta R1 resekcija. Od 45 pacijenata sa R0 resekcijom, 20 pacijenata je imalo neupadljiv postoperativni tok, dok je kod 25 pacijenata došlo do pojave metastaza, odnosno, recidiva. Terapija imatinibom sprovedena je kod 17 pacijenata, od kojih su na kraju perioda praćenja 15 bolesnika su živi ( 10 pacijenata živi sa bolešću, 5 pacijenta su živi i bez znakova bolesti) dok su 2 pacijenta egzistirali u uznapredovaloj fazi bolesti. Kod 8 pacijenata sa recidivom, odnosno metastazama GIST nije sprovedena dalja terapija, u ovoj grupi jedan bolesnik je živ sa metastazama međutim ostalih 7 bolesnika su egzistirali u uznapredovaloj fazi bolesti. Kod jedinog pacijenta sa R1 resekcijom intraoperativno je konstatovano postojanje metastaze u jetri; pacijent postoperativno nije primao imatinib i egzistirao je 12 meseci nakon operacije u uznapredovaloj fazi bolesti.



Slika 10. Ishod lečenja pacijenata sa GIST želuca visokog rizika



ANED: Alive No Evidence of Disease (Živ i nema znakova bolesti)

AWD: Alive With Disease (Živ sa bolešću)

DOD: Died Of Disease (Umro od osnovne bolesti)

Tabela 23. Klinički status bolesnika visokog NIH rizika sa recidivom bolesti u zavisnosti od primene Imatiniba

	Bolesnici lečeni Imatinibom, n=17	Bolesnici bez terapije Imatinibom, n=9	p
Živi bez bolesti	5 (29,4%)	0 (0,0%)	0,004
Živi sa bolešću	10 (58,8%)	1 (11,1%)	
Umrli	2 (11,8%)	8 (88,9%)	

Slika 11. Kaplan Meierova kriva preživljavanja bolesnika visokog NIH rizika sa recidivnom bolesti u zavisnosti od primene Imatiniba

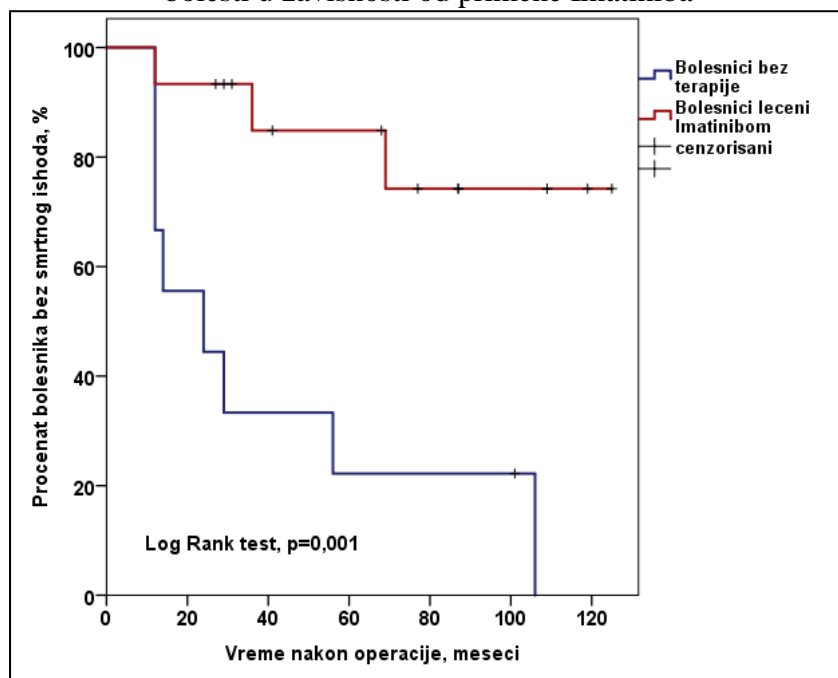


Tabela 24. Cox-ovim univarijantnom regresionom analizom preživljavanja bolesnika visokog NIH rizika sa recidivnom bolesti u zavisnosti od primene Imatiniba

	B	p	HR (95% CI)
Bolesnici bez terapije Imatinibom	1,943	0,005	6,977 (1,822-26,718)

Cox-ovim regresionom analizom je pokazano da su bolesnici visokog NIH rizika sa recidivnom bolesti koji nisu primali Imatinib, imali su 7 puta veću verovatnoću smrtnog ishoda u odnosu na bolesnike lečene Imatinobom (tabela 24).

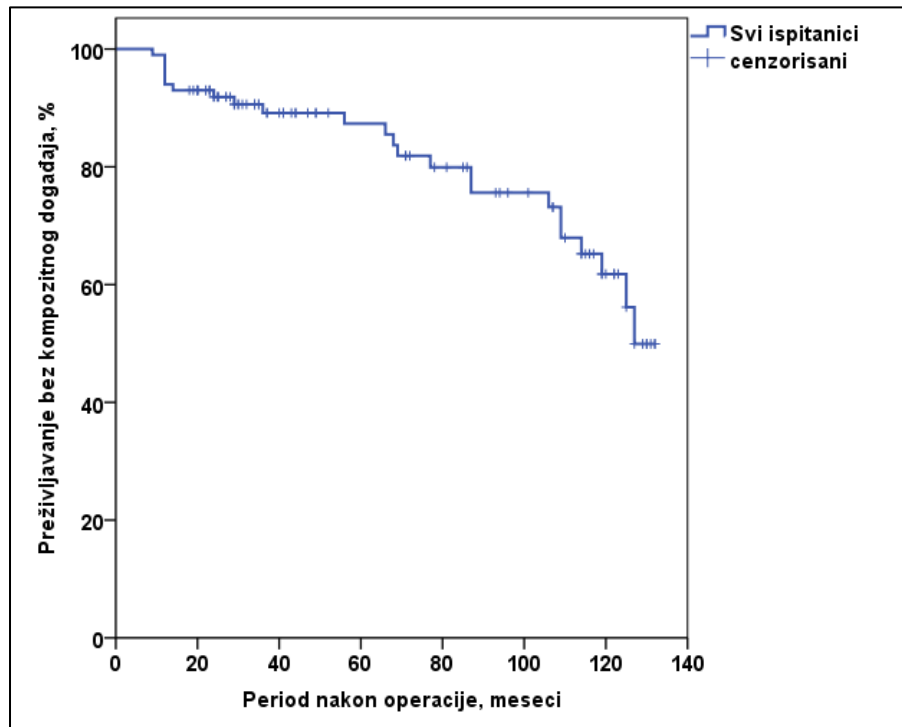
Tabela 26. Kliničko-patološke karakteristike pacijenata sa GIST visokog rizika.

	Ukupno (n=46)	Bez recidiva (n=20)	Recidiv (n=26)	p
Pol				
Muškarci, n (%)	22 (47.0%)	11(55.0%)	11(42.3%)	0,210
Žene, n (%)	24 (53.0%)	9 (45.0%)	15 (57.7%)	
Starost (godine)		62.48	65.88	0,779
Veličina tumora (mm)	78.83	92.24	122.04	0.536
Mitotski indeks, n (%)				
≤5/50 HPF	8 (23.5%)	6 (30.0%)	2 (7.7%)	0,007
>5/50 HPF	38 (76.5%)	14 (70.0%)	24 (92.3%)	
Lokalizacija tumora, n (%)				
Kardija	6 (11.8%)	3 (15.0%)	3 (11.5%)	0,246
Subkardijalna regija	5 (9.8%)	1 (5.0%)	4 (15.4%)	
Forniks	3 (5.9%)	0 (0.0%)	3 (11.5%)	
Korpus	25 (56.9%)	13 (65.0%)	12 (46.1%)	
Antrum	7 (13.7%)	3 (15.0%)	4 (15.5%)	
CD 117				
Pozitivan	5 (11.8%)	3 (15.0%)	2 (7.7%)	0.099
Negativan	41 (88.2%)	17 (85.0%)	24 (92.3%)	
CD 34				
Negativan	4 (11.8%)	2 (10.0%)	2 (7.7%)	0.419
Pozitivan	42 (88.2%)	18 (90.0%)	24 (92.3%)	

\*Statistički značajna vrednost  $p < 0,05$

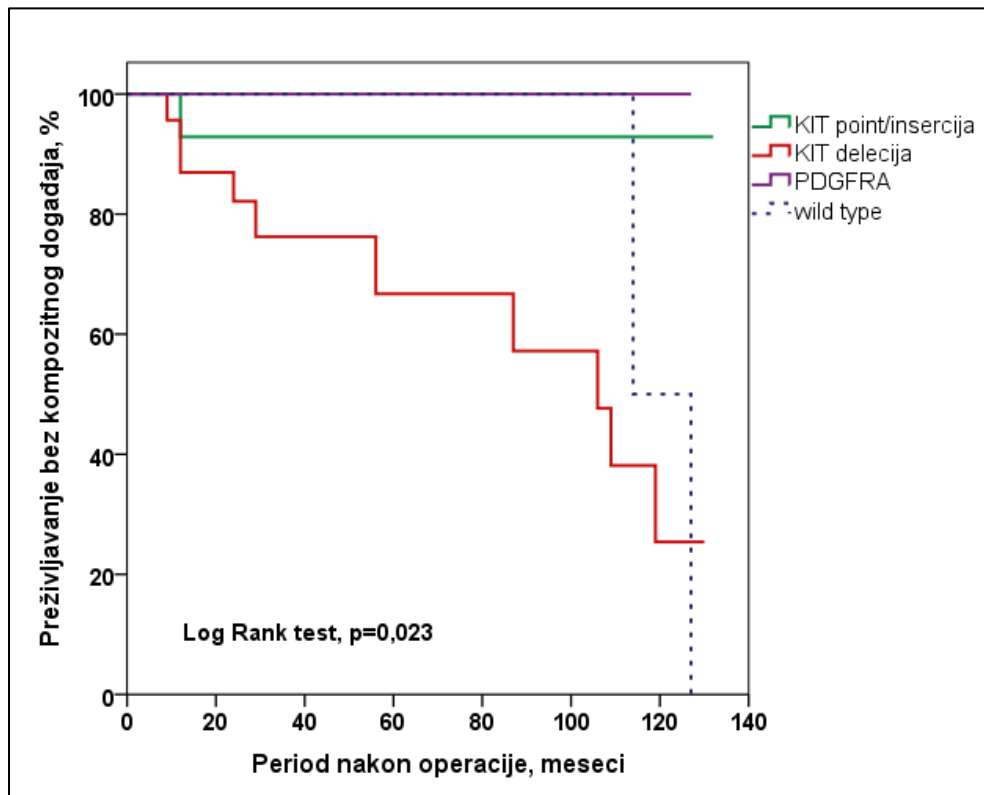
Prosečna dužina trajanja perioda praćenja iznosila je 66,1 meseci, sa medijanom od 50,5 meseci i rasponom od 9 do 132 meseca. Tokom perioda praćenja, registrovana je pojava metastaza u jetri kod 23 pacijenta, od kojih je jedan pacijent imao tumor niskog, a ostali tumore visokog rizika, dok je kod 4 pacijenta zabeležena pojava lokalnog recidiva.

Slika 12 Kaplan-Meierova kriva preživljavanja bez kompozitnog događaja bolesnika operisanih zbog GIST želuca



U celokupnoj grupi bolesnika sa GIST želuca tokom desetogodišnjeg praćenja nakon operacije kompozitni događaj se javio kod 24 (24%) bolesnika (slika 12).

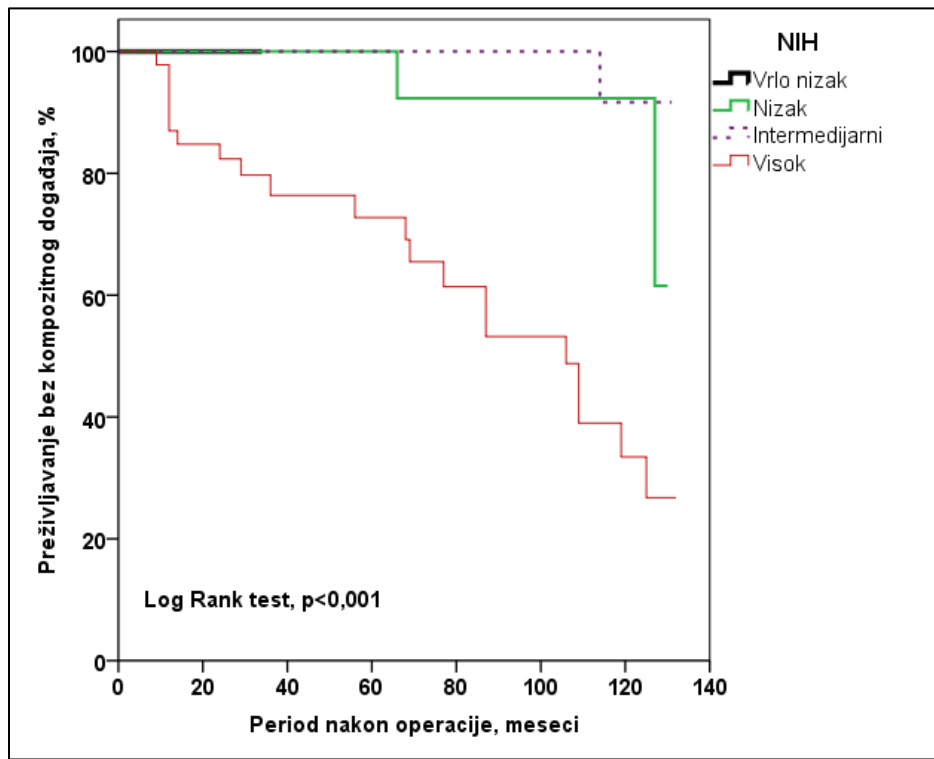
Slika 13. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja bez kompozitnog događaja bolesnika operisanih zbog GIST želuca u zavisnosti od tipa mutacije.



