

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Características Genético-Moleculares de los Tumores Estromales Gastrointestinales (GIST)

José Buleje S ⁽¹⁾, Alejandro Yábar B ⁽²⁾, María Guevara-Fujita⁽¹⁾, Ricardo Fujita ⁽¹⁾.

RESUMEN

Los tumores estromales gastrointestinales (GIST) son neoplasias mesenquimales que típicamente surgen a nivel del estómago, intestino delgado, colon, y otros sitios en la cavidad abdominal y su identificación se ha incrementado por mejoras en los criterios de detección. La mayor parte de los tumores GIST son causados por mutaciones activadoras en los genes de receptores transmembranares tirosina quinasa c-KIT y receptor alpha del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFRA). Las mutaciones causales de GIST se restringen solo a ciertas regiones del gen que corresponden a importantes zonas funcionales de c-KIT o PDGFRA. Se reporta que hasta 70% de casos de GIST se debe a mutaciones en el exón 11 del gen c-Kit que corresponde a la región yuxtamembrana del receptor. La región y el tipo de mutación determinan diferencialmente cómo se desarrolla la neoplasia, el pronóstico y su respuesta a inhibidores de las tirosina quinasa como el Imatinib. Por tal motivo, el genotipado de KIT y PDGFRA es importante para el diagnóstico y establecimiento de la sensibilidad a los inhibidores tirosina quinasa.

PALABRAS CLAVE: Tumores estromales gastrointestinales. c-Kit. PDGFRA. Imatinib.

Rev. Gastroenterol. Perú; 2012; 32-4: 394-399

ABSTRACT

Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) are mesenchymal neoplasms typically arising in the stomach, small intestine, colon, and other sites in the abdominal cavity and its identification has improved dramatically mainly due to better criteria in its detection. Most GISTs tumors harbor activating mutations in the tyrosine kinase receptor c-KIT or platelet derived growth factor receptor-alpha (PDGFRA). Those mutations are restricted to a few regions corresponding to important functional domains of c-KIT or PDGFRA. Upto 70% of cases are due to mutations in exon 11 of c-KIT corresponding to its juxtamembrane region of the receptor. The location and type of mutation will differentially determine the development of the disease, its prognosis and the response to inhibitors of tyrosine kinases as Imatinib. For this reason, genotyping c-KIT and PDGFRA is important for GIST diagnosis and assessment of sensitivity to tyrosine kinase inhibitors.

KEY WORDS: Gastrointestinal stromal tumors, GIST, c-Kit, PDGFRA. Imatinib.

1. Centro de Genética y Biología Molecular (CGBM). Universidad San Martín de Porres (USMP). Lima. Perú.
2. Departamento de Anatomía Patológica. Hospital Nacional "E. Rebagliati M.". Lima. Perú.

INTRODUCCIÓN

En los últimos 20 años ha habido grandes avances en el entendimiento de los tumores estromales gastrointestinales (GISTs). Ello va desde la identificación de su fenotipo por el método de la inmunohistoquímica y las alteraciones moleculares que conllevan a estos tumores, hasta el conocimiento de su potencial biológico y el uso de efectivas terapias dirigidas con inhibidores de tirosina quinasa ⁽¹⁾.

Los tumores *GIST* son las neoplasias mesenquimales más comunes del tracto gastrointestinal. Estudios poblacionales reportan que la incidencia anual de tumores *GIST* esta en un rango de 6,5 a 14,5 por millón ⁽²⁾. Curiosamente la incidencia de *GIST* ha aumentado casi 10 veces debido a que el reciente sistema de clasificación de tumores mesenquimales gastrointestinales ha cambiado en poco mas de una década. Fletcher y colaboradores estimaron en el 2002 que la incidencia de *GISTs* incrementó de 300 – 500 por año a 5000 – 6000 por año, en parte debido al renovado interés y diagnóstico adecuado ⁽³⁾.

