

Matricola: 0000460355

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

**PERSONALIZZAZIONE DEL TRATTAMENTO CON
REGORAFENIB NEI PAZIENTI AFFETTI DA TUMORE
STROMALE GASTRO INTESTINALE (GIST)
NELLA REALTÀ ITALIANA.**

Tesi di Laurea in Oncologia Medica

Presentata da:

Maria Concetta Nigro

Relatore:

Chiar.ma Prof.ssa

Maria Abbondanza Pantaleo

Correlatore:

Dott.ssa

Margherita Nannini

Anno Accademico 2016/2017

Matricola: 0000460355

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

**PERSONALIZZAZIONE DEL TRATTAMENTO
CON REGORAFENIB NEI PAZIENTI AFFETTI DA
TUMORE STROMALE GASTRO INTESTINALE (GIST)
NELLA REALTÀ ITALIANA.**

Tesi di Laurea in Oncologia Medica

Presentata da:

Maria Concetta Nigro
Pantaleo

Relatore:

Chiar.ma Prof.ssa

Maria Abbondanza

Correlatore:

Dott.ssa

Margherita Nannini

Anno Accademico 2016/2017

*A Caterina, Concetta,
Laura, Maria e Ida
che mi hanno insegnato cosa
vuol dire prendersi cura
degli altri*

*“Il più grande errore nel trattamento delle malattie è
che ci sono medici per il corpo e medici per l’anima,
anche se le due cose non dovrebbero essere
separate.”*

(Platone)

INDICE

Introduzione.....9

Capitolo 111

I TUMORI STROMALI GASTRO-INTESTINALI (GIST)

<i>1.1</i>	<i>Epidemiologia e cenni storici</i>	<i>11</i>
<i>1.2</i>	<i>Origine</i>	<i>13</i>
<i>1.3</i>	<i>Biologia molecolare</i>	<i>14</i>
<i>1.4</i>	<i>Diagnosi clinica</i>	<i>20</i>
<i>1.5</i>	<i>Diagnosi anatomo-patologica</i>	<i>22</i>
<i>1.6</i>	<i>Classificazione del rischio di recidiva</i>	<i>25</i>
<i>1.7</i>	<i>Trattamento della malattia localizzata operabile</i>	<i>28</i>
<i>1.8</i>	<i>Trattamento della malattia localizzata non operabile</i>	<i>33</i>
<i>1.9</i>	<i>Trattamento della malattia avanzata/metastatica</i>	<i>34</i>
<i>1.10</i>	<i>La resistenza primaria e secondaria agli inibitori tirosin-chinasici</i>	<i>41</i>
<i>1.11</i>	<i>Ruolo dell'analisi mutazionale di KIT e PDGFRA</i>	<i>46</i>
<i>1.12</i>	<i>Farmacogenetica nei GIST</i>	<i>49</i>
<i>1.13</i>	<i>Criteri di valutazione di risposta al trattamento</i>	<i>54</i>
<i>1.14</i>	<i>Follow-up</i>	<i>57</i>

Capitolo 2.....59

IL REGORAFENIB

2.1 *Indicazione terapeutica*..... 59

2.2 *Posologia e modo di somministrazione*..... 60

2.3 *Meccanismo d'azione e farmacocinetica* 61

2.4 *Efficacia e sicurezza clinica nei GIST*..... 63

2.5 *Effetti collaterali* 67

2.6 *Management degli effetti collaterali* 72

Capitolo 3.....77

STUDIO SPERIMENTALE

3.1 *Scopo dello studio* 77

3.2 *Materiali e metodi*..... 79

3.3 *Risultati* 81

3.4 *Discussione*..... 81

Conclusioni 101

Bibliografia 103

Ringraziamenti..... 126

Introduzione

I tumori stromali gastrointestinali (GIST) rappresentano solo lo 0,2% di tutte le neoplasie del tratto gastrointestinale, pur essendo la forma maligna mesenchimale più comune del tubo digerente, derivante dalle cellule interstiziali di Cajal (ICC) del plesso mioenterico.

Sotto il profilo molecolare, i GIST si caratterizzano per la presenza nella stragrande maggioranza dei casi di mutazioni attivanti a carico dei geni KIT o di PDGFRA (*platelet-derived growth factor receptor alpha*), che rappresentano il driver molecolare principale di questa rara patologia, ritenuta modello delle terapie a bersaglio molecolare nei tumori solidi [1-3]. Infatti l'avvento degli inibitori delle tirosin-chinasi (TKIs) imatinib (IM), sunitinib (SU) e regorafenib (REG) ha drasticamente modificato la storia naturale di questa patologia notoriamente chemio-resistente, diventando ad oggi la sequenza standard del trattamento dei GIST metastatici [4-8].

REG è un inibitore multi-chinasico orale che blocca l'attività di diverse protein-chinasi, incluse quelle coinvolte nella regolazione dell'angiogenesi tumorale (VEGFR-1, -2 and TIE2), dell'oncogenesi (KIT, RET, RAF-1, BRAF V600E), e del microambiente tumorale (PDGFR e FGFR). Questo farmaco è attualmente approvato nel trattamento dei GIST non resecabili o metastatici dopo progressione di malattia o intolleranti al trattamento precedente con IM e SU, con un miglioramento nella sopravvivenza libera da progressione rispetto al placebo di 4,8 mesi vs. 0,9 mesi ($p < 0,000001$) [8]. Tuttavia, più della metà (61,4%) dei pazienti partecipanti allo studio registrativo (GRID trial) ha presentato una tossicità al farmaco di grado ≥ 3 , con conseguente riduzione del dosaggio nel 72% dei casi [8]. Infatti, come gli altri TKIs orali, il REG presenta un profilo di tossicità rilevante caratterizzato da manifestazioni cutanee e delle mucose, sintomi aspecifici (astenia, nausea e perdita di peso), cardio-vascolari (specialmente l'ipertensione) e gastrointestinali [9]. Questi effetti collaterali sono più marcati nel corso dei primi cicli di trattamento e spesso richiedono nella pratica clinica di tutti i giorni aggiustamenti anche precoci di dosaggio o di schedula di trattamento rispetto a quella standard. Infatti è stato dimostrato come i pazienti che proseguono il trattamento a lungo termine (≥ 1 anno) tendono a mostrare un miglior *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) status, senza che siano emerse tossicità tardive inattese [10]. Questo suggerisce come l'ottimizzazione della terapia e la

gestione degli effetti collaterali specialmente nei primi mesi di trattamento siano cruciali per garantire la maggiore continuità terapeutica possibile, a fronte di un profilo di tolleranza ottimale, come già dimostrato anche con altri inibitori delle TKIs [11, 12].