Delecija (23/10) vs. point (14/1) 0.023  
 point (14/1) vs. PDGFRA (6/0) 0.513  
 delecija (23/10) vs. PDGFRA (6/0) 0.066  
 delecija vs. wild (2/2) 0.720

Analizom krive preživljavanja kod bolesnika operisanih zbog GIST želuca utvrđena je značajna razlika u javljanju kompozitnog događaja, u zavisnosti od tipa mutacije ( $p=0.023$ ) (slika 13). Recidiv bolesti ili smrtni ishod su se javili kod 10 (43,5%) bolesnika sa delecijom na egzonu 11 KIT gena, dok se kompozitni neželjeni događaj javio kod jednog (7.1%) bolesnika sa point mutacijom, što predstavlja statistički značajnu razliku ( $p=0,023$ ). Nijedan od 6 bolesnika sa PDGFRA nije imao neželjeni događaj, a kod oba bolesnika sa *wild* mutacijom je došlo do nastanka recidiva bolesti, međutim ovaj nalaz nema statističku značajnost u poređenju sa grupom bolesnika koji su imali deleciju na egzonu 11 KIT gena ( $p=0,066$  i  $p=0,720$ ).

Slika 14. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja bez kompozitnog događaja bolesnika operisanih zbog GIST želuca u zavisnosti od modifikovane NIH klasifikacije rizika



Visok (46/21) vs. intermedijarni (28/1)  $p < 0,001$

Visok (46/21) vs. nizak (25/2),  $p = 0,004$

visok vs. vrlo nizak (1/0),  $p = 0,632$

intermedijarni (28/1) vs. nizak (25/2),  $p = 0,475$

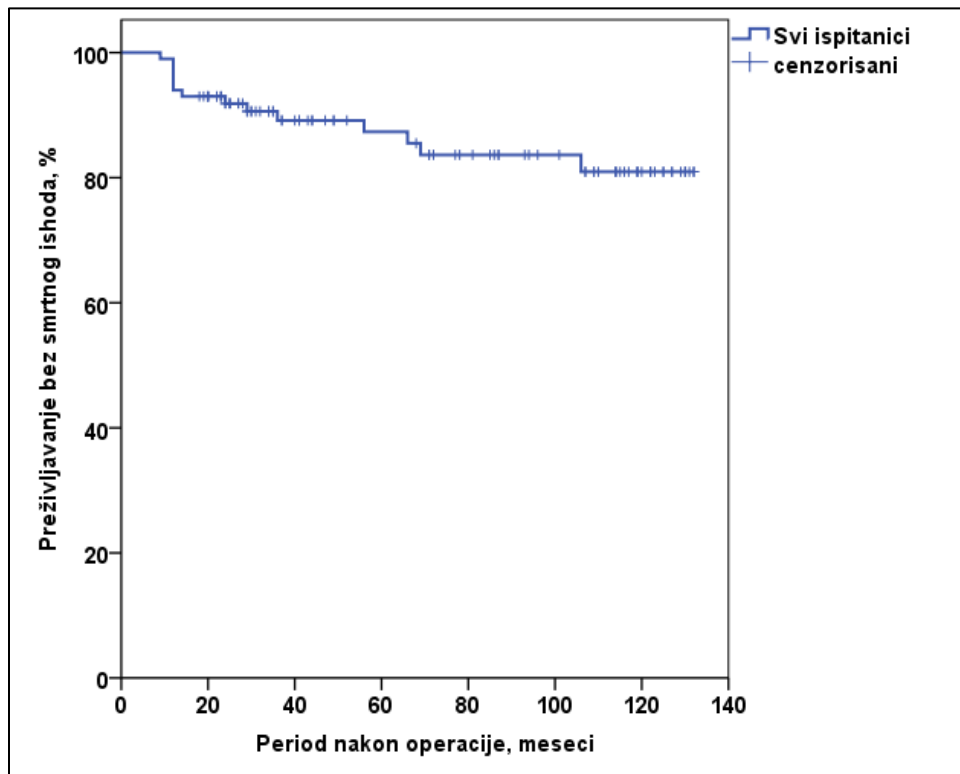
Postoji značajna razlika u javljanju kompozitnog događaja kod bolesnika operisanih zbog GIST želuca u zavisnosti od modifikovane NIH klasifikacije rizika ( $p < 0,001$ ). Recidiv bolesti ili smrtni ishod su se javili kod 21 (45,7%) bolesnika sa NIH visokog rizika, dok se kompozitni neželjeni događaj dogodio kod jednog bolesnika (3,6%) sa NIH intermedijarnog rizika ( $p < 0,001$ ) i kod dva (8,0%) bolesnika iz grupe niskog NIH rizika ( $p < 0,004$ ). Poređenjem učestalosti preživljavanja bolesnika bez kompozitnog događaja tokom vremena praćenja između grupe bolesnika niskog NIH rizika i bolesnika vrlo niskog NIH rizika, kao i između bolesnika intermedijarnog i niskog rizika nije pokazalo statistički značajnu razliku ( $p = 0,632$  odnosno  $p = 0,475$ ) (slika 14.).

Tabela 27. Učestalost pojave recidiva bolesti kod bolesnika operisanih zbog GIST želuca u zavisnosti od NIH rizik klasifikaciji.

	Vrlo nizak rizik n=1	Nizak rizik n=25*	Intermedijarni rizik n=28§	Visok rizik n=46*§	p
Bez recidiva, n (%)	1 (100.0%)	24 (97,1%)	28 (100%)	20 (43.5%)	<0,001
Metastaze u jetri, n (%)	0 (0.0%)	1 (2,9%)	0 (0%)	22 (47.8%)	
Loklani recidiv, n (%)	0 (0.0%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (8.7%)	

Postoji značajna razlika učestalosti pojave recidiva bolesti kod bolesnika operisanih zbog GIST želuca u zavisnosti od rizika po modifikovanoj NIH klasifikaciji ( $p < 0,001$ ). Kod bolesnika sa visokim rizikom metastaze u jetri su se javile kod 22 (43,1%) bolesnika, dok je lokalni recidiv nađen kod 4 (7,8%) bolesnika. U grupi bolesnika sa intermedijarnim rizikom nije bilo recidiva, dok su metastaze u jetri nađene kod 1 (2,9%) bolesnika sa niskim rizikom.

Slika 15. Kaplan-Meier krivulja kumulativnog preživljavanja pacijenata sa GIST želuca.



visok (46/13) vs. intermedijarni (28/0)  $p=0,002$

visok (46/13) vs. nizak (25/1),  $p=0,019$

visok vs. vrlo nizak (1/0),  $p=0,632$

intermedijarni (28/1) vs. nizak (25/2),  $p=0,283$

Kumulativna stopa preživljavanja (*disease-specific survival rate*) pacijenata tokom perioda praćenja iznosila je 81%, dok su jednogodišnja, petogodišnja i desetogodišnja stopa preživljavanja iznosile redom 94%, 84% i 81% (Slika 15).



Od ukupno 27 pacijenata kod kojih je tokom perioda praćenja došlo do pojave metastaza, odnosno lokalnog recidiva, 18 pacijenata je lečeno imatinibom. Kliničko-patološke karakteristike pacijenata u odnosu na primenu imatiniba prikazane u tabeli 26. Registrovana je statistički značajna povezanost između primene imatiniba i sledećih parametara: mitotskog indeksa, tumorske nekroze, celularnosti i Miettinen-ovog skora.

Tabela 26. Kliničko-patološke karakteristike pacijenata u odnosu na primenu imatiniba (n=100).

	Ukupno (n=100)	Bez imatiniba (n=82)	Sa imatiniba (n=18)	P
Pol				
Muškarci, n (%)	49 (49.0%)	43 (47,6)	6 (33,3)	0,142
Žene, n (%)	51 (51.0%)	39 (52,4)	12 (66,7)	
Starost ( godine)				
Prosečna	58.21±13.44	62.09± 11.36	54.33± 15.52	0,282
Raspon	23-84	28-84	23-76	
Veličina tumora (mm)				
≤2 cm	1 (1.0%)	1 (1.2%)	0 (0.0%)	0,085
>2≤5 cm	31 (31.0%)	29 (35.4%)	2 (11.1%)	
>5≤10 cm	46 (46.0%)	37 (45.1%)-	9 (50%)	
>10 cm	22 (22.0)	15 (18.3%)	7 (38.9%)	
Mitotski indeks, n (%)				
≤5/50 HPF	56 (56.0%)	54 (65.9%)	2 (11.1%)	0,000
>5/50 HPF	44 (44.0%)	28 (34.1%)	16 (88.9%)	
Tumorska nekroza, n (%)				
Nema	69 (69.0%)	61 (74.4%)	8 (44.4%)	0,036
Fokalna	29 (29.0%)	19 (23.3%)	10 (55.6%)	
Raširena	2 (2.0%)	2 (2.4%)	0 (0.0%)	
Celularna anaplazija				
Niska	97 (97.0%)	79 (96.3%)	18 (100.0%)	1.000
Visoka	3 (3.0%)	3 (3.7%)	0 (0.0%)	
Celularnost, n (%)				
Niska	6 (6.0%)	6 (7.3%)	0 (0.0%)	0,000
Umerana	55 (55.0%)	52 (63.4%)	3 (16.7%)	
Visoka	39 (39.0%)	24 (29.3%)	15 (83.3%)	
Citološki tip, n (%)				
Vretenasti	69 (69.0%)	61 (74.4%)	17 (94.4%)	0,215
Epiteloidni	29 (29.0%)	6 (7.3%)	0 (0.0%)	
Mešoviti	2 (2.0%)	15 (18.3%)	1 (5.6%)	
Makroskopski tip, n (%)				
Nodozni	81 (81.0%)	67 (81.0%)	14 (77.8%)	0,094
Multipli	2 (2.0%)	0 (0.0%)	2 (11.1%)	
Zvonasti	4 (4.0%)	4 (4.9%)	0 (0.0%)	
Polipoidni	3 (3.0%)	3 (3.7%)	0 (0.0%)	
Pseudocistični	10 (10.0%)	8 (9.8%)	2 (11.1%)	

\*Statistički značajna vrednost p < 0,05

## 5. DISKUSIJA

Glavni cilj ove studije bio je da u seriji bolesnika operisanih zbog GIST-a želuca u našem centru odredimo prisustvo i učestalost mutacija na genima KIT i PDGFRA i da analiziramo vrste mutacije u odnosu na kliničko-patološke karakteristike pacijenata, te da utvrdimo da li ovi rezultati mogu biti klinički značajni u poboljšanju lečenja bolesnika operisanih zbog GIST-a želuca. Osnovna ideja vodilja nam je bila da obiman hirurški rad, kao i detaljnu patohistološku i imunohistohemijsku obradu svih preparata, dopunimo genetskim istraživanjem.

Kao što je već istaknuto GIST su relativno skoro otkriveni, tako da su epidemiološki podaci, kao i karakteristike, te klinički tok obolelih od ovih tumora na našem centru, do sada nisu bili dovoljno analizirani. Dakle, u ovoj studiji trudili smo se da objedinimo sve epidemiološke i demografske karakteristike ove grupe bolesnika, detaljnu patološku analizu, sa kliničkim tokom, odnosno preživljavanjem ovih pacijenata. Uz to, ispitivanje mutacija gore pomenutih gena u sklopu GIST predstavljao bi dodatan korak, ka sveobuhvatnoj analizi ovih bolesnika, koji bi eventualno doveo do modifikacije stavova u lečenju ovih bolesnika, možda najviše u odluci o postoperativnoj adjuvantnoj terapiji, odnosno eventualnoj primeni neoadjuvantne terapije.

Epidemiološke karakteristike pacijenata su detaljno iznesene u ovoj studiji. Srednja starost bolesnika u momentu postavljanja dijagnoze bila je oko 60 godina, što je u potpunoj korelaciji sa rezultatima iz jedne multicentrične serije iz Koreje sa 406 bolesnika(171).U navedenoj seriji odnos muškog i ženskog pola je bio 38,7 prema 61,3, za razliku od naših rezultata gde je odnos muškog i ženskog pola bilo približno isti ( 49 prema 51) koji je više u korelaciji sa rezultatima objavljenih na osnovu analize 1057 bolesnika od strane Kim-a i saradnika (172). U našoj seriji najviše bolesnika, njih 34 je bio u sedmoj deceniji, a najmanje u trećoj deceniji, svega 2 bolesnika. Što se tiče globalne epidemiologije GIST-a digestivnog trakta koja je detaljno analizirana u sistematičnom pregledu populacionih kohortnih studija sa ovom problematikom, ukazano je da je prosečna starost bolesnika koji obolevaju od GIST-a oko 60 godina, sa praktično ravnomernom distribucijom prema polovima(29).Takođe ukazano je da je incidenca oko 10/15 bolesnika na 1 000 000 stanovnika godišnje. Autori su pokazali dosta ekstremne razlike izmedju prijavljenih incidenca GIST-a prema različitim geografskim regionima. Ipak, postoje jasna metodološka ograničenja, koja ne dozvoljavaju da se ovakav zaključak jasno iznese.