El lugar más común de origen de tumores *GIST* es el estómago (39 - 70%) y en el intestino delgado (31 - 45%), pero los tumores *GIST* pueden ubicarse en cualquier lugar a lo largo del tracto gastrointestinal o dentro del abdomen como tumor extra gastrointestinal ⁽⁴⁾. Se piensa que los tumores *GIST* se originan de las células intersticiales de Cajal (ICC). Las ICCs están localizadas dentro y alrededor del plexo mientérico y se cree que funcionan como células marcapasos intestinales que regulan la motilidad intestinal. Históricamente, los *GISTs* eran mal clasificados como leiomiomas o leiomiomas. Posteriormente, se ha determinado que los tumores *GIST* tienen diferentes características ultraestructurales y marcadores inmunofenotípicos comparados con músculo liso y tumores de músculo liso ⁽⁵⁾.

Los tumores *GIST* gástricos han sido identificados en pacientes desde 8 a 95 años de edad. Sin embargo, el pico de edad de diagnóstico es alrededor de 60 años en muchas series de pacientes estudiados, con menos del 10% de tumores descubiertos antes de los 40 años ⁽⁶⁾. Existe una ligera predominancia de varones en pacientes adultos, mientras varios *GISTs* pediátricos se originan en mujeres ^(7, 8).

Aproximadamente el 95% de tumores *GIST* gástricos expresan el receptor tirosina quinasa c-KIT, también conocido como CD117. Sin embargo la expresión de otros marcadores es más variable (por ejemplo, el 70% expresa CD34 y el 5% expresa Desmina). CD117, CD34 y Desmina, son una combinación usual de marcadores para confirmar el diagnóstico de tumores *GIST* ^(9, 10, 11).

GENES C-KIT Y PDGFRA

Los genes c-KIT y PDGFRA están ubicados en la región cromosómica 4q12 y codifican glicoproteínas homólogas transmembrana que son miembros de la familia de receptores tirosina quinasa tipo III. Estas proteínas transmembrana

contienen un dominio de unión extracelular/ligando con 5 bucles ligados a inmunoglobulinas que actúan en la unión al ligando y dimerización. El dominio extracelular esta conectado al dominio citoplasmático mediante un dominio transmembrana ⁽¹⁾. El dominio citoplasmático esta compuesto de un dominio Juxtamembrano (JM) y dominios tirosina quinasa (TK1 y TK2) los cuales contienen un sitio de unión para ATP y una región fosfotransferasa separada por un inserto quinasa ⁽¹²⁾. El dominio JM regula la actividad tirosina quinasa de KIT inhibiéndola en ausencia del ligando KIT ⁽¹³⁾.

En estado normal, KIT y PDGFRA se unen a sus respectivos ligandos, permitiendo la fosforilación de proteínas transductoras de señales que modulan la proliferación celular y quimiotaxis e inhiben la apoptosis. Las vías de transducción involucradas incluyen MAPK, PI3K y JAK/STAT. Estas vías de señalización intercelulares juegan un papel importante en el desarrollo y mantenimiento de varios tipos celulares incluyendo las células Intersticiales de Cajal, mastocitos, melanocitos y células madre hematopoyéticas ⁽¹⁾. (Figura 2).

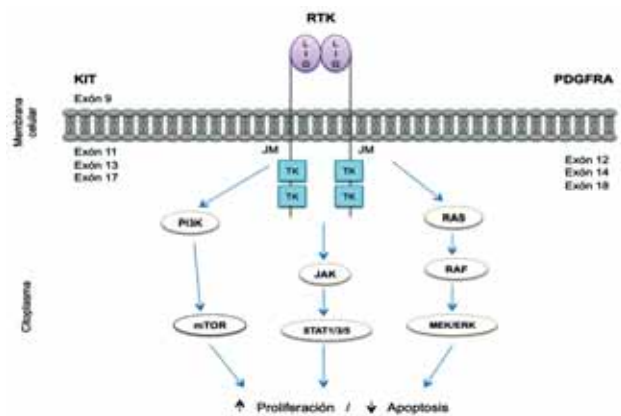


Figura 2. Esquema de la vía de traducción de señal activada por KIT y PDGFRA. RTK, receptor tirosina quinasa; LIG, ligando; JM, dominio juxtamembrano; TK, dominio tirosina quinasa. Modificado de Tornillo Terracciano, 2006.

MUTACIONES EN EL GEN KIT

La mayoría de mutaciones en el gen c-KIT ocurren en los exones 9, 11, 13 y 17, correspondiente al dominio extramembrana (exón 9), al dominio de regulación intracelular juxtamembrana (exón 11) y los dos dominios tirosina quinasa intra-citoplasmático (exones 13 y 17).