Pertanto, in assenza di altre opzioni terapeutiche ad oggi approvate, visto l'andamento cronico della maggior parte dei GIST in fase avanzata, è necessario massimizzare la durata del trattamento con REG senza che questo infici negativamente la qualità della vita a lungo termine dei pazienti. Tuttavia nella pratica clinica di tutti i giorni viene adottato un ampio spettro di schedule alternative di trattamento, con un'estrema eterogeneità tra i singoli centri, sulla base della propria esperienza clinica. Pertanto la personalizzazione del trattamento con REG non è al momento uniforme e standardizzata e soprattutto una fotografia d'insieme di tutte le strategie di ottimizzazione adottate nella pratica clinica quotidiana non è mai stata effettuata.

Scopo dunque di questo studio è quello di effettuare un'analisi osservazionale dei pazienti affetti da GIST metastatico trattati con REG a dose e/o schedula personalizzata in Italia, al fine di:

- conoscere meglio il reale uso clinico di REG in Italia;
- valutare l'impatto delle diverse schedule personalizzate di REG sulla qualità di vita dei pazienti;
- ottimizzare il trattamento con REG nella pratica clinica quotidiana.

Capitolo 1

I TUMORI STROMALI GASTRO-INTESTINALI (GIST)

1.1 Epidemiologia e cenni storici

I tumori stromali gastrointestinali (GIST) sono tumori rari di natura mesenchimale, la cui incidenza è pari a 1-1,5 nuovi casi/100.000 abitanti/all'anno. Tale stima potrebbe variare se si considerassero, oltre ai GIST clinicamente rilevanti, anche i cosiddetti micro-GIST, lesioni microscopiche riscontrate per lo più in maniera occasionale e completamente asintomatiche [13].

Essi rappresentano lo 0,1-3% di tutti i tumori gastro-intestinali, ma costituiscono la forma mesenchimale più comune di tutto il tubo digerente. I GIST sporadici possono manifestarsi in qualsiasi fascia d'età, ma la media d'insorgenza è in genere intorno ai 60-65 anni, senza rilevanti differenze tra i due sessi. Tra le forme sporadiche sono da considerare anche i rari casi pediatrici, per lo più a predominanza femminile. Esistono infine GIST che insorgono nel contesto di forme sindromiche, come la neurofibromatosi di tipo I, la Sindrome di Carney e la Sindrome di Carney-Stratakis, i quali presentano caratteristiche cliniche, patologiche e molecolari peculiari [3].

Le sedi di insorgenza più frequenti sono nell'ordine: stomaco (50%); piccolo intestino (25%); esofago (5%); retto (5%); localizzazioni extra-intestinali (<5%).

I GIST sono rimasti a lungo misconosciuti ed erroneamente diagnosticati come leiomiomi, leiomiosarcomi, leiomioblastomi e il loro riconoscimento come entità clinica ed istopatologica indipendente è avvenuto solo grazie al riscontro di caratteristiche peculiari immunoistochimiche e molecolari. In passato la maggior parte dei tumori gastrointestinali di origine non epiteliale era considerata a partenza dalla muscolatura liscia o perineurale. Successivamente, risultò che solo una minima parte di questi tumori presentavano caratteristiche strutturali e citologiche riconducibili alle cellule muscolari lisce [14,15].

Nel 1941 *Stout* e collaboratori introdussero il termine di “leiomioblastomi” per identificare le neoplasie mesenchimali del tratto gastrointestinale derivanti da un precursore delle cellule muscolari lisce [16]. Questa definizione, però, poco indicativa del comportamento biologico di questi tumori, fu modificata in “leiomiomi epitelioidi” e “leiomiosarcomi epitelioidi”.

Nel 1983 *Mazur* e *Clark* introdussero il termine di “tumore stromale”, dopo l’evidenza mediante studi di microscopia elettronica e immunoistochimica che si trattava di tumori non epiteliali mancanti delle caratteristiche ultrastrutturali e immunofenotipiche sia delle cellule muscolari lisce che delle cellule di Schwann, postulando così una linea differenziativa dalle cellule mesenchimali immature [17,18].

Solo a metà degli anni '90 il termine “tumore stromale gastrointestinale” fu largamente accettato, dopo l’osservazione dell’espressione di CD34, che fu adottato inizialmente come primo marcatore diagnostico dei GIST [19]. L’osservazione che le ICC fossero positive all’anticorpo contro KIT (CD117), portò al riscontro che KIT era fortemente espresso anche nella maggior parte dei GIST, avallando l’ipotesi che i GIST potessero derivare da un progenitore comune con le ICC, e identificando in KIT un nuovo marker diagnostico più sensibile e specifico per i GIST [20,21].

Data cruciale nella storia dei GIST è il 1998, quando *Hirota* descrisse per la prima volta l’esistenza di specifiche mutazioni attivanti a carico del proto-oncogene tirosin-chinasico KIT localizzate nell’esone 11, codificante per il dominio trans-membrana del recettore e responsabili dell’attivazione costitutiva del recettore stesso in assenza del ligando [1]. Tale scoperta ha rivoluzionato la storia naturale dei GIST e, più in generale, ha reso i GIST il paradigma di biologia molecolare nei tumori solidi.

1.2 Origine

Durante gli anni 90' studi di microscopia elettronica e di immunohistochimica (IHC) evidenziarono l'esistenza di numerose similitudini tra il fenotipo delle cellule di GIST e quello delle cellule interstiziali di Cajal (ICC), considerate il "pacemaker" dell'apparato gastrointestinale perché responsabili della peristalsi intestinale. Questa evidenza porta ad avanzare l'ipotesi che le cellule ICC rappresentassero le cellule di origine dei GIST [21]. Successivamente, fu dimostrato come topi privi dell'espressione del recettore KIT o del suo ligando, il fattore cellulare staminale o *stem cell factor* (SCF), non sviluppavano le cellule ICC del plesso mioenterico, a favore del fatto che l'asse KIT-SCF fosse indispensabile per lo sviluppo di queste cellule [22]. A supporto di questa tesi, alcuni studi pre-clinici evidenziarono che modelli murini portatori di mutazioni di KIT riscontrate nei GIST umani sviluppavano sia una diffusa iperplasia delle cellule ICC nella parete gastrica e intestinale che tumori simil-GIST [23,24].

Successivamente, *Lorincz* e colleghi, isolarono dalla parete intestinale gastrica murina, una popolazione cellulare caratterizzata da un'intensa positività per IGF1R⁺, per CD34⁺, per CD44⁺ e una bassa espressione di KIT^(low), considerate i precursori delle ICC, la cui sopravvivenza e differenziazione in cellule ICC mature dipende strettamente da un *loop* autocrino mediato da IGF1 [25]. Tali cellule rappresenterebbero la linea differenziativa di origine dei GIST.