Što se tiče simptomatologije GIST-a, većina ovih tumora nema jasnu kliničku prezentaciju do momenta dostizanja određene veličine, kada će simptome dati usled mehaničkog delovanja (bol, neprijatnost, dispepsija, opstrukcija), ili recimo zbog pojave ulceracije na tumoru koja se najčešće manifestuje krvarenjem iz digestivnog trakta. Upravo to je i bio slučaj u našoj studiji. Melena je bila najčešći simptom i to kod 41 bolesnika, a uz to treba dodati i prisustvo hematemeze kao dominantnog simptoma kod dva bolesnika. To ukazuje da je krvarenje iz tumora, kao primarni simptom bilo prisutno kod 43% bolesnika u našoj seriji. Bol u trbuh je bio glavni simptom kod 31 bolesnika, nadutost u trbuhu kao glavni simptom je bila zabeležena kod 12 bolesnika. Četiri bolesnika su kao primarnu prezentaciju bolesti imala palpabilnu tumorsku masu, dok se disfagija kao primarni simptom takođe javila kod 4 bolesnika. Što se literaturnih podataka tiče, pretpostavka je da je oko 70% GIST-a simptomatično, oko 20% ne daje nikakve simptome, a oko 10% se nalazi u obdukcionim nalazima. Za razliku od naše studije, gde je krvarenje iz gornjih partija GIT-a bilo dominantan simptom, ono se u literature javlja kao dominantan simptom kod oko 40% bolesnika, dok je najčešći simptom prisustvo abdominalnog diskomfora, odnosno dispepsije ili tupih epigastričnih bolova.

GIST može da se dijagnostikuje slučajno tokom dijagnostičkih procedura zbog druge bolesti, tokom operativnih zahvata zbog drugih bolesti ili da se otkrije u resciranom želucu zbog druge patološke promene u želucu. Kao što je navedeno, manji procenat ostaje klinički indolentan, odnosno i do 10% od ukupno prijavljenih slučajeva nalazi su u obdukcijским izveštajima.

Distribucije Cajalovih ćelija u zidu želucu očekuje se da bude faktor koji će odrediti i mesto najčešće lokalizacije GIST želucu. Cajalove ćelije su najviše lokalizovane u predelu korpusa i antruma, a manje su u predelu fundusa i kardije, te se očekuje da i GIST želucu bude češće lokalizovan u predelu korpusa i antruma, a manje u predelu fundusa i korpusa.

Po lokalizaciji tumora u želucu najčešća lokalizacija je bila u predelu korpusa kod 60 bolesnika potom u predelu antruma kod 18 bolesnika, na ovo treba dodati da kod dva bolesnika GIST je bio lokalizovan u predelu patrljka želucu nakon prethodne resekcije želucu. Ovi rezultati ukazuju da je 80% tumora je bio lokalizovan u predelu korpusa i antruma što se uklapa sa najčešćim rasporedom Cajalovih ćelija u zidu želucu(173). Lokalizacija tumora u predelu forniksa, subkardijalne regije i kardije je zabeležena ukupno kod 20% bolesnika.

Kada je u pitanju zahvaćenost zidova želucu najčešća lokalizacija tumora je bila prednjem zidu i to kod 36 bolesnika. Kada na to se doda još 11 bolesnika kod kojih tumor pored prednjeg zida

zahvatao i deo male i velike krivine, kao i 8 bolesnika kod kojih tumor bio po celoj cirkumferenciji zida, dobijamo podatak da je prednji zid želuca bio zahvaćen u 55% slučajeva. Treba naglasiti da je sama mala krivina bila infiltrisana tumorom kod 5 bolesnika, a velika krivina kod 12 bolesnika.

Ipak uzevši u obzir distribuciju lokalizacije GIST-a koju nailazimo u literature, čini se da proksimalni korpus želuca dominira kao najčešća lokalizacija. U studiji Kim-a i saradnika, preko 50% gastričnih GIST lokalizovano je u proksimalnom želucu, u srednjem partijama oko 30%, a ispod 20% u završnom delu želuca. Ovakvi rezultati su u diskrepanci sa distribucijom Cajal-ovih ćelija u želucu, i očigledno je da sama anatomska distribucija ovih ćelija nije jedini predisponirajući factor kada govorimo o lokalizaciji GIST-a u želucu.

Zlatni standard za lečenje GIST je hirurška resekcija, za razliku od karcinoma kod GIST nisu neophodne široke resekcione margine, već je neophodno da se obezbedi R0 resekcija odnosno dovoljno je da su resekcione margine negativne. Takodje obzirom da GIST retko daje metastaze u limfnim nodusima, nije neophodna limfadenektomija. Ove dve osobine GIST-a, omogućavaju da naročito kod GIST želuca u većem procentu parcijalna ekscizija zida želuca sa tumorom ("wedge resekcija") bude onkološki adekvatna operacija. Samo u slučajevima kada zbog uznapređovalosti tumora nije moguće parcijalnom ekscizijom zida želuca obezbediti negativne margine dolazi u obzir opsežne resekcija, kao što su subtotalne ili totalne gastrektomije. U slučaju infiltracije ili adhezije sa susednim organom dolazi u obzir proširena gastrektomija odnosno gastrektomija sa resekcijom susednih organa kao što su resekcije jednjaka, kolona, jetre ili slezine. Posebno treba naglasiti da lokalizacija GIST u predelu kardije i subkardijalne regije želuca zahteva kompleksnu hiruršku intervenciju, često sa multiorganskom resekcijom i kompleksnom rekonstrukcijom. Brojni su radovi koji ukazuju na specifičnosti lokalizacije GIST u predelu kardije i subkardijalne regije želuca. Ovde treba posebno istaći našu seriju, gde je zabeleženo 10 bolesnika sa GIST lokalizovanom u nivou kardije. Hirurški tretman kretao se u opsegu od složenih ivičnih rekonstrukcija sa suturom i zida želuca i jednjaka, preko distalne ezofagektomije sa totalnom gastrektomijom, te Roux-en-Y rekonstrukcijom, odnosno distalnom ezofagektomijom i proksimalnom resekcijom želuca, te rekonstrukcijom po Merendinu. Ono što je definitivno specifikum GIST-a kardije, neophodno je skladu sa specifičnim onkološkim principima, koji su gore navedeni i važe za GIST, omogućiti da se prezervira što više zdravog i funkcionalnog tkiva, odnosno da nekada složene procedure poput Merendino rekonstrukcije

pružaju i najbolji funkcionalni rezultat. Dakle, onkološki hirurški principi za GIST i karcinom nisu jednaki, i upravo to čini hirurško lečenje GIST-a specifično, i zahtevno u smislu poznavanja vise mogućnosti rekonstrukcije.

Uzimajući u obzir veličine, lokalizaciju i ekspanzivnost tumora u našoj seriji od 100 bolesnika imali smo spektar različitih hirurških intervencija uključujući izrazito zahtevne i specifične hirurške intervencije kao što su Merendino i Garlock-Sweet procedure kao i proširenu i totalnu gastrektomija, kao i subtotalnu gastrektomiju.

Ukupno kod 57 bolesnika učinjena Wedge resekcija želuca odnosno parcijalna ekscizija zida želuca sa tumorom. Wedge resekcija je učinjena kod 88% bolesnika u grupi niskog rizika, u 66% bolesnika iz intermedijarnog rizika i u 33% bolesnika iz grupe visokog rizika. U seriji od 111 bolesnika iz Južne Koreje(174)odnos ivičnih resekcija i radikalnih hirurških intervencije je 61% prema 36%, u našoj seriji ovaj odnos je 57% prema 43%. Razlog za češće izvođenje opsežnijih resekcionih proecura u načoj seriji ležu verovatno u činjenici da su u odnosu na druge studije tumori u ovoj seriji imali nešto veći prosečni dijametar (naša studija 7.2 cm, prosečno u literaturi od 3.2 do 5.6 cm). Treba istaći da su svi bolesnici operisani od strane istog hirurškog tima, sa poštovanjem istih principa, čime se maksimalno minimizira individualna odluka hirurga u izboru hirurške procedure.

Primarni cilji operativnog tretmana bolesnika sa GIST je kompletno uklanjanje tumora sa obezbedjivanjem negativne resekcione margine (R0 resekcija). U našoj seriji kod jednog bolesnika patohistološki potvrđena R1 resekcija i to kod pacijenta koji je imao najveći tumor u ovoj seriji i to veličine 240x130x115mm. Treba naglasiti da navedeni bolesnik je egzistirao12 meseci nakon hirurške intervencije, a da kod njega nije bila uvedena imatinib mesilat terapija u postoperativnom periodu. Kod ostalih 99 bolesnika R0 resekcija je bila potvrđena na patohistološkom preparatu. Ovakav rezultat koji ukazuje da je u 99% slučajeva obezbdeđena R0 resekcije, je između ostalog zahvaljujući radikalnosti hirurških resekcija. Ovo je još jedan argument koji govori u prilog radikalnosti operativnih intervencija i uvođenja adjuvantne terapije kod uznapredovalog GIST, sa visokim rizikom metastaziranja,a bez obzira na trenutno postojanje metastaza.

S druge strane postoje i jaka stanovišta gde se GIST tumori koji su značajne veličine, kada zahtevaju veće hirurške intervencije, mogu primarno tretirati neoadjuvantnom terapijom Imitinibom. Racionalnost ovakvog pristupa, leži u činjenici da bi se tumor primarno smanjio u

dijametri što bi dovelo eventualno do dve prednosti u daljem tretmanu: izvodenje poštedne hirurške intervencije i obezbeđivanje sigurne R0 resekcije. Na žalost, prema trenutnim vodičima našeg fonda za zdravstveno osiguranje, primena neoadjuvantne terapije kod bolesnika sa GIST-om, a sa gore navedenim indikacijama nije moguća.

Prvobitni stavovi Miettinen-a i saradnika i Fujimoto-a i saradnika, govorili su prilog činjenice da su za obezbeđivanje povoljnog histološkog ishoda kod resekcijih procedura za GIST neophodne margine 1-2 cm od samo tumora. Ovakvi stavovi su međutim opovrgnuti kasnijim istraživanjima i dali su vetar u leđa široj promeni laparoskopije kod ivičnih resekcija GIST-a, ali i primene endoskopskih enukleacija tumora.

Nešto stariji klinički Evropski vodiči navode da bi se laparoskopiska resekcija trebala primeniti kod GIST-a manjih od 2 cm, dok japanski vodiči govore o GIST-u manjim od 5 cm. Ipak novije studije su pokazale podjednaku uspešnost laparoskopskog pristupa sa klasičnim. Bolje ukupno preživljavanje koje je zabeleženo u grupi bolesnika koji su tretirani laparoskopiskim putem, ipak treba pripisati manjem prosečnom dijametri tumora u ovoj grupi bolesnika.

Jedan od glavnih parametra pored lokalizacije i mitotskog indeksa koji ukazuje na stepen agresivnosti GIST je veličina tumora. U našoj seriji srednji dijametar GIST je bio 7.12 cm, najmanji tumor je bio 2 cm. a najveći je bio 24 cm. Posebno treba naglasiti da je u grupi tumora svrstani u visoki rizik po NIH klasifikaciji srednji dijametar tumora je bio 10.74cm. Veličina GIST želuca u objavljenima serijama se kreću u rasponu od nekoliko milimetra do 40 cm. Yamamoto i saradnici u svojoj seriji GIST želuca imali srednji dijametar tumora od 4.4cm s tim da u simptomatskoj grupi srednja dimenzija je bio 5.3cm a u asimptomatskoj grupi 3.3cm.(175). Patohistološkim pregledom operativnih preparata potvrđeno da kod 43 bolesnika kod kojih su izvedene mutilantne hirurške intervencije njih 34 su bili u grupi GIST visokog rizika po NIH klasifikaciji.

Prema objavljenim serijama(176)10% bolesnika koji imaju GIST, u trenutku postavljanje dijagnoze imaju metastaze ovakav procenat je potvrđen i u našoj seriji gde 9% bolesnika tokom primarne operacije imali metastaza u jetri i oni su bili svi u grupi bolesnika sa GIST visokog rizika..

Ukupno od 9 bolesnika sa intraoperativnim metastazama 2 bolesnika koji nisu primali Imatinib i 2 bolesnika koji su primali Imatinib i imali progresiju bolesti su egzistirali. Ostalih 5 bolesnika koji su primali Imatinib su živi od kojih kod jednog bolesnika je zabeleženo kompletna regresija.

U našoj seriji kod 4 bolesnika zabeležena pojave lokalnog recidiva i to kod 3 bolesnika u prvoj godini nakon primarne operacije i kod jednog bolesnika u trećoj godini nakon operacije. Od ova 4 bolesnika kod 2 bolesnika uveden Imatinib i oni su živi dok dva bolesnika koji nisu primali Imatinib su egzistirali. Pored 9 bolesnika kod kojih su tokom primarne operacije viđene metastaze u jetri u postoperativnom period kod još 14 bolesnika zabeleženo je pojave metastaze u jetri. Ukupno kod 27% bolesnika zabeležne su pojave metastaze i lokalnih recidiva. Pored 9 bolesnika kod kojih intraoperativno viđena metastaza, pojave recidiva i metastaze su vidjeni u prvoj godini kod 7 bolesnika , u drugoj godini kod 5, u trećoj godini kod 3 i u četvrtoj godini kod jednog bolesnika. Zanimljivo da kod dva bolesnika metastaze su viđeni u osmoj godini nakon primarne hirurška intrevencije. Posmatrano sa stepenom rizika samo jedan bolesnik od ukupno 49 bolesnika iz grupe niskog i intermedijarnog rizika nakon dve godine od operacije imao je metastazu u jetri. S druge strane od 51 bolesnika koji su bili u grupi visokog rizika njih 26 (51%) su imali metastaze u trenutku postavljanje dijagnoze ili tokom perioda praćenja. Izraženi pojave recidiva i metastaze do 80% u grupi GIST visokog rizika su objavljeni i u drugim radovima(177). Ovakav veliki procenat pojave metastaze i recidiva u grupi bolesnika operisanih od GIST visokog rizika u odnosu na izrazito niski procenat pojave metastaze i recidiva u grupi intermedijarnog i niskog rizik ukazuje na potrebu za uvođenje adjuvantne terapije imatinibom u grupi GIST visokog rizika. Dodatni argument u pravcu uvođenja imatiniba u vidu adjuvantne terapije u grupi visokog rizika je i to da u našoj seriji od 27 bolesnika sa recidivom i metastazom njih 8 nisu primali imatinib i svi su egzistirali tokom perioda praćenja, od preostalih 19 bolesnika koji su primali Imatinib 3 bolesnika su egzistirali tokom perioda praćenja. Demetri i saradnici(178) navodi da 80% bolesnika koji primaju Imatinib imaju “partial response” ili “stable disease”, u našoj seriji ovaj procenat je 84%.