En el dominio extracelular (exón 9) la frecuencia de mutaciones es descrita entre un 5% a 18% de los casos, lo cual ocurre principalmente en los codones 501-502. Esto es asociado con la localización del tumor en el intestino delgado y con un comportamiento agresivo. Este mecanismo probablemente afecte una región de anti-dimerización en el dominio extracelular ⁽⁹⁾.

El dominio juxtamembrana (exón 11) del gen c-KIT inhibe la dimerización del receptor en ausencia del factor de células madres (SCF). Pequeñas deleciones e in-

serciones o mutaciones puntuales en este dominio afecta esta función. La frecuencia de mutaciones en el exón 11 varía entre 20% a 92%. Muchas de las mutaciones son localizadas entre los codones 556 y 560 con prevalencia de deleciones e inserciones, afectando los codones 557-559 y mutaciones puntuales afectando los codones 559 y 560. Duplicaciones en tandem son prevalentemente encontradas al final del exón (codones 570-580). El tipo de mutación es aparentemente relacionado con el pronóstico y con la clasificación del riesgo ⁽¹⁴⁾.

El *dominio quinasa I (exón 13)* presenta muy baja frecuencia de mutaciones, entre 0.8% - 4.1%, afectando al codón 642 ⁽¹⁵⁾. Mutaciones en este codón están relacionadas con resistencia al tratamiento con imatinib. En el *bucle de activación (exón 17)* la frecuencia de mutaciones es del 0.6%. El mecanismo de activación en el cual se ven afectados los codones 820 y 822 no es muy claro ⁽¹⁶⁾. (Figura 3).

MUTACIONES EN EL GEN PDGFRA

Una gran proporción de mutaciones en el gen PDGFRA ocurren en el exón 18 (7-12% de los casos). Los mutantes PDGFRA son prevalentemente epitelioides, localizados en el estómago y muestran poca o ninguna reactividad inmunohistoquímica para KIT, pero son funcionalmente similares a los mutantes KIT ⁽¹⁷⁾.

En el *dominio juxtamembrana (exón 12)*, las mutaciones ocurren con mayor frecuencia entre los codones 561-571 y son asociadas con una buena respuesta al tratamiento con imatinib. En el *loop de activación (exón 18)*, las mutaciones ocurren en los codones 842-849. Algunas de ellas provocan resistencia al tratamiento con imatinib. En el *dominio quinasa I (exón 14)*, una mutación rara ha sido descrita (N659K). Esta mutación muestra una resistencia al tratamiento con imatinib *in vitro* la cual es comparable con la observada en mutantes del exón 13 del gen KIT ^(17,18) (Tabla 1).

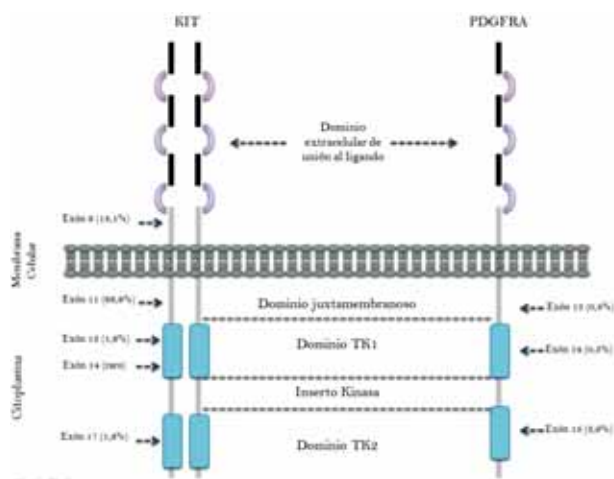


Figura 3. Ubicación y frecuencia de mutaciones de los genes KIT y PDGFRA en tumores GIST. Modificado de Downs-kelly y Rubin, 2011.

CORRELACIÓN GENOTIPO - FENOTIPO

Cerca del 80% de tumores GIST esporádicos presentan mutaciones en el gen KIT. Aproximadamente el 75% de ellos involucran mutaciones en el exón 11, a nivel del dominio Juxtamembrana del gen KIT, agrupándose en los extremos 5' y 3' de dicho exón. Las mutaciones en el extremo 5' frecuentemente incluyen deleciones internas y sustituciones de un solo aminoácido, mientras que en el extremo 3' se observa una mayor proporción de duplicaciones (Figura 4). Clínicamente, estos pacientes tienen tumores GIST gástricos con un curso indolente ⁽¹⁹⁾.