Di grande interesse è l'evidenza che il profilo di espressione genica delle ICC mature è molto più simile al profilo dei GIST mutati rispetto a quello dei GIST KIT/PDGFRΑ wild-type (WT), avallando la duplice ipotesi che i GIST KIT/PDGFRΑ WT possano derivare o dalle cellule ICC a una fase differenziativa più precoce, come quelle identificate da *Lorincz*, oppure da una linea cellulare differente a differenziazione neurale [26].

1.3 Biologia molecolare

KIT:

Il 75-80% dei GIST è caratterizzato dalla presenza di mutazioni a carico del proto-oncogene tirosin-chinasico KIT, le quali sono responsabili dell'attivazione costitutiva ligando-indipendente del recettore. KIT appartiene alla famiglia dei recettori tirosin-chinasici di tipo III, costituiti da una porzione extracellulare formata da cinque domini Ig-like, da una porzione transmembrana e da una porzione intracellulare che contiene due domini tirosin-chinasici: il primo dotato di una tasca di legame per l'ATP e il secondo dotato di una regione fosfotransferasica (*loop* di attivazione) [27] (Fig. 1).

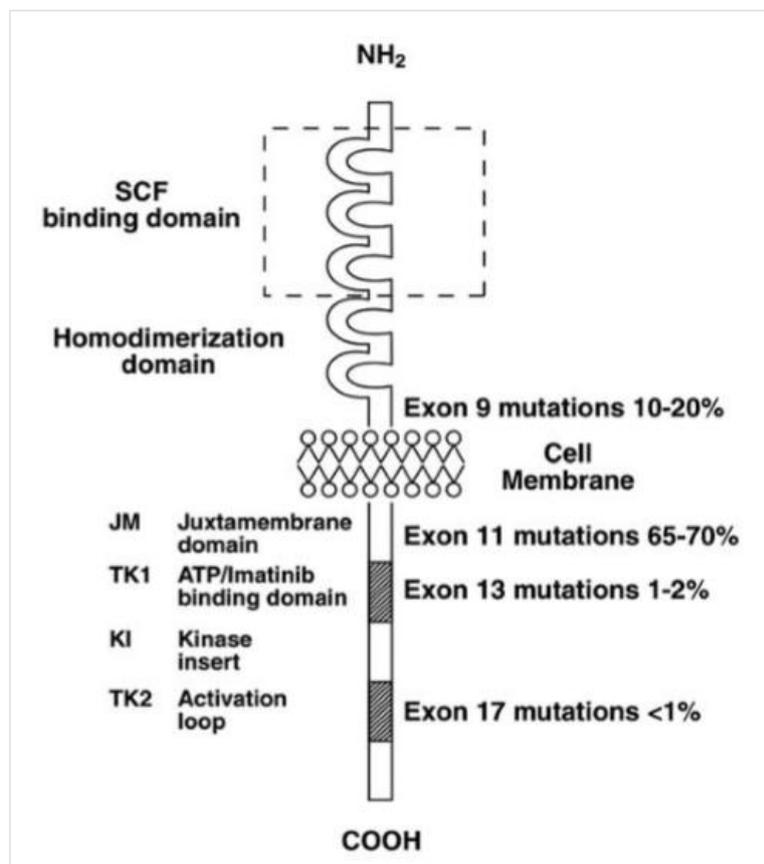


Fig. 1: struttura del recettore KIT [28]

Il ligando fisiologico è rappresentato da SCF, detto anche fattore di crescita mastocitico o fattore di Steel [29]. A seguito del legame, avvengono la dimerizzazione e l'autofosforilazione del recettore con conseguente attivazione delle molecole effettrici a valle, quali le vie RAS/MAPK, JAK/STAT, JNK/SAPK, PI3K/AKT coinvolte nella trasmissione di stimoli proliferativi e anti-apoptotici (Fig. 2).

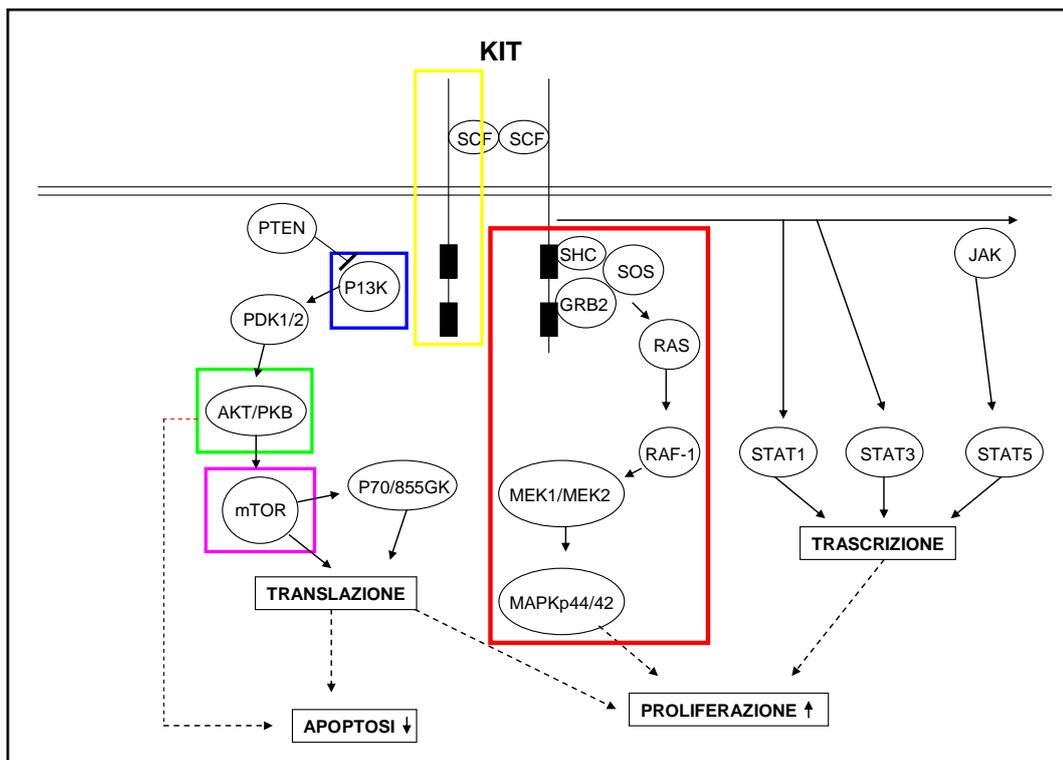


Fig. 2: cascata di segnale a valle del recettore KIT (tratta da Pantaleo MA et al; Cancer Treat Rev 2010;36:63-8)

La maggior parte delle mutazioni a carico di KIT interessa la porzione trans-membrana del recettore, codificata dall'esone 11. Tali mutazioni includono delezioni *in-frame*, inserzioni, sostituzioni, o combinazioni di queste [30]. Le delezioni sembrano essere associate a una sopravvivenza libera da progressione e globale più breve rispetto alle altre mutazioni a carico dell'esone 11 [31-37]. In particolare le delezioni che interessano il codone 557 e/o 558 sembrano conferire un comportamento biologico più aggressivo [38].