Ukupno gledano u našoj seriji kod 27 bolesnika vidjene su metastaze u jetri i lokalni recidiv, njih 9 nisu primali imatinib i 8 od njih su egzistirali tokom perioda praćenja i jedan bolesnik je živ. Ostali 18 bolesnika sa metastazama i lokalnim recidivom su nakon metastazektomije ili ekstripacije recidiva primali imatinib i od njih 4 bolesnika su egzistirali i 14 su živi. Kod jednog od bolesnika koji je egzistirao potvrđena je mutacija u vidu KIT egzon 11 insercije, kod ostalih 3 zbog stanje kalupa genetski materijal nije dobijen.

Ovi podaci s jedne strane potvrđuju potrebu za dugotrajnog odnosno doživotnog praćenje bolesnika operisanih zbog GIST želuca i s druge strane potrebu za adjuvantnu terapiju

imatinibom. The Spanish Society of Medical Oncology (SEOM) guidelines iz 2016 godine(179) preporučuje 3 godine adjuvantne primene imatiniba u dozi od 400 mg. dnevno za GIST visokog rizika. Slične preporuke su predložene i od strane Joensuu i saradnici(180). Primene adjuvantne terapije Imatinibom u intermedijarnoj i niskoj rizik grupi nije predloženo u navedenim serijama.

Kada je u pitanju agresivnosti tumora bez obzira na predložene klasifikacije na četiri stepena rizika GIST naša iskustva ukazuje da su GIST veoma niskog rizika su izrazito retki te da su u pogledu agresivnosti tumora ne postoji značajne razlike između tumora veoma niskog, niskog i intermedijarnog rizika te da su tumori visokog rizika imaju znatno agresivnije ishod u odnosu na prethodne tri kategorije te možda je jednostavnije GIST podeleti u dve kategorije niskog i visokog rizika.

Ako posebno posmatramo 27 bolesnik kod kojih su potvrđene pojavu lokalnog recidiva i metastaze konstatuje se da je samo jedan bio u grupi niskog rizika a 26 su bili iz grupe visokog rizika. Od 51 bolesnika koji su bili u grupi visokog rizika polovina njih odnosno njih 26 su razvili metastaze ili lokalni recidiv, s druge strane od preostalih 49 koji su bili iz grupe niskog i intermedijarnog rizika samo jedan od njih razvio metastazu. Ovo ukazuje na značaj agresivnosti tumora visokog rizika i potrebe za kontrolu bolesti u ovoj grupi i naročito za potrebe za dugotrajne redovne kontrola jer iako najveći procenat pojave recidiva i metastaze se javljaju u prve dve godine nakon primarne operacije međutim metastaze može da se pojavi i nakon 10 godine od primarne operacije. U našoj seriji pored 8 bolesnika koji su imali metastaza već tokom primarne operacije, njih 8 su razvili metastaze u prvoj postoperativnoj godini i njih 5 u drugoj i njih 3 u trećoj postoperativnoj godini. Ukupno od 51 bolesnika koji su imali GIST visokog rizika u prve 2 godine nakon operacije njih 21 su imali metastaze a u prve tri godine njih 24 odnosno blizu polovina njih su razvili metastaze. U našoj seriji kod dva bolesnika metastaze su vidjene u osmoj godini nakon primarne operacije.

U grupi od 27 bolesnika sa pojavom metastaze i lokalnog recidiva, kod njih 14 uspelo je genetsko ispitivanje. Od toga, KIT egzon 11 mutacije bile su prisutne kod 11 bolesnika, jedan bolesnik sa PDGFRA mutacijom i dva bolesnika koji su svrstani u "wild type". Kod 8 bolesnika potvrđena KIT egzon 11 delecija. Iz ove grupe 4 pacijenta su primali Imatinib i svi su živi. Ostala 4 bolesnika koji nisu primali Imatinib umrli su od osnovne bolesti. Dva bolesnika su imali KIT egzon 11 inserciju-deleciju, jedan od njih je imao intraoperativnu metastazu, učinjena je metastazektomija i nakon operacije nije primao Imatinib, egzistirao dve godine nakon operacije



zbog uznapredovalosti bolesti. Drugi bolesnik sa KIT egzon 11 insercijom-delecijom nakon godinu dana je razvio lokalni recidiv, operisan i prima Imatinib, živ je bez znakova bolesti. Jedan bolesnik koji je razvio metastazu godinu dana nakon primarne operacije imao je KIT egzon 11 inserciju, učinjena metastazektomiju, primao je Imatinib i egzistirao nakon godinu dana. Jedan bolesnik kod koga se pojavio lokalni recidiv u prvoj godini nakon operacije imao je PDGFRA tačkasta mutacija na egzonu 18 i nakon eksipacije lokalnog recidiva uveden je imatinib, bolesnik je živ bez znakova bolesti. Kod dva bolesnika koji su imali metastaze nije potvrđeno KIT i PDGFRA mutacije i oni su svrstani u "Wild type". Oba bolesnika su primali Imatinib i živi su. Iz navedenog teksta možemo zaključiti sledeće. Prvo, bitna činjenica je da kod ni jednog bolesnika iz naše studije nije sprovedena neoadjuvantna terapija Imatinibom, dakle govorimo o grupi "Imatinibim naive" pacijenata. Dakle, njihov genetski materijal nije modifikovan primenom prethodne terapije. Drugo, najčešća genetska modifikacija u grupi bolesnika sa metastatskom bolešću ili recidivom imala je KIT egzon 11 deleciju. Adjuvantna primena Imatiniba u ovoj grupi pokazala se kao značajan factor u kontroli bolesti. Druge mutacije u grupi bolesnika sa metastatsko bolešću bile su značajno manje pristine, i njihova distribucija nije bila veće od one kod bolesnika sa stabilnom bolešću ili GIST-om niskog rizika. Može se zaključiti da ove mutacije nisu imale značaj za neželjeni događaj (metastaza, recidiv), ali da kod pacijenata sa GIST-om visokog rizika, primena adjuvantne terapije u prisustvu ovih mutacija ima povoljan klinički ishod.

U cilju dobijanje adekvatnih podataka o genetskoj mutaciji u našoj seriji od 100 bolesnika isključeni su 55 bolesnika kod kojih iz tehničkih razloga nije uspelo da se dobije adekvatan genetski materijal. Ovo je uzrokovano izrazito lošim uslovima gde su arhivirani patohistološki kalupi i pločice gde nije bilo moguća dobiti upotrebljiv genetski materijal u cilju izolacije DNK i dalje genetske analize. Uzevši u obzir metološke poteškoće sa kojima smo se susreli u toku DNK analize, procenat od 45% koji je zabeležen u našoj studiji ne predstavlja relevantan podatak u proceni stvarne učestalosti KIT i PDGFRA mutacija kod bolesnika sa GIST-om želuca. U najvećoj studiji koja se bavila učestalošću i značajem i KIT i PDGFRA mutacijama koju su sprovedeli Wozniack i saradnici učestalost mutacija iznosila je 82.5%. Ovakva učestalost prikazana je i u Norveškoj populacionoj studiji gde je iznosila 85,4%, dok je u studiji koja je proučavala efekte imatiniba sprovedene od strane Evropske organizacije za istraživanje i lečenja carcinoma (EORTC) procenat mutacija iznosio 86.2%. Dakle, prema ovim literaturnim podacima treba

zaključiti da je procenat gastrointestinalnih stromalnih tumora kod kojih se javljaju genetske mutacije između 80 i 90%, odnosno da se genetske mutacije dešavaju u većini ovih tumora, te da su ovi događaji molekularni pokretači i determinante kliničkog ponašanja ovih tumora.

Mi smo posebno odvojili grupu od 45 bolesnika kod kojih smo dobili mutacioni status, gde su 37 bolesnika sa KIT mutacijama, 6 bolesnika sa PDGFRA mutacijama i 2 bolesnika su svrstana u KIT, PDGFRA "wild typ". Ako posmatramo celu seriju, dobijenih genetskih mutacija, PDGFRA mutacija i "wild type" su praktično duplo manje zastupljene u odnosu na većinu objavljenih serija, kao što smo prethodno već istakli. Međutim, ako posmatramo samo grupu bolesnika kod kojih su dobijeni genetski materijal distribucija zastupljenosti KIT i PDGFRA mutacije i "wild type", mutacije su slične kao i većina serija(114). U našoj seriji od 45 bolesnika sa genetskim rezultatima, KIT mutacija je zastupljena kod 37 pacijenata, odnosno kod 82% bolesnika, PDGFRA u 6 slučajeva ili kod 13% bolesnika, dok su 2 bolesnika, odnosno 5% svrstani u KIT i PDGFRA "wild type" grupu. KIT mutacija je bila najčešći tip mutacije. Među mutacijama na KIT genu, KIT egzon 11 delecija je bila najučestalija i zabeležena je u 45% slučajeva. Ovaj rezultat odgovara i distribuciji KIT mutacija objavljenih u studiji provedenoj od strane Joensuu i saradnika, kod kojih je zastupljenost KIT egzon 11 delecija takođe iznosila oko 43% (181).Upravo je KIT mutacija na egzonu 11 i najčešće opisana mutacija, odnosno daleko češća od mutacije na egzonu 9. U već spomenutoj seriji Wozniaka i saradnika učestalost KIT 11 mutacije iznosila je 61.1%, dok su mutacije na KIT egzonu 9 bile prisutne kod 7.3% ispitanika. Sličan odnos distribucije mutacije na KIT genuma prikazan je i u Norveškoj populacionoj studiji (KIT 11 75%, KIT 9 5.6%), odnosno u francuskoj Molec GIST studiji (KIT 11 59.1%, KIT 9 5.6%). Dakle, prema rezultatima naše studije, i na osnovu do sada objavljenih literaturnih podataka, jasno je da je KIT mutacija na egzonu 11 najčešće molekularno dešavanje kod GIST-a. Ako posmatramo odnos KIT egzon 11 delecije sa drugim patološkim parametrima GIST želuca, u našoj seriji ukazuje da ova mutacija ima statistički značajnu korelaciju sa većim mitotskim indeksom, a da ne postoji korelacija sa drugim patološkim parametrima. Međutim, već i sama korelacija sa mitotskim indeksom koji je snažan prediktor lošijeg kliničkog ishoda, čini prisustvo KIT egzon 11 delecije relevantnim činiocem u proceni kliničkog ishoda, odnosno značajnog parametra u evaluaciji daljeg lečenja operisanih bolesnika. U našoj studiji bolesnici sa KIT 11 delecijom imali su statistički značajno lošije preživljavanje od bolesnika kod kojih je zabeležena KIT point mutacija. U grupi od 18 bolesnika sa KIT egzon 11 delecijama, kojih je po učestalosti

bilo i najviše, njih 5 su imali GIST niskog rizika, a 13 GIST visokog rizika. Pojava lokalnog recidiva zabeležena je kod jednog bolesnika iz ove grupe, dok je kod 7 zabeležena pojava metastaza u jetri. Rezultati dosadašnjih objavljenih radova ukazuju da KIT mutacija na egzonu 11 je u korelaciji sa agresivnijem prirodom tumora(182). Capelli i saradnici ukazali da pacijenti sa GIST-om želuca koji imaju KIT egzon 11 deleciju su praćeni sa lošijim patološkim parametrima kao što su prisustvo tumorske nekroze, hipercelularnosti, veća veličina tumora i veći mitotski indeks(183). Takođe, u nekoliko studija iznesen je značajan delecija na posebnim kodonima na KIT egzonu 11, kao posebno loš prognostički indikator kod bolesnika sa GIST-om. U studiji Wardelmann-a i saradnika ukazano je delecija W557 K558 na KIT egzonu 11, ima značajnu korelaciju sa metastatskim ponašanjem tumora. (184). Wozniak i saradnici pronalaze deleciju na KIT egzon 11 kodonu W557K558 kod 7.5% bolesnika. Prisustvo ove delecije u njihovoj studiji povezano je sa visokim mitotskim indeksima i po pravilu prisutno kod velikih tumora, odnosno preko 85% bolesnika sa delecijom na ovom kodonu ima GIST visokog rizika metastaziranja prema NIH klasifikaciji. Takođe autori nalaze da je W557K558 delecija povezana sa statistički značajno lošijim preživljavanjem u odnosu na druge delecije na KIT egzonima, što je u ovoj studiji imalo i visoku statističku značajnost. Dakle, ne samo da su delecije na KIT egzonu 11 povezane sa lošijim patološkim parametrima, nego su i delecije na posebnim kodonima KIT egzona 11 nezavistan prediktor lošijeg ishoda kod bolesnika sa GIST tumorima.