En comparación, un curso clínico agresivo con un elevado riesgo de recurrencia y corta supervivencia, ha sido identificado en pacientes con tumores GIST portadores de deleciones en el exón 11. Mientras que tumores GIST con

Tabla 1. Mutaciones más frecuentes en los genes KIT y PDGFRA en tumores GIST. Modificado de Tornillo y Terracciano, 2006.

Gen	Exón	Frecuencia (%) Dominio	Mutación	Comentarios
KIT	9	10 - 20% extracelular	Duplicación - inserción 501 - 502	Comportamiento maligno Intestino delgado Respuesta intermedia a Imatinib.
	11	20 - 70% juxtamembrana	Delección-inserción 550-561 Mutaciones puntuales 557, 559, 560, 576 Duplicación en tandem alrededor 570 (Extremo 3')	Delección es a menudo asociado con mal pronóstico. Buena respuesta a Imatinib.
	13	menos del 5% timidin quinasa 1	Mutación puntual 642	Mala respuesta a Imatinib
	17	Raro (< 1%) timidin quinasa2	Mutación puntual 820	Mala respuesta a Imatinib
PDGFRA	12	cerca 1% juxtamembrana	Mutación puntual 561 Delección-inserción 560-571 Inserción 582-586	Buena respuesta a Imatinib
	18	2 - 3% timidin quinasa 2	Mutación puntual 842 Delección-sustitución 842-847	Mutación 842 (D842V) resistente a Imatinib. Otras sensibles.

otro tipo de mutaciones o aquellos sin mutación, se observa una supervivencia libre de enfermedad muy baja ⁽²⁰⁾.

La segunda región con mayor frecuencia de mutaciones ha sido identificada dentro del exón 9, a nivel del dominio distal extracelular, siendo las duplicaciones el tipo de mutación más frecuente. Mutaciones en el exón 9 han sido identificadas en aproximadamente 10% – 18% de tumores GIST esporádicos y aquellos pacientes que portan este tipo de mutación comúnmente involucran el intestino delgado y muestran un desarrollo más agresivo de la neoplasia ^(20,21).

Mutaciones en el exón 13 y 17 afectan el dominio tirosina quinasa y son menos del 5% de los tumores GIST esporádicos. Estas mutaciones típicamente muestran una morfología celular fusiforme e involucran con mayor frecuencia al intestino delgado que estómago ⁽²²⁾.

Aproximadamente el 7% de tumores GIST portan una mutación en el gen PDGFRA, generalmente de tipo de cambio de sentido en el exón 18, afectando el dominio TK2. Los tumores GIST con esta mutación frecuentemente involucran el estómago y tienen una morfología epitelioide. Mutaciones en el exón 14 del gen PDGFRA son típicamente de cambio de sentido, asociados con morfología epitelioide, en el estómago, y con curso clínico favorable. De manera infrecuente, mutaciones han sido identificadas en el dominio JM del gen PDGFRA (exón 12), consistiendo predominantemente de mutaciones puntuales, deleciones, o deleciones-inserciones. En general, mutaciones en el gen PDGFRA son encontradas en tumores GIST de estómago y omento, típicamente con morfología celular epitelioide ⁽¹⁾.

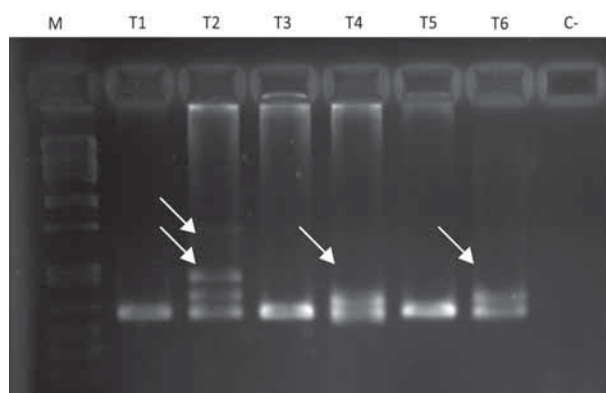


Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa de fragmentos amplificados correspondientes al exón 11 del gen c-KIT. Las muestras T2, T4 y T6 presentan un patrón de migración alterado (señalado con flechas) el cual indica la presencia de mutaciones (inserciones). Dichos resultados fueron confirmados por secuenciación (datos no publicados). M, marcador de peso molecular; T1-T6, tumores 1-6; C-, control negativo. Estos resultados corresponden a un estudio realizado en el CGBM-USMP.