Circa l'11% dei GIST presenta una mutazione a carico del dominio extracellulare di KIT, costituita dall'inserzione di 6 nucleotidi a livello dell'esone 9 responsabile di una duplicazione amminoacidica (Ala-Tyr) [39]. Tale mutazione si associa a tumori di

grosse dimensioni del piccolo intestino, il cui profilo di espressione genica differisce dai GIST con mutazioni a carico dell'esone 11 [40]. In circa 1-2% dei casi, un tempo erroneamente classificati come GIST KIT/PDGFR WT, sono state descritte mutazioni a carico dell'esone 8 di KIT [41].

Ancora meno comuni e descritte in meno dell'1% dei casi, sono le mutazioni a carico del *loop* di attivazione codificato a livello dell'esone 17 e a carico della tasca dell'ATP codificata a livello dell'esone 13, spesso secondarie [42].

PDGFRA:

PDGFRA appartiene, come KIT, alla famiglia dei recettori tirosin-chinasici di tipo III, il cui ligando fisiologico è rappresentato dal Fattore di Crescita derivato dalle Piastrine (PDGF). Circa il 35% dei GIST privi di mutazioni a carico di KIT presenta mutazioni attivanti di PDGFRA, che possono interessare più frequentemente, il *loop* di attivazione codificato a livello dell'esone 18, oppure il dominio trans-membrana codificato a livello dell'esone 12 o la tasca di legame dell'ATP codificata a livello dell'esone 14 [2,43] (Fig.3). A supporto della loro analogia funzionale, le mutazioni di KIT e PDGFRA sono mutualmente esclusive.

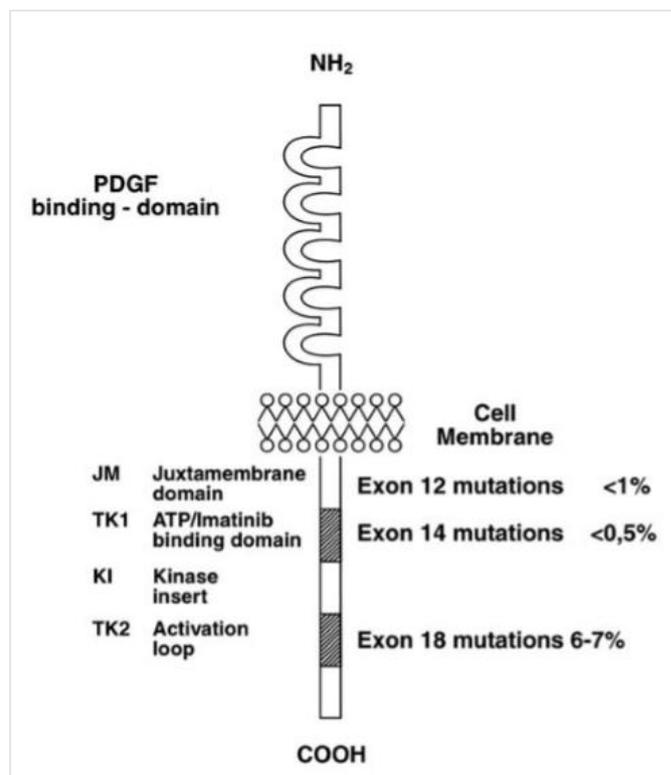


Fig. 3: struttura del recettore PDGFRA [28]

La maggior parte dei GIST mutati per PDGFRA presenta caratteristiche clinico-patologiche e molecolari che li contraddistinguono dai GIST KIT-mutati. In particolare, sono GIST prevalentemente a localizzazione gastrica, con un differente profilo di espressione genica e generalmente presentano un basso potenziale di malignità [44-48].

GIST KIT/PDGFRA WILD-TYPE:

Circa l'85% dei GIST pediatrici e il 10-15% dei GIST dell'adulto non presenta mutazioni né a carico di KIT né di PDGFRA e per tale motivo sono definiti WT. Possono essere sporadici o legati a forme ereditarie sindromiche [29,30,31]. Nonostante l'assenza di mutazioni attivanti, anch'essi presentano un'attivazione costitutiva di KIT, anche se il meccanismo a oggi non è ancora noto [49]. Negli ultimi anni, attraverso il susseguirsi di numerosi studi di biologia molecolare, è emerso come GIST KIT/PDGFRA WT rappresentano un insieme di entità estremamente eterogeneo sotto il profilo biologico, tant'è che oggi vengono considerati come gruppo di malattie differenti sia sul piano biologico che clinico (Fig. 4).

In particolare, circa il 20-40% di tutti i GIST KIT/PDGFRA WT presentano un deficit del complesso della succinato deidrogenasi (SDH) e vengono quindi definiti *SDH-deficient* GIST. Si identificano per la perdita di espressione in immunohistochimica della subunità B (SDHB), che nella maggior parte dei casi è dovuta a mutazioni somatiche o germinali dei geni che codificano per ciascuna subunità del complesso (A, B, C o D) [50-55]. Questo sottogruppo di GIST presenta caratteristiche cliniche, anatomo-patologiche e molecolari peculiari, quali l'insorgenza in giovane età, con predilezione per il sesso femminile, la localizzazione gastrica, la morfologia cellulare mista, la forte positività sia a KIT che a DOG1, la presenza di metastasi linfonodali e un comportamento biologico indolente anche se spesso esordiscono metastatici all'esordio [56]. Inoltre i GIST *SDH-deficient* si caratterizzano per la sovraespressione del recettore del fattore di crescita insulinico di tipo 1 (IGF1R) [57,58]. Infine si contraddistinguono anche sul piano epigenetico, sia dal punto di vista della metilazione che del profilo dei micro-RNA [59-64].

Circa il 4-13% dei GIST KIT/PDGFR WT, non SDH-deficient, presentano la mutazione V600E a carico di BRAF, con localizzazione prevalentemente intestinale e con verosimile prognosi migliore [65-69]. Un'altra piccola percentuale di GIST non SDH-deficient, presenta una mutazione a carico di NF1, anch'essi localizzati a livello del piccolo intestino, spesso multifocali, con prevalenza per il sesso femminile e spesso da iscrivere all'interno di una forma sindromica misconosciuta [69-73].