PDGFRA mutacija je bila znatno manje zastupljena u našoj seriji u odnosu na KIT mutacije. Ovaj rezultat je u skladu sa opsegom navedenim literaturnim podacima gde se raspon učestalosti PDGFRA mutacija kreće od 5.2% do 22% kod Miettinen-a i saradnika. Razlozi za ovu diskrepancu mogu biti u činjenici različitih selektovanja uzoraka za studije. Kliničke studije koje su uzimale u obzir metastatski GIST i agresivnije tumore, prijavljuju izrazito nisku incidencu PDGFRA mutacija, dok studije koje su pokrivala kompletan materijal, kod već gore pomenutih studija Miettinen-a i saradnika, daju podatke o višoj učestalosti ove mutacije. Najčešća PDGFRA mutacija u našoj seriji je bila tačkasta mutacija na egzonu 18. Nije bilo statističke korelacije između ove mutacije i drugih patoloških parametara. Lasota i saradnici navode da većina bolesnika sa GIST koji imaju PDGFRA mutacije su dominantno imali epiteloidni tip tumora sa niskim mitotskim indeksom i benignim karakterom(87). Slično je i u studiji Wozniak-a i saradnika, gde je velika većina bolesnika sa prisutnim PDGFRA mutacijama imala GIST niskog rizika i povoljan klinički tok.

U našoj seriji ukupno preživljavanje bolesnika koji su imali dokazane KIT mutacija u periodu praćenja od 10 godina, iznosio je 71%, a kod bolesnika sa zabeleženim PDGFRA mutacijama nije zabeležen smrti ishod, odnosno ukupno preživljavanje je iznosilo 100%.

KIT mutacija naročito delecija na egzonu 11 i to na kodone 557, 558 ili 559 kod gastričnog GIST je u korelaciji sa agresivnim tipovima GIST i većim rizikom od recidiva i lošijim ishodu. Ovaj nalaz naglašava potrebu za mutacionu analizu GIST kako bi identifikovalo bolesnike koji su u grupi sa većim rizikom od pojave recidiva, koji mogu imati koristi od adjuvante terapije imatinibom. U perspektivi, analize mutacionog statusa GIST mogu biti i od koristi za precizniju stratifikaciju rizika bolesnika sa GIST.

U našoj studiji postoji nekoliko ograničenja koja mogu delimično da oslabe jačinu naučnog dokaza koji iz ove studije proizilazi.

Prvo, period u kojem je studija načinjena je dosta dugačak, a broj bolesnika limitiran na 100. Ovde moramo istaći da je učestalost GIST niska, te da je i ovakav broj s obzirom da se radi o pojedinačnom centru, a ne multicentričnoj studiji i više nego zadovoljavajući.

Drugo, studija ima delimično retrospektivni karakter. Retrospektivni podaci uzimani su samo za manji broj bolesnika u studiji koji su operisani u prvih par godina studijskog intervala. Mora da se naglasi, da su i ovi bolesnici imali detaljnu kliničku i patohstološku obradu kao i bolesnici koji su kasnije uključeni u prospektivno praćenje. Takođe, kliničko praćenje i intervali kontrola nisu modifikovani u toku studije, tako da su podaci koji su dobijeni za sve bolesnike uniformni, te se može smatrati da se radi o kliničkoj prospektivnoj studiji.

Treće, procenat pacijenata kod kojih izolovane genetske KIT i PDGFRA mutacije iznose 45% što je nešto niže u odnosu na literaturne podatke, kao što smo i u prethodnom tekstu već istakli. Ovde moramo uzeti u obzir da je genetska analiza vršena sa već obrađenih histoloških kalupa, a ne sa svežeg uzorka tumora, čime se delimično može objasniti i niža incidenca dokazanih genetskih mutacija. Ipak, uzorak od 45 bolesnika bio je dovoljan da bi se postigla odgovarajuća korelacija sa osnovnim patohistološkim i imunohistohemijskim statusom tumora, ali i sa kliničkim tokom i definitivnim ishodom lečenja bolesnika sa gastričnim GIST-om.

## 6. ZAKLJUČCI

1. U ispitivanoj grupi bolesnika najveća distribucija GIST-a želuca bila je u sedmoj deceniji života ispitanika, bez razlike u distribuciji prema polu. Dominantan simptom u ovoj grupi ispitanika bilo je krvarenje iz gornjih partija digestivnog trakta. Nešto veći procenat bolesnika tretiran je ivičnom resekcijom, dok je preko 40% bolesnika lečeno radikalnijom resekcionom hirurškom procedurom. Predominatno su u našoj grupi ispitanika bili pacijenti sa tumorima korpusa želuca.
2. Prema modifikovanoj NIH klasifikacija na osnovu veličine i mitotskog indeksa tumora, preko 50% bolesnika svrstano je u grupu bolesnika sa visokim rizikom za metastaziranje. Iz ove grupe bolesnika više od polovine je imalo pojavu recidiva ili metastatske bolesti. Mortalitet je bio najizraženiji u grupi bolesnika koji postoperativno nisu dobili terapiju Imatinib Mesylatom.
3. Prisustvo mutacija na KIT i PDGFRA genima zabeleženo je kod 45 (45%) bolesnika. Najčešća mutacija bila je delecija na KIT egzonu 11, point mutacija i insercija takođe na egzonu 11. Mutacije na egzonu 9 bile su značajno ređe.
4. PDGFRA mutacijesu bile značajno ređe od KIT mutacija i u našoj studiji su zabeležene kod 6 bolesnika.
5. Ukoliko su mutacije bile prisutne na KIT genima postojala je statistički visoko značajna korelacija sa visokim mitotskim indeksom. Nije zabeležena statistički značajna korelacija niti sa jednim drugim ispitivanim patološkim parametrom. PDGFRA mutacije bile su praćene benovalentnim tokom bolesti i sa GIST-om niskog rizika metastaziranja i recidiviranja.
6. Prisustvo KIT egzon 11 delecije predstavlja nezavistan predictor lošijeg kliničkog ishoda. Bolesnici koji su nosili ovu genetsku mutaciju imali su statistički značajno lošije preživljavanje od onih sa point mutacijama i insercijama na KIT genu. Bolesnici kod kojih je prisutna delecija na KIT 11 egzonu zahtevaju dodatno praćenje, adjuvantnu terapiju imatinibom ili adjuvantnim lekom druge linije.

## 7. REFERENCE

1. Kindblom LG, Remotti HE, Aldenborg F, Meis-Kindblom JM. Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. *Am J Pathol* [Internet]. 1998;152(5):1259–69. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1858579&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
2. Mazur M, Clark H. Gastric stromal tumors: reappraisal of histogenesis. *Am J Surg Pathol*. 1983;7(6):507–19.
3. Corless CL, Heinrich MC. Molecular Pathobiology of Gastrointestinal Stromal Sarcomas. *Annu Rev Pathol Dis*. 2008;3:557–86.
4. Hirota, S., Isozaki, K., Moriyama, Y., Hashimoto, K., Nishida, T., Ishiguro S. Gain-of-Function Mutations of c-kit in Human Gastrointestinal Stromal Tumors. *Science* (80- ). 1998;279(5350):577–80.
5. Lasota J, Miettinen M. KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *Semin Diagn Pathol*. 2006 May;23(2):91–102.
6. Blay JY, Bonvalot S, Casali P, Choi H, Debiec-Richter M, Dei Tos AP, et al. Consensus meeting for the management of gastrointestinal stromal tumors. Report of the GIST Consensus Conference of 20-21 March 2004, under the auspices of ESMO. *Ann Oncol*. 2005;16(4):566–78.
7. Fletcher CDM, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ, et al. Diagnosis of Gastrointestinal Stromal Tumors: A Consensus Approach. *Int J Surg Pathol Int J Surg Pathol*. 2002;10(102):81–8981.
8. Joensuu H. Risk stratification of patients diagnosed with gastrointestinal stromal tumor. *Hum Pathol*. 2008;39(10):1411–9.
9. Poveda A, García del Muro X, López-Guerrero JA, Cubedo R, Martínez V, Romero I, et al. GEIS guidelines for gastrointestinal sarcomas (GIST). *Cancer Treat Rev*. 2017;55:107–19.
10. Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M, Andersson LC, Tervahartiala P, Tuveson D, Silberman S, Capdeville R, Dimitrijevic S, Druker B DG. Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *English J*. 2001;344(14):1052–6.
11. Heinrich MC, Owzar K, Corless CL, Hollis D, Borden EC, Fletcher CDM, 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 gr. *J Clin Oncol*. 2008;26(33):5360–7.

12. Wozniak A, Rutkowski P, Schöffski P, Ray-Coquard I, Hostein I, Schildhaus HU, 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.
13. Gervaz P, Huber O, Morel P. Surgical management of gastrointestinal stromal tumours. *Br J Surg*. 2009;96(6):567–78.
14. Gold JS, DeMatteo RP. Combined Surgical and Molecular Therapy. *Ann Surg* [Internet]. 2006;244(2):176–84. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00000658-200608000-00003>
15. DeMatteo RP, Lewis JJ, Leung D, Mudan SS, Woodruff JM, Brennan MF. Two hundred gastrointestinal stromal tumors: recurrence patterns and prognostic factors for survival. *Ann Surg* [Internet]. 2000;231(1):51–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10636102%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1420965>
16. Ye Y jiang, Gao Z dong, Poston GJ, Wang S. Diagnosis and multi-disciplinary management of hepatic metastases from gastrointestinal stromal tumour (GIST). *Eur J Surg Oncol* [Internet]. 2009;35(8):787–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejso.2009.01.003>
17. Ng E, Pollock RE, Ph D, Munsell MF. Prognostic Factors Influencing Survival in Gastrointestinal Leiomyosarcomas. :68–77.
18. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2003 Mar;348(11):994–1004.
19. Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M, Andersson LC, Tervahartiala P, Tuveson D, et al. Effect of the Tyrosine Kinase Inhibitor STI571 in a Patient with a Metastatic Gastrointestinal Stromal Tumor. *N Engl J Med* [Internet]. 2001 Apr 5;344(14):1052–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM200104053441404>
20. Joensuu H, Eriksson M, K SH, al et. One vs three years of adjuvant imatinib for operable gastrointestinal stromal tumor: A randomized trial. *JAMA* [Internet]. 2012 Mar 28;307(12):1265–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2012.347>
21. Demetri GD, van Oosterom AT, Garrett CR, Blackstein ME, Shah MH, Verweij J, 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(9544):1329–38.
22. Demetri GD, Reichardt P, Kang Y, Blay J, Rutkowski P, Gelderblom H, et al. Efficacy and safety of regorafenib for advanced gastrointestinal stromal tumours after failure of imatinib and sunitinib: an international, multicentre, prospective, randomised, placebocontrolled phase 3 trial (GRID). *Lancet*. 2013;381(9863):1–17.
23. Miettinen M, Wang Z-F, Lasota J. DOG1 Antibody in the Differential Diagnosis of

- Gastrointestinal Stromal Tumors: A Study of 1840 Cases. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(9):1401–8.
24. Miettinen M, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 1765 cases with long-term follow-up. *AmJSurgPathol*. 2005;29(1):52–68.
  25. Miettinen M, Makhoul H, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors of the jejunum and ileum: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 906 cases before imatinib with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2006 Apr;30(4):477–89. Available from: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=16625094&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers3://publication/uuid/1D1C695C-50AC-45D5-9988-13F2C83BA7AD>
  26. Gold JS, Gönen M, Gutiérrez A. Development and Validation of a Prognostic Nomogram for Recurrence-Free Survival after Complete Surgical Resection of Localized, Primary Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST): A Retrospective Analysis. *Lancet Oncol*. 2009;10(11):1045–52.
  27. Tran T, Davila JA, El-Serag HB. The epidemiology of malignant gastrointestinal stromal tumors: An analysis of 1,458 cases from 1992 to 2000. *Am J Gastroenterol*. 2005;100(1):162–8.
  28. Blanke C, Eisenberg BL HM. Epidemiology of GIST. :100(10):2366.
  29. Søreide K, Sandvik OM, Søreide JA, Giljaca V, Jureckova A, Bulusu VR. Global epidemiology of gastrointestinal stromal tumours (GIST): A systematic review of population-based cohort studies. *Cancer Epidemiol* [Internet]. 2016;40:39–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canep.2015.10.031>
  30. Joensuu H, Hohenberger P, Corless CL. Gastrointestinal stromal tumour. *Lancet* [Internet]. 2013;382(9896):973–83. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60106-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60106-3)
  31. Boikos SA, Stratakis CA. The genetic landscape of gastrointestinal stromal tumor lacking KIT and PDGFRA mutations. *Endocrine*. 2014;47(2):401–8.
  32. Miettinen M, Majidi M, Lasota J, Miettinen M, Lasota J, Nishida T, et al. Pathology and diagnostic criteria of gastrointestinal stromal tumors (GISTs): a review. *Eur J Cancer* [Internet]. 2002;38:S39–51. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959804902806025>
  33. Hirota S, Nishida T, Isozaki K, Taniguchi M, Nishikawa K, Ohashi A, et al. Familial gastrointestinal stromal tumors associated with dysphagia and novel type germline mutation of KIT gene. *Gastroenterology*. 2002;122(5):1493–9.
  34. Oudijk L, Gaal J, Korpershoek E, van Nederveen FH, Kelly L, Schiavon G, et al. SDHA mutations in adult and pediatric wild-type gastrointestinal stromal tumors. *Mod Pathol* [Internet]. 2013;26(3):456–63. Available from:



<http://www.nature.com/doi/10.1038/modpathol.2012.186>

35. Valencia E, Wasif Saif M. Neurofibromatosis type 1 and GIST: Is there a correlation? *Anticancer Res.* 2014;34(10):5609–12.
36. Zöller ME1, Rembeck B, Odén A, Samuelsson M AL. Malignant and benign tumors in patients with neurofibromatosis type 1 in a defined Swedish population. *Cancer.* 1997;79(11):2125-31.
37. Jahn SW, Liegl-Atzwanger B. Wild-type GIST: A comprehensive review. *Memo - Mag Eur Med Oncol.* 2014;7(1):34–8.
38. Poveda A, del Muro XG, Lopez-Guerrero JA, Martinez V, Romero I, Valverde C, et al. GEIS 2013 guidelines for gastrointestinal sarcomas (GIST). *Cancer Chemother Pharmacol.* 2014 Nov;74(5):883–98.
39. Menon L, Buscaglia JM. Endoscopic approach to subepithelial lesions. *Therap Adv Gastroenterol.* 2014 May;7(3):123–30.
40. Hunt GC, Smith PP, Faigel DO. Yield of tissue sampling for submucosal lesions evaluated by EUS. *Gastrointest Endosc.* 2003 Jan;57(1):68–72.
41. Rodriguez SA, Faigel DO. Endoscopic diagnosis of gastrointestinal stromal cell tumors. *Curr Opin Gastroenterol.* 2007 Sep;23(5):539–43.
42. Palazzo L, Landi B, Cellier C, Cuillerier E, Roseau G, Barbier JP. Endosonographic features predictive of benign and malignant gastrointestinal stromal cell tumours. *Gut.* 2000 Jan;46(1):88–92.
43. Shah P, Gao F, Edmundowicz SA, Azar RR, Early DS. Predicting malignant potential of gastrointestinal stromal tumors using endoscopic ultrasound. *Dig Dis Sci.* 2009 Jun;54(6):1265–9.
44. Brand B, Oesterhelweg L, Binmoeller KF, Sriram PVJ, Bohnacker S, Seewald S, et al. Impact of endoscopic ultrasound for evaluation of submucosal lesions in gastrointestinal tract. *Dig Liver Dis.* 2002 Apr;34(4):290–7.
45. Kim GH, Park DY, Kim S, Kim DH, Kim DH, Choi CW, et al. Is it possible to differentiate gastric GISTs from gastric leiomyomas by EUS? *World J Gastroenterol.* 2009 Jul;15(27):3376–81.
46. Nguyen VX, Nguyen CC, Li B, Das A. Digital image analysis is a useful adjunct to endoscopic ultrasonographic diagnosis of subepithelial lesions of the gastrointestinal tract. *J Ultrasound Med.* 2010 Sep;29(9):1345–51.
47. Mekky MA, Yamao K, Sawaki A, Mizuno N, Hara K, Nafeh MA, et al. Diagnostic utility of EUS-guided FNA in patients with gastric submucosal tumors. *Gastrointest Endosc.* 2010 May;71(6):913–9.
48. Fu K, Eloubeidi MA, Jhala NC, Jhala D, Chhieng DC, Eltoum I-EA. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumor by endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy--a potential pitfall. *Ann Diagn Pathol.* 2002 Oct;6(5):294–301.
49. Hong X, Choi H, Loyer EM, Benjamin RS, Trent JC, Charnsangavej C. Gastrointestinal

- stromal tumor: role of CT in diagnosis and in response evaluation and surveillance after treatment with imatinib. *Radiographics*. 2006;26(2):481–95.
50. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009 Jan;45(2):228–47.
  51. Schiavon G, Ruggiero A, Schoffski P, van der Holt B, Bekers DJ, Eechoute K, et al. Tumor volume as an alternative response measurement for imatinib treated GIST patients. *PLoS One*. 2012;7(11):e48372.
  52. Garcia-Figueiras R, Goh VJ, Padhani AR, Baleato-Gonzalez S, Garrido M, Leon L, et al. CT perfusion in oncologic imaging: a useful tool? *AJR Am J Roentgenol*. 2013 Jan;200(1):8–19.
  53. Graser A, Johnson TRC, Chandarana H, Macari M. Dual energy CT: preliminary observations and potential clinical applications in the abdomen. *Eur Radiol*. 2009 Jan;19(1):13–23.
  54. Antoch G, Freudenberg LS, Beyer T, Bockisch A, Debatin JF. To enhance or not to enhance? 18F-FDG and CT contrast agents in dual-modality 18F-FDG PET/CT. *J Nucl Med*. 2004 Jan;45 Suppl 1:56S–65S.
  55. Van den Abbeele AD. The lessons of GIST--PET and PET/CT: a new paradigm for imaging. *Oncologist*. 2008;13 Suppl 2:8–13.
  56. Wahl RL, Jacene H, Kasamon Y, Lodge MA. From RECIST to PERCIST: Evolving Considerations for PET response criteria in solid tumors. *J Nucl Med*. 2009 May;50 Suppl 1:122S–50S.
  57. Kim KM, Dong WK, Woo SM, Jae BP, Cheol KP, Jin HS, et al. Gastrointestinal stromal tumors in Koreans: It's incidence and the clinical, pathologic and immunohistochemical findings. *J Korean Med Sci*. 2005;20(6):977–84.
  58. Demetri GD, von Mehren M, Antonescu CR, DeMatteo RP, Ganjoo KN, Maki RG, Pisters PW, Raut CP, Riedel RF, Schuetze S, Sundar HM, Trent JC WJ. NCCN Task Force Report: Update on the Management of Patients with Gastrointestinal Stromal Tumors. *J Natl Compr Canc Netw*. 2010;8 Suppl 2(S1-41):quiz S42-4.
  59. Heinrich MC, Corless CL, Demetri GD, Blanke CD, von Mehren M, Joensuu H, et al. Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. *J Clin Oncol* [Internet]. 2003 Dec 1;21(23):4342–9. Available from: <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.04.190>
  60. Liegl B, Hornick JL, Corless CL, Fletcher CDM. Monoclonal Antibody DOG1.1 Shows Higher Sensitivity Than KIT in the Diagnosis of Gastrointestinal Stromal Tumors, Including Unusual Subtypes. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2009;33(3). Available from: [http://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/2009/03000/Monoclonal\\_Antibody\\_DOG1\\_1\\_Show\\_s\\_Higher.14.aspx](http://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/2009/03000/Monoclonal_Antibody_DOG1_1_Show_s_Higher.14.aspx)
  61. Koo D-H, Ryu M-H, Kim K-M, Yang H-K, Sawaki A, Hirota S, et al. Asian Consensus

- Guidelines for the Diagnosis and Management of Gastrointestinal Stromal Tumor. *Cancer Res Treat* [Internet]. 2016;48(4):1155–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27384163> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5080813>
62. Kang G-H, Srivastava A, Kim YE, Park H-J, Park CK, Sohn TS, et al. DOG1 and PKC- $\theta$  are useful in the diagnosis of KIT-negative gastrointestinal stromal tumors. *Mod Pathol* [Internet]. 2011;24(6):866–75. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/modpathol.2011.11>
  63. Kim K-M, Kang DW, Moon WS, Park JB, Park CK, Sohn JH, et al. PKC $\theta$  expression in gastrointestinal stromal tumor. *Mod Pathol* [Internet]. 2006;19(11):1480–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16892012>
  64. Miettinen M, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal Stromal Tumors of the Stomach: A Clinicopathologic, Immunohistochemical, and Molecular Genetic Study of 1765 Cases With Long-term Follow-up. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2005;29(1). Available from: [http://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/2005/01000/Gastrointestinal\\_Stromal\\_Tumors\\_of\\_the\\_Stomach\\_\\_A.6.aspx](http://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/2005/01000/Gastrointestinal_Stromal_Tumors_of_the_Stomach__A.6.aspx)
  65. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: pathology and prognosis at different sites. *Semin Diagn Pathol*. 2006 May;23(2):70–83.
  66. Takahashi T, Nakajima K, Nishitani A, Souma Y, Hirota S, Sawa Y, et al. An enhanced risk-group stratification system for more practical prognostication of clinically malignant gastrointestinal stromal tumors. *Int J Clin Oncol*. 2007 Oct;12(5):369–74.
  67. Rutkowski P, Bylina E, Wozniak A, Nowecki ZI, Osuch C, Matlok M, et al. Validation of the Joensuu risk criteria for primary resectable gastrointestinal stromal tumour - The impact of tumour rupture on patient outcomes. *Eur J Surg Oncol*. 2011;37(10):890–6.
  68. Yanagimoto Y, Takahashi T, Muguruma K, Toyokawa T, Kusanagi H, Omori T, et al. Re-appraisal of risk classifications for primary gastrointestinal stromal tumors (GISTs) after complete resection: indications for adjuvant therapy. *Gastric Cancer*. 2015;18(2):426–33.
  69. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A E. *AJCC Cancer Staging Handbook*. 7th ed. New York: Springer; 2010.
  70. Corless CL, Barnett CM, Heinrich MC. Gastrointestinal stromal tumours: origin and molecular oncology. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2011 Dec;11(12):865–78. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc3143>
  71. Debiec-Rychter M, Sciot R, Le Cesne A, Schlemmer M, Hohenberger P, van Oosterom AT, et al. KIT mutations and dose selection for imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumours. *Eur J Cancer*. 2006;42(8):1093–103.
  72. Miettinen M, Wang Z-F, Sarlomo-Rikala M, Osuch C, Rutkowski P, Lasota J. Succinate dehydrogenase-deficient GISTs: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 66 gastric GISTs with predilection to young age. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(11):1712–21.

73. Pawson T. Regulation and targets of receptor tyrosine kinases. *Eur J Cancer*. 2002 Sep;38 Suppl 5:S3-10.
74. Fletcher JA. Role of KIT and platelet-derived growth factor receptors as oncoproteins. *Semin Oncol* [Internet]. 2004 Nov 15;31:4–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.seminoncol.2004.03.034>
75. Mol CD, Dougan DR, Schneider TR, Skene RJ, Kraus ML, Scheibe DN, et al. Structural basis for the autoinhibition and STI-571 inhibition of c-Kit tyrosine kinase. *J Biol Chem*. 2004;279(30):31655–63.
76. Blume-Jensen P, Claesson-Welsh L, Siegbahn A, Zsebo KM, Westermarck B, Heldin CH. Activation of the human c-kit product by ligand-induced dimerization mediates circular actin reorganization and chemotaxis. *Embo J* [Internet]. 1991;10(13):4121–8. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=1721869](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1721869)
77. Maeda H, Yamagata a, Nishikawa S, Yoshinaga K, Kobayashi S, Nishi K, et al. Requirement of c-kit for development of intestinal pacemaker system. *Development*. 1992;116(2):369–75.
78. Chen H, Hirota S, Isozaki K, Sun H, Ohashi a, Kinoshita K, et al. Polyclonal nature of diffuse proliferation of interstitial cells of Cajal in patients with familial and multiple gastrointestinal stromal tumours. *Gut*. 2002;51(6):793–6.
79. Agaimy A, Wünsch PH, Hofstaedter F, Blaszyk H, Rümmele P, Gaumann A, et al. Minute Gastric Sclerosing Stromal Tumors (GIST Tumorlets) Are Common in Adults and Frequently Show c-KIT Mutations. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2007;31(1). Available from: [http://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/2007/01000/Minute\\_Gastric\\_Sclerosing\\_Stromal\\_Tumors\\_\\_GIST.14.aspx](http://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/2007/01000/Minute_Gastric_Sclerosing_Stromal_Tumors__GIST.14.aspx)
80. Debiec-Rychter M, Cools J, Dumez H, Sciot R, Stul M, Mentens N, 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(2):270–9.
81. Lasota J, Miettinen M. KIT exon 11 deletion-inversions represent complex mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Genet Cytogenet*. 2007 May;175(1):69–72.
82. Longley BJ, Reguera MJ, Ma Y. Classes of c-KIT activating mutations: proposed mechanisms of action and implications for disease classification and therapy. *Leuk Res*. 2001 Jul;25(7):571–6.
83. Chan PM, Ilangumaran S, Rose J La, Chakrabartty A. Autoinhibition of the Kit Receptor Tyrosine Kinase by the Cytosolic Juxtamembrane Region Autoinhibition of the Kit Receptor Tyrosine Kinase by the Cytosolic Juxtamembrane Region. *Society*. 2003;23(9):3067–78.