VALOR PREDICTIVO DEL ANÁLISIS MUTACIONAL EN TUMORES GIST RESISTENTES A IMATINIB.

Imatinib, un inhibidor selectivo de las tirosina quinasa ABL, KIT y PDGFR, brinda un beneficio clínico en mu-

chos pacientes con tumores GISTs avanzados. Ello debido a que muchos tumores GIST tienen una mutación en los receptores tirosina quinasa de los genes KIT o PDGFRA (Figura 5). Estudios randomizados de tratamiento en fase II han demostrado que cerca del 50% de pacientes con GIST avanzados, tratados con imatinib sobrevivieron más de 5 años, sin tener en cuenta la dosis usada.

También se ha encontrado que el efecto de Imatinib sobre la mutación KIT (820Tyr) fue más débil que con KIT (del559-560) o KIT (642Glu), indicando varios efectos biológicos de imatinib sobre tumores GIST que tienen diferentes mutaciones en KIT y PDGFRA. Según un estudio randomizado en fase III de la organización europea para la investigación y tratamiento del cáncer, tumores con mutación en el exón 11 de KIT mostraron una proporción de respuesta de más del 80%, mientras que menos del 50% de tumores con mutación en el exón 9 del gen KIT respondieron ⁽²³⁾.

La resistencia de tumores GIST al tratamiento con Imatinib ha sido reportado en 10 a 20% de los casos. El desarrollo de la resistencia a Imatinib puede seguir varios patrones, incluyendo la progresión en el lugar del tumor primario o el desarrollo de nuevas lesiones metastásicas. Por otro lado, la gran mayoría de pacientes que responden al tratamiento, eventualmente desarrollan una progresión de tumor secundario ^(24,25).

La resistencia tardía a Imatinib es comúnmente asociada con la adquisición de mutaciones secundarias en el gen KIT a nivel de los dominios quinasa I y II (exón 13, 14 o 17). Algunas de estas mutaciones alteran específicamente la configuración del dominio quinasa de unión al ATP (Val654Ala y Thr670Ile), inhibiendo la unión de Imatinib. Otras alteraciones estabilizan la conformación activa del receptor, lo cual también previene la unión de Imatinib (Asp820Tyr, Asn822Lys) ⁽²⁶⁾.

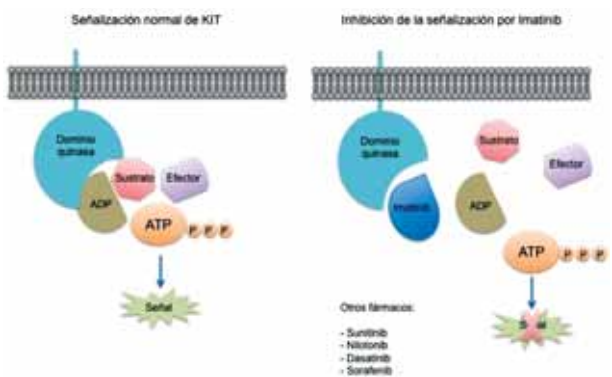


Figura 5. Imatinib es un inhibidor del oncogen KIT a través del bloqueo enzimático del receptor Tirosin quinasa. La zona de unión al ATP en el dominio quinasa de KIT es ocupado por Imatinib, generando un bloqueo de la proliferación celular. Existen otros fármacos que cumplen funciones similares a Imatinib.

Por otro lado, se ha observado que los tumores GIST con mutaciones primarias en el exón 11 del gen KIT, muestran una mejor respuesta al tratamiento. Pero tienen

mayor tendencia a desarrollar mutaciones secundarias al compararlos con los tumores con mutaciones primarias en el exón 9. Esto sugiere que el desarrollo de una mutación secundaria en KIT es un importante mecanismo de escape para las células tumorales cuya proliferación, dependiente de KIT, es inhibida por Imatinib ⁽²⁶⁾.