Il restante 50% dei GIST KIT/PDGFR WT non SDH-deficient e senza mutazioni di BRAF, NF1 e RAS, definiti come *quadruplo*-WT, rappresenta a sua volta un gruppo altrettanto eterogeneo sotto il profilo molecolare, a seguito dell'identificazione di molteplici eventi molecolari differenti, come alcuni geni di fusione (ETV6-NTRK3, FGFR1-HOOK3, FGFR1-TACC1, MARK2-PPF1A1 e SPRED2-NELFCD), o mutazioni somatiche a carico di TP53, MEN1, MAX, CHD4, FGF1R, CTDNN2, CBL, ARID1A, ID1B, ATR, LTK, SUFU, PARK2 e ZNF217, il cui ruolo patogenetico è tutt'ora sconosciuto [74-80].

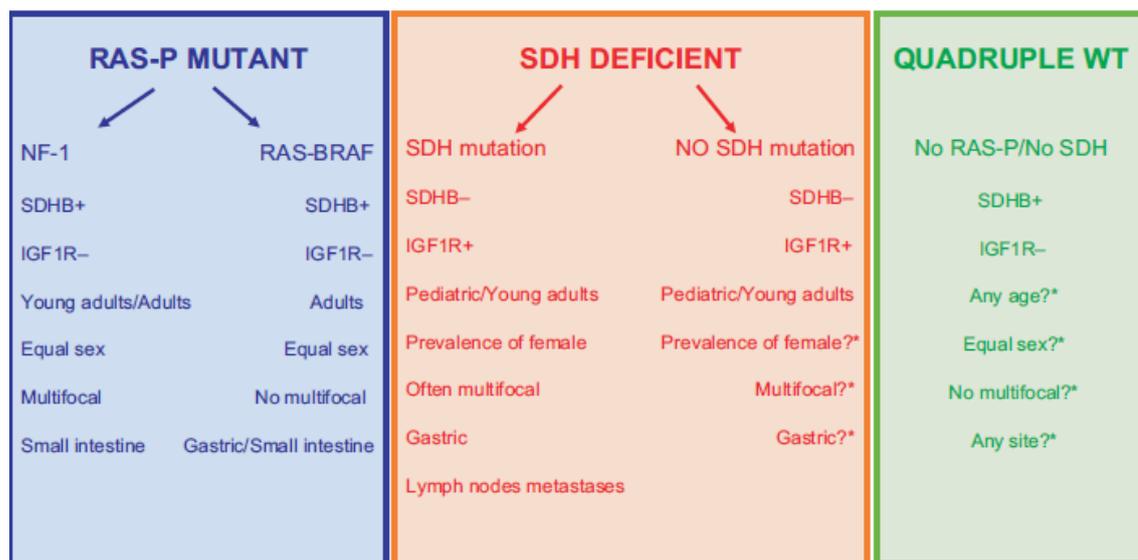


Fig. 4: Attuale rappresentazione dei GIST KIT/PDGFR WT [74]

1.4 Diagnosi clinica

Nella maggior parte dei casi, i GIST sono paucisintomatici e il loro riscontro è occasionale. Quando sintomatici, i sintomi clinici più frequenti sono altamente aspecifici, quali il dolore addominale, un senso di pienezza precoce, dispepsia, astenia, nausea, anoressia, calo ponderale e anemia. Invece, meno frequenti ma spesso indicativi di malattia già in fase avanzata sono la comparsa di masse addominali palpabili, ematemesi, melena, rettorragia, fino allo shock emorragico. Il quadro, in ogni caso, dipende dalla sede anatomica di insorgenza e dalle dimensioni del tumore (Tab. 1).

Sede	Segni e sintomi
Esofago	Disfagia, odinofagia, calo ponderale, dolore retro sternale, ematemesi
Stomaco	Sanguinamento, dolore, anoressia, dispepsia
Intestino tenue	Dolore, sintomi subocclusivi/occlusivi
Colon-retto	Sanguinamento, alterazioni dell'alvo

Tab. 1: presentazione clinica dei GIST

Al momento della diagnosi circa il 70% dei casi presenta una malattia in fase localizzata, e le dimensioni delle lesioni variano da pochi millimetri fino a 30-50 cm, con una media di 8 cm. Il restante 30% dei casi si presenta con malattia localmente avanzata o metastatica all'esordio.

Gli esami strumentali più indicativi per la diagnosi di GIST sono i seguenti:

- Endoscopia: esame importante nella diagnosi di lesioni esofagee, gastriche, duodenali e anorettali; siccome i GIST sono lesioni interessanti la sottomucosa, la biopsia eseguita per via endoscopia su mucosa indenne potrebbe risultare falsamente negativa;

- Eco-endoscopia: tecnica diagnostica che consiste nella combinazione dell'esame ecografico con quello endoscopico. È particolarmente indicata per la caratterizzazione di masse sottomucose della parete del tubo digerente, e permette di definire il grado di infiltrazione loco-regionale;
- Ecografia: esame di I livello per il riconoscimento di eventuali localizzazioni secondarie epatiche o addominali di malattia;
- Tomografia Computerizzata (TC): è un esame fondamentale per stabilire l'estensione del tumore ai fini della stadiazione e della pianificazione dell'intervento chirurgico. Utile soprattutto in caso di GIST del piccolo intestino e dell'omento, dove l'endoscopia non è possibile;
- Risonanza Magnetica Nucleare (RMN): metodica di scelta per lo studio di alcune regioni in cui la pianificazione chirurgica risulta particolarmente complessa, come la regione anorettale;
- TC-PET con ¹⁸Fluoro-desossiglucosio (FDG): serve per misurare l'attività metabolica delle lesioni. Utile nella stadiazione della malattia iniziale, nella valutazione precoce della risposta alla terapia e in caso di sospetta recidiva di malattia.

1.5 Diagnosi anatomo-patologica

Per porre con certezza la diagnosi di GIST è indispensabile ottenere la conferma istologica [81].

In caso di riscontro di noduli a sede esofagea, gastrica o duodenale di dimensioni inferiori a 2 cm, sospetti per GIST, l'accertamento bioptico per via endoscopica potrebbe risultare difficoltoso e non diagnostico, per cui l'unico modo per ottenere una conferma istologica sarebbe l'escissione laparoscopica/laparotomica. Tuttavia la maggior parte di questi piccoli noduli risultano poi essere GIST a rischio molto basso di recidiva o addirittura entità il cui significato clinico rimane incerto. Pertanto l'approccio standard per questi pazienti è rappresentato da una valutazione con eco-endoscopia seguita da una sorveglianza strumentale, riservando l'escissione chirurgica solo in caso di aumento dimensionale nel tempo della lesione o in caso di comparsa di sintomi. In caso invece di nodulo rettale l'approccio standard è la biopsia dopo valutazione eco-endoscopica, in quanto i GIST localizzati in tale sede hanno un rischio di recidiva più alto.