84. Rubin BP, Heinrich MC, Corless CL. Gastrointestinal stromal tumour. *Lancet* (London, England). 2007 May;369(9574):1731–41.
85. Hartmann K, Wardelmann E, Ma Y, Merkelbach-Bruse S, Preussner LM, Woolery C, et al. Novel germline mutation of KIT associated with familial gastrointestinal stromal tumors and mastocytosis. *Gastroenterology*. 2005;129(3):1042–6.
86. de Raedt T, Cools J, Debiec-Rychter M, Brems H, Mentens N, Sciot R, et al. Intestinal Neurofibromatosis Is a Subtype of Familial GIST and Results From a Dominant Activating Mutation in PDGFRA. *Gastroenterology*. 2006;131(6):1907–12.
87. Lasota J, Miettinen M. Clinical significance of oncogenic KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumours. *Histopathology*. 2008;53(3):245–66.
88. Taniguchi M, Nishida T, Hirota S, Isozaki K, Ito T, Nomura T, et al. Effect of c- kit Mutation on Prognosis of Gastrointestinal Stromal Tumors Effect of c- kit Mutation on Prognosis of Gastrointestinal Stromal Tumors 1. *Cancer Res*. 1999;34:4297–300.
89. Martín J, Poveda A, Llombart-Bosch A, Ramos R, López-Guerrero JA, García Del Muro J, 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(25):6190–8.
90. Lasota J, Dansonka-Mieszkowska A, Stachura T, Schneider-Stock R, Kallajoki M, E. Steigen S, et al. Gastrointestinal Stromal Tumors with Internal Tandem Duplications in 3' End of KIT Juxtamembrane Domain Occur Predominantly in Stomach and Generally Seem to Have a Favorable Course. *Mod Pathol* [Internet]. 2003;16(12):1257–64. Available from: <http://modpath.uscapjournals.org/cgi/doi/10.1097/01.MP.0000097365.72526.3E>
91. Antonescu CR, Sommer G, Sarran L, Tschernyavsky SJ, Riedel E, Woodruff JM, 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(9):3329–37.
92. Lasota J, Kopczynski J, Sarlomo-Rikala M, Schneider-Stock R, Stachura T, Kordek R, et al. KIT 1530ins6 mutation defines a subset of predominantly malignant gastrointestinal stromal tumors of intestinal origin. *Hum Pathol*. 2003 Dec;34(12):1306–12.
93. Lasota J, Corless CL, Heinrich MC, Debiec-Rychter M, Sciot R, Wardelmann E, 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.
94. Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, McGreevey L, Chen C-J, Joseph N, et al. PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science*. 2003 Jan;299(5607):708–10.
95. 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*

- Investig [Internet]. 2004;84(7):874–83. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/labinvest.3700122>
96. Corless CL, Schroeder A, Griffith D, Town A, McGreevey L, Harrell P, et al. PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors: Frequency, spectrum and in vitro sensitivity to imatinib. *J Clin Oncol*. 2005;23(23):5357–64.
  97. Doyle LA, Hornick JL. Gastrointestinal stromal tumours: From KIT to succinate dehydrogenase. *Histopathology*. 2014;64(1):53–67.
  98. Corless CL. Gastrointestinal stromal tumors: what do we know now? *Mod Pathol* [Internet]. 2014;27(S1):S1–16. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/modpathol.2013.173>
  99. Janeway KA, Kim SY, Lodish M, Nosé V, Rustin P, Gaal J, et al. Defects in succinate dehydrogenase in gastrointestinal stromal tumors lacking KIT and PDGFRA mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2011;108(1):314–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3017134&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  100. Gill AJ. Succinate dehydrogenase (SDH) and mitochondrial driven neoplasia. *Pathology*. 2012 Jun;44(4):285–92.
  101. Gill AJ, Chou A, Vilain R, Clarkson A, Lui M, Jin R, et al. Immunohistochemistry for SDHB divides gastrointestinal stromal tumors (GISTs) into 2 distinct types. *Am J Surg Pathol*. 2010 May;34(5):636–44.
  102. Gaal J, Stratakis CA, Carney JA, Ball ER, Korpershoek E, Lodish MB, et al. SDHB immunohistochemistry: a useful tool in the diagnosis of Carney–Stratakis and Carney triad gastrointestinal stromal tumors. *Mod Pathol* [Internet]. 2011;24(1):147–51. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/modpathol.2010.185>
  103. Miettinen M, Killian JK, Wang Z-F, Lasota J, Lau C, Jones L, et al. Immunohistochemical loss of succinate dehydrogenase subunit A (SDHA) in gastrointestinal stromal tumors (GISTs) signals SDHA germline mutation. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2013;37(2):234–40. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3545041&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  104. Carney JA, Stratakis CA. Familial paraganglioma and gastric stromal sarcoma: A new syndrome distinct from the Carney triad. *Am J Med Genet*. 2002;
  105. Zhang L, Smyrk TC, Young WF, Stratakis C a, Carney JA. Gastric stromal tumors in Carney triad are different clinically, pathologically, and behaviorally from sporadic gastric gastrointestinal stromal tumors: findings in 104 cases. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(1):53–64.
  106. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterol Clin North Am* [Internet]. 2013;42(2):399–415. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23639648>

107. Agaram NP, Laquaglia MP, Ustun B, Guo T, C.wong G, Socci ND, et al. Molecular characterization of pediatric gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res.* 2008;14(10):3204–15.
108. Pappo AS, Janeway K, Laquaglia M, Kim SY. Special considerations in pediatric gastrointestinal tumors. *J Surg Oncol.* 2011;
109. Andersson J, Sihto H, Meis-Kindblom JM, Joensuu H, Nupponen N, Kindblom L-G. NF1-associated gastrointestinal stromal tumors have unique clinical, phenotypic, and genotypic characteristics. *Am J Surg Pathol.* 2005;
110. Miettinen M, Fetsch JF, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors in patients with neurofibromatosis 1: a clinicopathologic and molecular genetic study of 45 cases. *Am J Surg Pathol.* 2006;
111. Agaram NP, Wong GC, Guo T, Maki RG. Novel V600E BRAF Mutations in Imatinib-Naive and Imatinib-Resistant Gastrointestinal Stromal Tumors. *Genes Chromosom Cancer.* 2008;
112. Agaimy a, Terracciano LM, Dirnhofer S, Tornillo L, Foerster a, Hartmann a, et al. V600E BRAF mutations are alternative early molecular events in a subset of KIT/PDGFR $\alpha$  wild-type gastrointestinal stromal tumours. *J Clin Pathol.* 2009;
113. Hostein I, Faur N, Primois C, Boury F, Denard J, Emile JF, et al. BRAF mutation status in gastrointestinal stromal tumors. *AmJClinPathol.* 2010;
114. Daniels M, Lurkin I, Pauli R, Erbstößer E, Hildebrandt U, Hellwig K, et al. Spectrum of KIT/PDGFR $\alpha$ /BRAF mutations and Phosphatidylinositol-3-Kinase pathway gene alterations in gastrointestinal stromal tumors (GIST). *Cancer Lett.* 2011;
115. Polkowski M, Larghi a, Vilmann P, Giovannini M, Heresbach D, Pujol B. Indications , results , and clinical impact of endoscopic ultrasound ( EUS ) -guided sampling in gastroenterology : European Society of Gastrointestinal Endoscopy ( ESGE ) Clinical Guideline. *Endoscopy.* 2011;2011(March):897–909.
116. Kang Y-K, Kim K-M, Sohn T, Choi D, Kang HJ, Ryu M-H, et al. Clinical practice guideline for accurate diagnosis and effective treatment of gastrointestinal stromal tumor in Korea. *J Korean Med Sci.* 2010;25(11):1543–52.
117. Mccarter MD, Antonescu CR, Ballman K V, Maki G, Pisters PWT, Demetri GD, et al. Microscopically positive margins for primary gastrointestinal stromal tumors: analysis of risk factors and tumor recurrence. 2013;215(November 2011):53–9.
118. Kawanowa K, Sakuma Y, Sakurai S, Hishima T, Iwasaki Y, Saito K, et al. High incidence of microscopic gastrointestinal stromal tumors in the stomach. *Hum Pathol.* 2006 Dec;37(12):1527–35.
119. Nilsson B, Bumming P, Meis-Kindblom JM, Oden A, Dortok A, Gustavsson B, 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 Feb;103(4):821–9.

120. Demetri GD, von Mehren M, Antonescu CR, DeMatteo RP, Ganjoo KN, Maki RG, et al. NCCN Task Force report: update on the management of patients with gastrointestinal stromal tumors. *J Natl Compr Canc Netw*. 2010 Apr;8 Suppl 2:S1-41; quiz S42-4.
121. Tan Y, Tan L, Lu J, Huo J, Liu D. Endoscopic resection of gastric gastrointestinal stromal tumors. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2017;2:115.
122. Sun S, Ge N, Wang C, Wang M, Lu Q. Endoscopic band ligation of small gastric stromal tumors and follow-up by endoscopic ultrasonography. *Surg Endosc*. 2007 Apr;21(4):574–8.
123. Yamamoto H, Yube T, Isoda N, Sato Y, Sekine Y, Higashizawa T, et al. A novel method of endoscopic mucosal resection using sodium hyaluronate. *Gastrointest Endosc*. 1999 Aug;50(2):251–6.
124. Lee I-L, Lin PY, Tung S-Y, Shen C-H, Wei K-L, Wu C-S. Endoscopic submucosal dissection for the treatment of intraluminal gastric subepithelial tumors originating from the muscularis propria layer. *Endoscopy*. 2006 Oct;38(10):1024–8.
125. Jeong I Du, Jung SW, Bang S-J, Shin JW, Park NH, Kim DH. Endoscopic enucleation for gastric subepithelial tumors originating in the muscularis propria layer. *Surg Endosc*. 2011 Feb;25(2):468–74.
126. Suzuki H, Ikeda K. Endoscopic mucosal resection and full thickness resection with complete defect closure for early gastrointestinal malignancies. *Endoscopy*. 2001 May;33(5):437–9.
127. Shi D, Li R, Chen W, Zhang D, Zhang L, Guo R, et al. Application of novel endoloops to close the defects resulted from endoscopic full-thickness resection with single-channel gastroscope: a multicenter study. *Surg Endosc*. 2017 Feb;31(2):837–42.
128. Wang H, Feng X, Ye S, Wang J, Liang J, Mai S, et al. A comparison of the efficacy and safety of endoscopic full-thickness resection and laparoscopic-assisted surgery for small gastrointestinal stromal tumors. *Surg Endosc*. 2016 Aug;30(8):3357–61.
129. Xu M-D, Cai M-Y, Zhou P-H, Qin X-Y, Zhong Y-S, Chen W-F, et al. Submucosal tunneling endoscopic resection: a new technique for treating upper GI submucosal tumors originating from the muscularis propria layer (with videos). *Gastrointest Endosc*. 2012 Jan;75(1):195–9.
130. Zhang Q, Wang F, Wei G, Cai J-Q, Zhi F-C, Bai Y. Endoscopic resection of gastric submucosal tumors: A comparison of endoscopic nontunneling with tunneling resection and a systematic review. *Saudi J Gastroenterol*. 2017;23(1):52–9.
131. Hiki N, Yamamoto Y, Fukunaga T, Yamaguchi T, Nunobe S, Tokunaga M, et al. Laparoscopic and endoscopic cooperative surgery for gastrointestinal stromal tumor dissection. *Surg Endosc*. 2008 Jul;22(7):1729–35.
132. Karakousis GC, Singer S, Zheng J, Gonen M, Coit D, DeMatteo RP, et al. Laparoscopic Versus Open Gastric Resections for Primary Gastrointestinal Stromal Tumors (GISTs): A Size-Matched Comparison. *Ann Surg Oncol*. 2011;



133. Pucci MJ, Berger AC, Lim PW, Chojnacki KA, Rosato EL, Palazzo F. Laparoscopic approaches to gastric gastrointestinal stromal tumors: An institutional review of 57 cases. *Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques*. 2012.
134. Sasaki A, Koeda K, Obuchi T, Nakajima J, Nishizuka S, Terashima M, et al. Tailored laparoscopic resection for suspected gastric gastrointestinal stromal tumors. *Surgery*. 2010;
135. Demetri GD, Benjamin R, Blanke CD, Choi H, Corless C, DeMatteo RP, et al. NCCN Task Force report: optimal management of patients with gastrointestinal stromal tumor (GIST)--expansion and update of NCCN clinical practice guidelines. *J Natl Compr Canc Netw*. 2004 May;2 Suppl 1:S-1-26; quiz 27-30.
136. Novitsky YW, Kercher KW, Sing RF, Heniford BT. Long-term outcomes of laparoscopic resection of gastric gastrointestinal stromal tumors. *Ann Surg* [Internet]. 2006;243(6):738-45; discussion 745-7. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1570564&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
137. Walsh RM, Ponsky J, Brody F, Matthews BD, Heniford BT. Combined endoscopic/laparoscopic intragastric resection of gastric stromal tumors. *J Gastrointest Surg*. 2003;7(3):386–92.
138. Koh Y-X, Chok A-Y, Zheng H-L, Tan C-S, Chow PKH, Wong W-K, et al. A Systematic Review and Meta-Analysis Comparing Laparoscopic Versus Open Gastric Resections for Gastrointestinal Stromal Tumors of the Stomach. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2013;20(11):3549–60. Available from: <http://link.springer.com/10.1245/s10434-013-3051-1>
139. Buchs NC, Bucher P, Pugin F, Hagen ME, Morel P. Robot-assisted oncologic resection for large gastric gastrointestinal stromal tumor: a preliminary case series. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2010 Jun;20(5):411–5.
140. Moriyama H, Ishikawa N, Kawaguchi M, Hirose K, Watanabe G. Robot-assisted laparoscopic resection for gastric gastrointestinal stromal tumor. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2012 Jun;22(3):e155-6.
141. Ortiz-Oshiro E, Exposito PB, Sierra JM, Gonzalez JD, Barbosa DS, Fernandez-Represa JA. Laparoscopic and robotic distal gastrectomy for gastrointestinal stromal tumour: case report. *Int J Med Robot*. 2012 Dec;8(4):491–5.
142. Desai J, Shankar S, Heinrich MC, Fletcher JA, Fletcher CD, Manola J, et al. Clonal evolution of resistance to imatinib in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2007;13(18 Pt 1):5398–405. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17875769>
143. Sym SJ, Ryu M-H, Lee J-L, Chang HM, Kim T-W, Kim HC, et al. Surgical intervention following imatinib treatment in patients with advanced gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *J Surg Oncol*. 2008;98(1):27–33.