Debido a que la resistencia a Imatinib es un problema clínico en crecimiento, se han desarrollado varios inhibidores para interferir con la vía de señalización quinasa, usando inhibidores alternativos de KIT y PDGFRA o dirigidos hacia proteínas de la vía de señalización para recuperar el control de la enfermedad después de una falla de imatinib ⁽²⁷⁾.

Sunitinib es un inhibidor tirosina quinasa con múltiples dianas, incluyendo los receptores VEGFR, PDGFRs, KIT, FLT3 y el receptor codificado por el proto-oncogen RET y tiene actividad antiangiogénica y antiproliferativa. El tratamiento con este fármaco ha mostrado una respuesta en sólo el 5% de pacientes con resistencia a imatinib, pero el 58% de los pacientes muestra una estabilización de la enfermedad. Se ha observado que pacientes resistentes a imatinib y con mutaciones en el exón 9 muestran una mejor respuesta que aquellos con mutaciones en el exón 11. Por otro lado, sunitinib muestra una mejor eficacia para

mutaciones secundarias en los exones 17 y 18 de KIT, comparados con mutaciones en los exones 13 y 14. Esto puede deberse al hecho de que la progresión de GIST es un evento policlonal, pudiendo mostrar mutaciones secundarias en paralelo en KIT y sunitinib no muestra una respuesta eficiente para inhibir la proliferación de diferentes clones presentes en estos tipos de tumores ⁽²⁸⁾.

Nilotinib, un inhibidor tirosina quinasa de la vía de señalización de BCR-ABL, KIT y PDGFR, muestra una mejor eficacia contra mutaciones en los genes KIT y PDGFRA en comparación con imatinib ⁽²⁹⁾.

Dasatinib, es otro fármaco que es capaz de unirse a la conformación activa de KIT, algo que imatinib no puede hacer. Este fármaco puede ser usado como terapia en pacientes con tumores GIST que expresan una mutación secundaria que estabiliza el receptor en su forma conformacional activa ⁽³⁰⁾.

Finalmente, Sorafenib es un inhibidor específico que muestra mayor eficacia, comparado con nilotinib y dasatinib, para inhibir la vía de señalización de los receptores KIT que presentan mutaciones secundarias de resistencia a imatinib ⁽²⁸⁾.

REFERENCIAS

1. DOWNS-KELLY E; RUBIN B. Gastrointestinal Stromal Tumors: Molecular Mechanisms and Targeted Therapies. *Path Res Inter* 2011; 2011:1 – 7.
2. JOENSUU H. Gastrointestinal stromal tumor (GIST). *Ann Oncol* 2006; 17: 280 – 286.
3. FLETCHER CD, BERMAN JJ, CORLESS C, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Hum Pathol* 2002; 33:459-65.
4. DEMETRI GD, BENJAMIN RS, BLANKE CD, BLAY JY, CASALI P, CHOI H. NCCN Task Force Report: management of patients with gastrointestinal stromal tumor (GIST)-update of the NCCN clinical practice guidelines. *J Natl Compr Canc Netw* 2007; 5: S1 – S2.
5. GOLD J, DEMATTEO R. Combined Surgical and Molecular Therapy: The Gastrointestinal Stromal Tumor Model. *Ann Surg* 2006; 244: 176 –184.
6. MIETTINEN M, LASOTA J, SOBIN LH. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach in children and young adults: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 44 cases with long-term follow-up and review of the literature. *Am J Surg Pathol* 2005; 29:1373–81.
7. NILSSON B, BUMMING P, MEIS-KINDBLOM JM, et al. Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era—a population-based study in western Sweden. *Cancer* 2005;103:821–9.
8. COFFEY R, WASHINGTON M, CORLESS C, HEINRICH M. Ménétrier disease and gastrointestinal stromal tumors: hyperproliferative disorders of the stomach. *J. Clin. Invest.* 2007; 117:70–80.
9. CORLESS CL, FLETCHER JA, HEINRICH MC. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2004; 22:3813–25.
10. 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* 2005; 29:52–68.
11. SAKURAI S, et al. Myxoid epithelioid gastrointestinal stromal tumor (GIST) with mast cell infiltrations: a subtype of GIST with mutations of platelet-derived growth factor receptor alpha gene. *Hum. Pathol.* 2002; 35:1223–1230.
12. PAWSON T. Regulation and targets of receptor tyrosine kinases, *European Journal of Cancer* 2002; 38: S3–S10.
13. MOL CD, DOUGAN DR, SCHNEIDER T, et al. Structural basis for the autoinhibition and STI-571 inhibi-