Per i noduli con dimensioni superiori ai 2 cm l'approccio standard è l'asportazione chirurgica preferibilmente preceduta da accertamento bioptico. In caso di masse di grandi dimensioni, la cui asportazione chirurgica richiederebbe una resezione multiviscerale, la biopsia, TC o eco-guidata è l'approccio standard. L'ottenimento, infatti, di una diagnosi istologica pre-operatoria, consente di programmare la migliore strategia terapeutica, evitando l'intervento in caso di malattie dove non è necessario (per es. linfomi, fibromatosi mesenterica, tumori a cellule germinali).

Il rischio di contaminazione peritoneale, spesso attribuito alla manovra bioptica, è trascurabile se la procedura viene eseguita con la dovuta cautela e affidata a mani esperte [82].

La diagnosi anatomo-patologica di GIST si basa sulla combinazione di una valutazione morfologica, IHC e, in casi selezionati, dell'analisi molecolare.

Dal punto di vista morfologico, i GIST si suddividono in GIST a cellule fusate, a cellule epitelioidi e a cellularità mista, anche se tale sottoclassificazione non ha rilevanza clinica (Fig. 5).

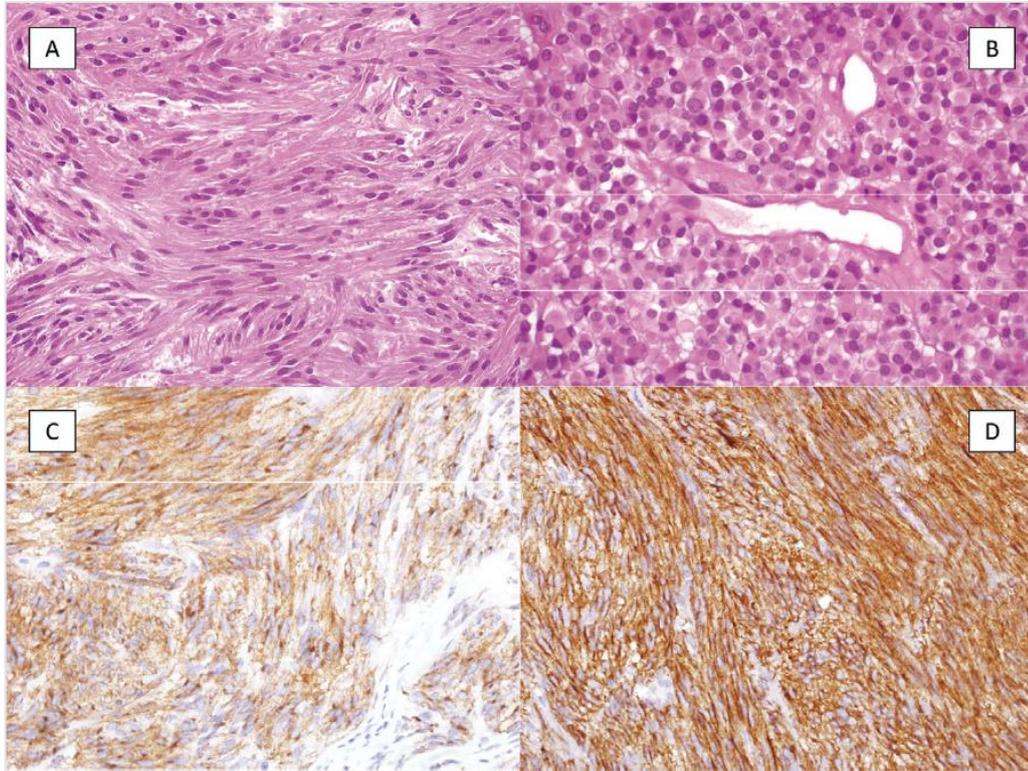


Fig. 5: A) GIST a cellule fusate (ematossilina-eosina, 20x); B) GIST a cellule epitelioidi (ematossilina-eosina, 20x); C) Immunopositività a CD117 (40x); D) Immunopositività a DOG1+ (40x) [81]

Il pattern predominante, indipendentemente dalla sede, è quello a cellule fusate, osservato nel 70-80% dei GIST e caratterizzato da cellule a forma allungata con nuclei ovali e possibili vacuoli perinucleari. Il restante 20-30% dei GIST, invece, è formato prevalentemente da grandi cellule rotonde o poligonali, di aspetto epitelioidi, con bordi cellulari ben definiti e con abbondante e chiaro citoplasma.

L'indice mitotico deve essere espresso come numero di mitosi in un'area di 5mm², equivalente a 50 campi a forte ingrandimento (*high power fields* - HPF).

Dal punto di vista IHC, più del 90% dei GIST mostra una diffusa positività citoplasmatica per KIT (CD117). Circa il 5% di tutti i casi invece è negativo per KIT (CD117) [46]. Tuttavia un terzo di questi casi mostra una positività a DOG1, che a oggi

viene considerato un nuovo marcatore sensibile e specifico per i GIST [83]. Altri marcatori immunofenotipici, variabilmente espressi ma non specifici per i GIST sono CD34, actina muscolo liscio, h-caldesmon e, raramente, desmina. Infine si osserva frequentemente una forte positività per PDGFRA nei casi PDGFRA-mutati, anche se tale dato necessita di ulteriori validazioni [84].

La valutazione dei marcatori immunofenotipici appropriati nel contesto dell'analisi morfologica permette nella stragrande maggioranza dei casi di poter effettuare con certezza la diagnosi (Tab. 2).

Istotipo	KIT	DOG1	des	Sma	h-Cal	S-100	HMB-45	EMA	β -cat
GIST	95%	95%	20%	40%	70%	5%	-	-	-
LMS	-	-	90%	90%	90%	-	-	-	-
CSCHW	-	-	-	-	-	>95%	-	-	-
SS	-	-	-	-	-	30%	-	-	-
PEComa	-	-	80%	80%	-	-	>95%	-	-
FDSC	-	-	-	-	-	-	-	>90%	-
DF	-	-	-	>90%	-	-	-	-	80%

Tab. 2: panel immunoistochimico per la diagnosi dei tumori mesenchimali gastrointestinali [83,84]

LMS = leiomiomasarcoma; CSCHW = schwannoma; SS = sarcoma sinoviale; FDSC = sarcoma a cellule follicolari dendritiche; DF = fibromatosi desmoide.

L'analisi molecolare dello stato mutazionale di KIT (esoni 11, 9, 8, 13, 17) e di PDGFRA (esoni 12, 14, e 18) potrebbe essere di aiuto per la conferma diagnostica, specialmente in quei casi incerti CD117/DOG1 negativi a cellule fusate. Inoltre avendo sia un valore predittivo di risposta al trattamento che prognostico, l'analisi molecolare dovrebbe far parte del work-up diagnostico di tutti i GIST.