144. Raut CP, Posner M, Desai J, Morgan JA, George S, Zahrieh D, et al. Surgical management of advanced gastrointestinal stromal tumors after treatment with targeted systemic therapy using kinase inhibitors. *J Clin Oncol*. 2006;24(15):2325–31.
145. An HJ, Ryu M-H, Ryoo B-Y, Sohn BS, Kim K-H, Oh ST, et al. The effects of surgical cytoreduction prior to imatinib therapy on the prognosis of patients with advanced GIST. *Ann Surg Oncol* [Internet]. 2013;20(13):4212–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24052319>
146. Rutkowski P, Ruka W. Emergency surgery in the era of molecular treatment of solid tumours. *The Lancet Oncology*. 2009.
147. Mabile M, Vanel D, Albiter M, Le Cesne A, Bonvalot S, Le Péchoux C, et al. Follow-up of hepatic and peritoneal metastases of gastrointestinal tumors (GIST) under Imatinib therapy requires different criteria of radiological evaluation (size is not everything!!!). *Eur J Radiol*. 2009;
148. Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, Van den Abbeele AD, Eisenberg B, Roberts PJ, Heinrich MC, Tuveson DA, Singer S, Janicek M, Fletcher JA, Silverman SG, Silberman SL, Capdeville R, Kiese B, Peng B, Dimitrijevic S, Druker BJ, Corless C, Fletcher CD JH. EFFICACY AND SAFETY OF IMATINIB MESYLATE IN ADVANCED GASTROINTESTINAL STROMAL TUMORS. 2002;347(7):472–80.
149. Dematteo RP, Ballman K V, Ph D, Antonescu CR, Maki G, Pisters PWT, et al. Placebo-Controlled Randomized Trial of Adjuvant Imatinib Mesylate Following the Resection of Localized, Primary Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST). *Lancet*. 2009;373(9669):1097–104.
150. Li J, Gong JF, Wu AW, Shen L. Post-operative imatinib in patients with intermediate or high risk gastrointestinal stromal tumor. *Eur J Surg Oncol*. 2011;37(4):319–24.
151. Agaimy A, Vassos N, Croner RS. Gastrointestinal manifestations of neurofibromatosis type 1 (Recklinghausen’s disease): clinicopathological spectrum with pathogenetic considerations. *Int J Clin Exp Pathol*. 2012;5(9):852–62.
152. Wang D, Zhang Q, Blanke CD, Demetri GD, Heinrich MC, Watson JC, et al. Phase II trial of neoadjuvant/adjuvant imatinib mesylate for advanced primary and metastatic/recurrent operable gastrointestinal stromal tumors: long-term follow-up results of radiation therapy oncology group 0132. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(4):1074–80.
153. Van Glabbeke M. Comparison of two doses of imatinib for the treatment of unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors: A meta-analysis of 1,640 patients. *J Clin Oncol*. 2010;28(7):1247–53.
154. Blanke CD, Rankin C, Demetri GD, Ryan CW, Von Mehren M, Benjamin RS, et al. Phase III randomized, intergroup trial assessing imatinib mesylate at two dose levels in patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing the kit receptor tyrosine kinase: S0033. *J Clin Oncol*. 2008;26(4):626–32.
155. Blay JY, Le Cesne A, Ray-Coquard I, Bui B, Duffaud F, Delbaldo C, 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(9):1107–13.
156. Blanke CD, Demetri GD, Von Mehren M, Heinrich MC, Eisenberg B, Fletcher JA, 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(4):620–5.
  157. Verweij J, Casali PG, Zalcberg J, Lescosne A. Progression-free survival in gastrointestinal stromal tumours with high-dose ... 2004;1127–34.
  158. Le Cesne A, Van Glabbeke M, Verweij J, Casali PG, Findlay M, Reichardt P, et al. Absence of progression as assessed by response evaluation criteria in solid tumors predicts survival in advanced GI stromal tumors treated with imatinib mesylate: The intergroup EORTC-ISG-AGITG phase III trial. *J Clin Oncol.* 2009;27(24):3969–74.
  159. Debiec-Rychter M, Dumez H, Judson I, Wasag B, Verweij J, Brown M, et al. Use of c-KIT/PDGFR $\alpha$  mutational analysis to predict the clinical response to imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumours entered on phase I and II studies of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *Eur J Cancer.* 2004;40(5):689–95.
  160. Cassier PA, Fumagalli E, Rutkowski P, Schöffski P, Van Glabbeke M, Debiec-Rychter M, et al. Outcome of patients with platelet-derived growth factor receptor alpha-mutated gastrointestinal stromal tumors in the tyrosine kinase inhibitor era. *Clin Cancer Res.* 2012;18(16):4458–64.
  161. Demetri GD, Wang Y, Wehrle E, Racine A, Nikolova Z, Blanke CD, et al. Imatinib plasma levels are correlated with clinical benefit in patients with unresectable/metastatic gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol.* 2009;27(19):3141–7.
  162. Heinrich MC, Corless CL, Blanke CD, Demetri GD, Joensuu H, Roberts PJ, et al. Molecular correlates of imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol.* 2006;24(29):4764–74.
  163. DeMatteo RP, Maki RG, Singer S, Gonen M, Brennan MF, Antonescu CR. Results of tyrosine kinase inhibitor therapy followed by surgical resection for metastatic gastrointestinal stromal tumor. *Ann Surg.* 2007;245(3):347–52.
  164. Hasegawa J, Kanda T, Hirota S, Fukuda M, Nishitani A, Takahashi T, et al. Surgical interventions for focal progression of advanced gastrointestinal stromal tumors during imatinib therapy. *Int J Clin Oncol.* 2007;12(3):212–7.
  165. Zalcberg JR, Verweij J, Casali PG, Le Cesne A, Reichardt P, Blay JY, 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(12):1751–7.
  166. Heinrich MC, Maki RG, Corless CL, Antonescu CR, Harlow A, Griffith D, 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(33):5352–9.
167. Kang YK, Ryu MH, Yoo C, Ryoo BY, Kim HJ, Lee JJ, Nam BH, Ramaiya N, Jagannathan J DG. Resumption of Imatinib dosing to control metastatic Gastrointestinal Stromal Tumors (GIST) after failure of Imatinib and Sunitinib: Results of a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial (RIGHT). *Lancet Oncol.* 2013;1175–1182.
  168. Raut CP, Wang Q, Manola J, Morgan J a, George S, Wagner AJ, et al. Cytoreductive surgery in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor treated with sunitinib malate. *Ann Surg Oncol.* 2010;17(2):407–15.
  169. Joensuu H, Vehtari A, Riihimäki J, Nishida T, Steigen SE, Brabec P, et al. Risk of recurrence of gastrointestinal stromal tumour after surgery: An analysis of pooled population-based cohorts. *Lancet Oncol* [Internet]. 2012 Mar 1 [cited 2017 Oct 1];13(3):265–74. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1470204511702996>
  170. Joensuu H, Reichardt P, Eriksson M, Hall KS, Vehtari A. Gastrointestinal Stromal Tumor: A Method for Optimizing the Timing of CT Scans in the Follow-up of Cancer Patients. *Radiology* [Internet]. 2014;271(1):96–106. Available from: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.13131040>
  171. Kim I-H, Kim I-H, Kwak S-G, Kim SW, Chae H-D. Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) of the stomach: a multicenter, retrospective study of curatively resected gastric GISTs. *Ann Surg Treat Res.* 2014 Dec;87(6):298–303.
  172. Kim M-C, Yook J-H, Yang H-K, Lee H-J, Sohn T-S, Hyung W-J, et al. Long-Term Surgical Outcome of 1057 Gastric GISTs According to 7th UICC/AJCC TNM System: Multicenter Observational Study From Korea and Japan. *Medicine (Baltimore).* 2015 Oct;94(41):e1526.
  173. Radenkovic G, Savic V, Mitic D, Grahovac S, Bjelakovic M, Krstic M. Development of c-kit immunopositive interstitial cells of Cajal in the human stomach. *J Cell Mol Med.* 2010 May;14(5):1125–34.
  174. An JY, Choi MG, Noh JH, Sohn TS, Kang WK, Park CK, et al. Gastric GIST: a single institutional retrospective experience with surgical treatment for primary disease. *Eur J Surg Oncol.* 2007 Oct;33(8):1030–5.
  175. Yamamoto K, Tsujinaka T, Takahashi T, Sato S, Nishiguchi Y, Nakashima Y, et al. Impact of the Japanese gastric cancer screening system on treatment outcomes in gastric gastrointestinal stromal tumor (GIST): an analysis based on the GIST registry. *Ann Surg Oncol.* 2015 Jan;22(1):232–9.
  176. Bucher P, Villiger P, Egger J-F, Buhler LH, Morel P. Management of gastrointestinal stromal tumors: from diagnosis to treatment. *Swiss Med Wkly.* 2004 Mar;134(11–12):145–53.
  177. Crosby JA, Catton CN, Davis A, Couture J, O’Sullivan B, Kandel R, et al. Malignant gastrointestinal stromal tumors of the small intestine: a review of 50 cases from a

- prospective database. *Ann Surg Oncol*. 2001;8(1):50–9.
178. Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, Van den Abbeele AD, Eisenberg B, Roberts PJ, et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med*. 2002 Aug;347(7):472–80.
  179. Poveda A, Martinez V, Serrano C, Sevilla I, Lecumberri MJ, de Beveridge RD, et al. SEOM Clinical Guideline for gastrointestinal sarcomas (GIST) (2016). *Clin Transl Oncol*. 2016 Dec;18(12):1221–8.
  180. Joensuu H, Eriksson M, Sundby Hall K, Reichardt A, Hartmann JT, Pink D, et al. Adjuvant Imatinib for High-Risk GI Stromal Tumor: Analysis of a Randomized Trial. *J Clin Oncol*. 2016 Jan;34(3):244–50.
  181. Joensuu H, Rutkowski P, Nishida T, Steigen SE, Brabec P, Plank L, et al. KIT and PDGFRA mutations and the risk of GI stromal tumor recurrence. *J Clin Oncol*. 2015 Feb;33(6):634–42.
  182. Andersson J, Bumming P, Meis-Kindblom JM, Sihto H, Nupponen N, Joensuu H, et al. Gastrointestinal stromal tumors with KIT exon 11 deletions are associated with poor prognosis. *Gastroenterology*. 2006 May;130(6):1573–81.
  183. Capelli L, Petracci E, Quagliuolo V, Saragoni L, Colombo P, Morgagni P, et al. Gastric GISTs: Analysis of c-Kit, PDGFRA and BRAF mutations in relation to prognosis and clinical pathological characteristics of patients - A GIRCG study. *Eur J Surg Oncol*. 2016 Aug;42(8):1206–14.

## BIOGRAFIJA

Dr Keramatollah Ebrahimi rođen je 20.03.1967. godine u Larestanu, Iran.

Osnovnu školu je završio u Iranu, a gimnaziju u Kuvajtu sa odličnim uspehom.

Medicinski fakultet u Beogradu upisao je 1987. godine, a diplomirao 1997. godine sa srednjom ocenom 8.03.

Opšti lekarski staž obavio je u Domu zdravlja "Dr Simo Milošević" na Čukarici i u klinikama Kliničkog centra Srbije.

Specijalizaciju iz opšte hirurgije je upisao 1999. godine, a specijalistički ispit je položio u maju 2004. godine sa odličnom ocenom.

Zvanje magistra medicinskih nauka stekao je u julu 2010. godine odbranom magistarskog rada pod nazivom: "*Značaj resekcionih hirurških procedura u lečenju primarnih nematastatskih gastrointestinalnih stromalnih tumora (GIST) želuca*"

Izabran je u zvanje kliničkog asistenta za užu naučnu oblast Hirurgija sa anesteziologijom (opšta hirurgija) na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu novembra 2012. godine, a reizabran u isto zvanje oktobra 2015. godine.

Studentski parlament Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu 2013. godine, povodom 4. aprila Dana studenata Univerziteta u Beogradu mu je dodelio zahvalnicu za izuzetnu posvećenost radu sa studentima.

Dr Keramatollah Ebrahimi je bio učesnik i predavač na više stručnih kongresa i simpozijuma.

Od oktobra 2003. godine zaposlen je na klinici za digestivnu hirurgiju - I hirurška klinika, kliničkog centra Srbije u Beogradu. Član je Srpskog lekarskog društva.

Koistraživač je u : *Study protocol TR 701-132. Third Phase "Randomized double-blind study comparing TR-701 FA and Linezolid in Ventilation Gram-positive Nosocomial Pneumonia"*.

Dr Keramatollah Ebrahimi je autor i koautor 34 stručna rada koji su objavljeni u referentnim stranim i domaćim časopisima.

Radovi dr Keramatollah Ebrahimija su citirani 21 put prema indeksnoj bazi SCOPUS, bez autocitata, *h index* 2.

Prilog 1.

## Izjava o autorstvu

Potpisani-a Keramatollah Ebrahimi

broj upisa \_\_\_\_\_

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

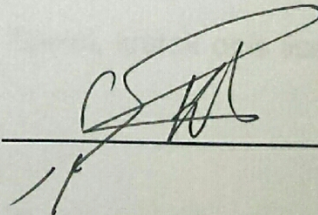
**Značaj mutacija u genima KIT i PDGFRA u evaluaciji lečenja bolesnika**

**operisanih zbog gastrointestinalnog stromalnog tumora želuca**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 13.07.2018.



\_\_\_\_\_

Prilog 2.

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Keramatollah Ebrahimi

Broj upisa \_\_\_\_\_

Studijski program Hirurgija

Naslov rada Značaj mutacija u genima KIT i PDGFRA u evaluaciji lečenja  
bolesnika operisanih zbog gastrointestinalnog stromalnog tumora želuca

Mentor Akademik profesor dr Predrag Peško

Potpisani Keramatollah Ebrahimi

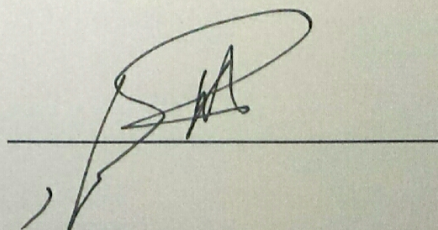
izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 13.07.2018.





**Prilog 3.**

## **Izjava o korišćenju**

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**Značaj mutacija u genima KIT i PDGFRA u evaluaciji lečenja bolesnika operisanih zbog gastrointestinalnog stromalnog tumora želuca**

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo

**2. Autorstvo - nekomercijalno**

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima

5. Autorstvo – bez prerade

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 13.07.2018.