- tion of c-Kit tyrosine kinase. *Journal of Biological Chemistry* 2004; 279: 31655–31663.
14. TORNILLO L, TERRACCIANO L. An update on molecular genetics of gastrointestinal stromal Tumours. *J Clin Pathol* 2006; 59:557–563.
 15. DEBIEC-RYCHTER M, DUMEZ H, JUDSON I, et al. Use of c-KIT/PDGFR α mutational analysis to predict the clinical response to imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumours entered on phase I and II studies of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *Eur J Cancer* 2004; 40:689–95.
 16. RUBIN BP, SINGER S, TSAO C, et al. KIT activation is a ubiquitous feature of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 2001; 61:8118–21.
 17. CORLESS CL, SCHROEDER A, GRIFFITH D, et al. PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors: frequency, spectrum and in vitro sensitivity to imatinib. *J Clin Oncol* 2005; 23:5357–64.
 18. HIROTA S, OHASHI A, NISHIDA T, et al. Gain-of-function mutations of platelet-derived growth factor receptor alpha gene in gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterology* 2003; 125:660–7.
 19. WARDELMANN E, HRYCHYK A, MARKELBACH-BRUSE S, et al. Association of platelet-derived growth factor receptor a mutations with gastric primary site and epithelioid or mixed cell morphology in gastrointestinal stromal tumors. *J. Mol. Diagn.* 2004; 6: 197–204.
 20. DEMATTEO RP, GOLD JS, SARAN L, GÖNEN M, LIAU KH, MAKI RG, et al. Tumor mitotic rate, size, and location independently predict recurrence after resection of primary gastrointestinal stromal tumor (GIST). *Cancer* 2008; 112:608-615.
 21. ANTONESCU CR, SOMMER G, SARRAN L, TSCHERNYAVSKY SJ, RIEDEL E, WOODRUFF JM, et al. Association of KIT exon 9 mutations with non-gastric primary site and aggressive behavior: KIT mutation analysis and clinical correlates of 120 gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 2003; 9:3329-3337.
 22. LASOTA J, MIETTINEN M. Clinical significance of oncogenic KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumours. *Histopathology* 2008; 5353:245-266.
 23. YANG J, DU X, LAZAR A, POLLOCK R, HUNT K, CHEN K, et al. Genetic Aberrations of Gastrointestinal Stromal Tumors. *Cancer* 2008; 113:
 24. ANTONESCU CR, BESMER P, GUO T, ARKUN K, HOM G, KORYOTOWSKI B, et al. Acquired resistance to imatinib in gastrointestinal stromal tumors occurs through secondary gene mutation. *Clin Cancer Res* 2005; 11:4182-4190.
 25. 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; 24:4764-4774.
 26. HOEBEN A, SCHOFFSKI P, DEBIEC-RYCHTER M. Clinical implications of mutational analysis in gastrointestinal stromal tumours. *British Journal of Cancer* 2008; 98:684 – 68.
 27. VON MEHREN M. Beyond Imatinib: second generation c-KIT inhibitors for the management of gastrointestinal stromal tumors. *Clin Colorectal Cancer* 2006; 6:S30 – S34.
 28. GOUNDER M, MAKI R. Molecular basis for primary and secondary tyrosine kinase inhibitor resistance in gastrointestinal stromal tumor. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2011;
 29. WEISBERG E, MANLEY P, BREITENSTEIN W, BRUGGEN J, COUSAN-JACOB S, RAY A, et al. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant BCR-ABL. *Cancer Cell* 2005;7(2): 129-141.
 30. SCHITTENHELM MM, SHIRAGA S, SCHROEDER A, et al. Dasatinib (BMS-354825), a dual SRC / ABL kinase inhibitor, inhibits the kinase activity of wild-type, juxtamembrane, and activation loop mutant KIT isoforms associated with human malignancies. *Cancer Res.* 2006; 66: 473–481.