L'assetto anatomico-patologico ha un ruolo chiave anche nella valutazione del rischio di recidiva. Pertanto il report anatomico-patologico, per essere completo e affidabile, deve

sempre comprendere la sede della lesione, le dimensioni, la conta mitotica e i margini di resezione dopo la chirurgia (R0, R1 e R2) [81].

1.6 Classificazione del rischio di recidiva

Il primo modello di classificazione del rischio di recidiva basato sui *National Institute of Health (NIH) consensus criteria*, elaborato nel 2002 da *Fletcher* e validato dal *Consensus Approach*, riconosceva quattro gruppi di rischio (molto basso, basso, intermedio e alto rischio) prendendo in considerazione due parametri principali per predire il comportamento biologico dei GIST: il diametro del tumore e l'indice mitotico espresso in numero di mitosi per 50/HPF [85] (Tab. 3).

	Dimensioni (cm)	Indice mitotico (n°/50HPF)
Rischio molto basso	< 2	< 5/50HPF
Rischio basso	2-5 cm	≤ 5/50HPF
Rischio intermedio	≤ 5 cm 6-10 cm	6-10/50HPF ≤ 5/50HPF
Rischio alto	> 5 cm > 10 cm Ogni dimensione	> 5/50HPF Ogni indice mitotico > 10/50HPF

Tab. 3: classificazione del rischio NIH2002 [85]

Nel 2006 è stato proposto un nuovo sistema di valutazione del rischio, secondo gli *Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) criteria*, il quale all'indice mitotico e alle dimensioni tumorali, ha incorporato anche la sede del tumore primitivo [86] (Tab. 4).

Dimensioni	Indice mitotico	Stomaco	Duodeno	Digiuno/Ileo	Retto
≤ 2	≤ 5/50HPF	Nessuno	Nessuno	Nessuno	Nessuno
2-5		Molto basso	Basso	Basso	Basso
5-10		Basso	Intermedio	Nessun dato	Nessun dato
> 10		Intermedio	Alto	Alto	Alto
≤ 2	> 5/50HPF	Nessuno	Alto	Nessun dato	Alto
2-5		Intermedio	Alto	Alto	Alto
5-10		Alto	Alto	Alto	Alto
> 10		Alto	Alto	Alto	Alto

Tab. 4: classificazione del rischio secondo *Miettinen - AFIP criteria* – [86]

Tale sistema classificativo, facendo distinzione tra due gruppi principali, individuati in base al numero di mitosi ($\leq 5/50\text{HPF}$ vs $> 5/50\text{HPF}$), a loro volta suddivisi in quattro categorie basate sulle dimensioni, si incentra sull'evidenza che, a parità di indice mitotico e di dimensioni, i GIST gastrici tendono ad avere una prognosi più favorevole di quelli del piccolo intestino o rettali.

La rottura tumorale, sia spontanea che provocata in corso di intervento chirurgico, rappresenta un fattore di rischio indipendente rispetto agli altri parametri [87]. Sulla base di questo, sono state elaborate delle mappe su un pool di pazienti con GIST non sottoposti a terapia adiuvante (Joensuu, 2012), basate su un sistema non lineare che integra le dimensioni del tumore e l'indice mitotico, in rapporto alla sede del tumore e alla presenza o meno di rottura tumorale [87] (Fig. 6).

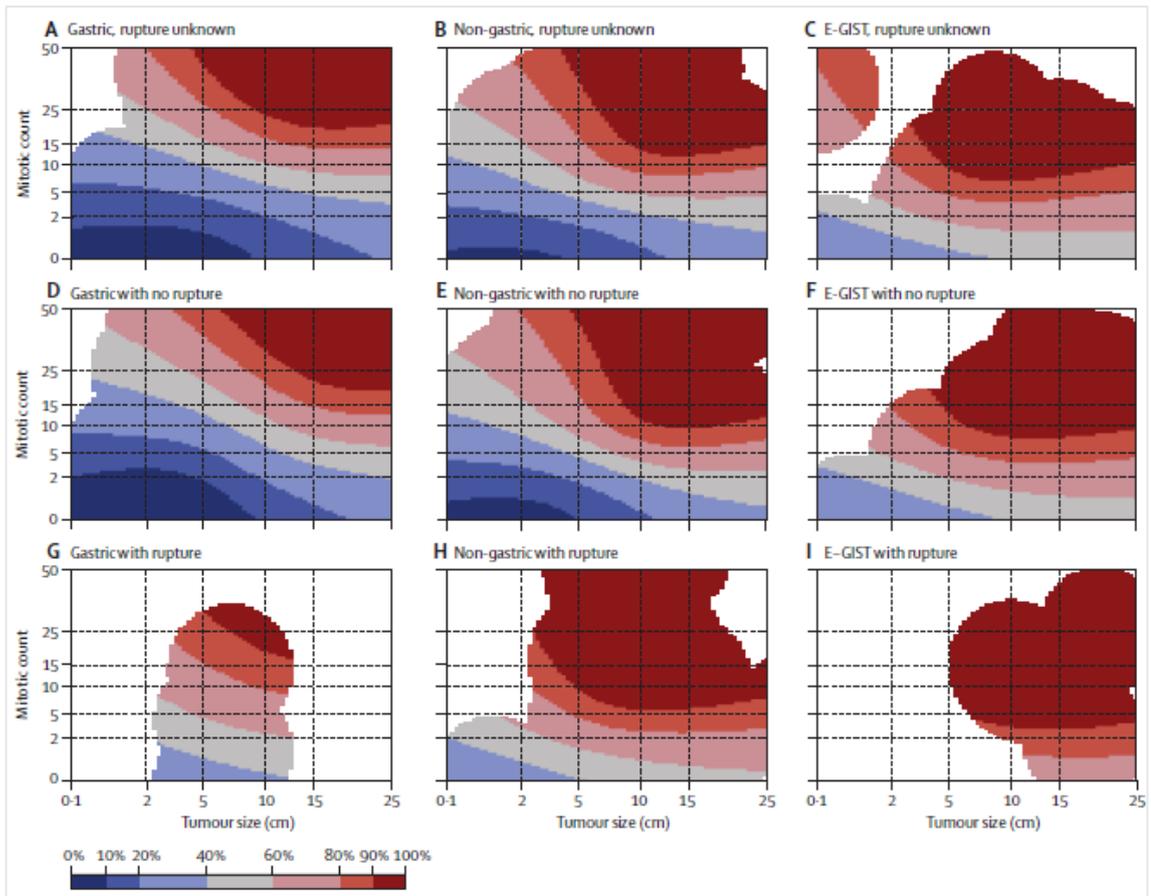


Fig. 6: classificazione del rischio secondo Joensuu [87]

Più controverso invece è il ruolo dei margini chirurgici nella valutazione del rischio di recidiva, sul quale le evidenze scientifiche sono discordanti [88-91].

1.7 Trattamento della malattia localizzata operabile

Il trattamento standard per i GIST localizzati ed operabili è rappresentato dalla chirurgia, che si è dimostrata avere un impatto sulla sopravvivenza a lungo termine [88]. L'obiettivo della chirurgia è la resezione completa a residuo zero (R0) del tumore, con la pseudocapsula intatta; questo è un aspetto critico, in quanto la rottura tumorale rappresenta un fattore prognostico negativo indipendente.

A oggi vi è unanimità nel ritenere la resezione radicale un fattore prognostico significativo ai fini della sopravvivenza: infatti in uno studio del 2000 è stata riportata una mediana di sopravvivenza di 46 mesi in caso di resezione radicale, contro una mediana di soli 10 mesi in caso di resezione incompleta [92]. Non vi è, invece, unanimità nel ritenere l'infiltrazione microscopica dei margini di resezione fattore in grado d'influenzare il rischio di recidiva e la sopravvivenza [88-90].

Per quanto riguarda le tecniche chirurgiche adottate, esse dipendono strettamente dalla sede d'insorgenza della neoplasia e dalle sue dimensioni: nei casi più auspicabili di lesioni di piccole dimensioni e in sedi facilmente accessibili, si praticano resezioni limitate che possono anche essere effettuate per via laparoscopica [93,94]; in caso invece di lesioni di grosse dimensioni e in sedi difficilmente raggiungibili, sono necessarie resezioni ampiamente demolitive e per le quali s'impone una chirurgia "a cielo aperto". In particolare:

- in caso di localizzazione gastrica (la più frequente in assoluto), se il tumore ha dimensioni non superiori ai 5 cm, si può effettuare una *wedge resection* limitata alla porzione di parete coinvolta dalla neoplasia con margine libero, eventualmente anche per via laparoscopica se la massa è localizzata nella parete gastrica anteriore (posizione gestibile senza particolari difficoltà tecniche). Se, invece, la lesione ha dimensioni superiori ai 5 centimetri e c'è sconfinamento negli organi vicini, si rendono necessarie la resezione gastrica parziale oppure la gastrectomia totale fino anche all'esofago-gastrectomia totale eventualmente allargata agli organi adiacenti; in quest'ultimo caso, gli organi più frequentemente coinvolti sono la milza, la coda del pancreas, il diaframma, l'omento, il colon trasverso e il lobo sinistro del fegato;

- in caso di localizzazione digiunale, la seconda per frequenza, è indicata la resezione segmentaria con gli stessi criteri accettati per le altre neoplasie maligne di questo tratto gastrointestinale, che prevedono la resezione comprendente i 10 cm di intestino prossimali e distali alla neoplasia stessa e la porzione di ventaglio mesenterico corrispondente. Se è coinvolta la valvola ileocecale è giustificata l'emicolectomia destra tipica [95];
- in caso di localizzazione duodenale, s'impone nella maggior parte dei casi la duodenocefalopancreasectomia per garantire la radicalità. Per le localizzazioni limitate al bulbo possono essere programmate, però, resezioni meno demolitive, come la resezione antroduodenale, mentre per le neoplasie limitate alla terza o alla quarta porzione duodenale si può optare per una resezione segmentaria [95];
- in caso di localizzazione colica, se le dimensioni della massa tumorale sono contenute, è oncologicamente corretta la resezione segmentaria; se invece ci si trova in presenza di tumori di dimensioni maggiori di 5 cm o di criteri di malignità evidenti già nello studio preoperatorio è necessario ricorrere allo stesso tipo di resezioni previste in caso di adenocarcinomi [96];
- in caso di localizzazione rettale, peraltro estremamente rara, l'intervento più utilizzato è l'exeresi mediante resezione anteriore del retto. Non si ritiene però necessaria l'escissione totale del mesoretto vista la bassa probabilità di diffusione nei linfonodi in esso compresi [97];
- in caso di localizzazione esofagea (3%-5% dei casi) si ricorre di solito all'esofagectomia parziale nei casi di minori dimensioni oppure all'esofagectomia totale a torace chiuso, per le localizzazioni medio-alte. L'esofagectomia con accesso toracico o toracoaddominale è riservata ai casi di maggiori dimensioni, con forte sospetto d'infiltrazione extraparietale [98].

Nei casi in cui la massa neoplastica infiltra più organi o nel caso di un GIST omentale o mesenterico, è indicata una resezione *en bloc* al fine di evitare la rottura della capsula o il seeding intra-addominale [99].

Indipendentemente dalla sede e dalle dimensioni tumorali, la bassa frequenza di diffusione linfonodale (0%-15% dei casi) non giustifica la linfadenectomia regionale

sistematica, a meno che, ovviamente, non vi sia infiltrazione macroscopicamente evidente, caso in cui si procederà all'escissione solo delle stazioni interessate. Inoltre, sempre per tutti i GIST, vale la raccomandazione di manipolare con particolare delicatezza il tumore in considerazione della facilità di rottura che potrebbe favorire l'attecchimento delle cellule neoplastiche libere in peritoneo [100].

Dopo la sola chirurgia, il tempo mediano di recidiva è compreso tra 7 mesi e 2 anni e solamente il 10% dei pazienti rimane libero da malattia dopo un prolungato follow-up. La sede più frequente di metastasi è il fegato (65% dei casi), seguito dal peritoneo (20% dei casi), mentre molto più rare sono le localizzazioni a livello linfonodale (6% dei casi), scheletrico (6% dei casi) o polmonare (2% dei casi) [88].

Alla luce dell'elevato tasso di recidiva di malattia, sulla scorta degli ottimi risultati dimostrati nella malattia avanzata, è stato studiato il possibile ruolo di imatinib nel setting adiuvante (Tab. 5).

Studio	Trattamento	Pazienti	Efficacia
ACOSOG Z9001 Randomizzato, Fase III, doppio cieco [Dematteo RP, Lancet 2009]	Imatinib 400 mg/die x 1 anno (n=359) vs placebo (n=354) per 1 anno	Dimensioni ≥ 3 cm N = 173 KIT +	1-years RFS: 98% vs 83% (p < 0.0001) OS non significativa per 1 anno
SSG XVIII/AIO, Randomizzato, Fase III, aperto [Joensuu 2012]	Imatinib 400 mg/die x 1 anno (n = 200) vs 3 anni (n = 200)	Rischio alto (sec. NIH2002), KIT +	5aa RFS: 47.9% vs 65.6% (p<0,001) 5 aa OS: 81.7%vs 92.0% (p = 0,02)
EORTC 62024, Randomizzato, Fase III, aperto [Casali PG, J Clin Oncol 2015]	Imatinib 400 mg/die x 2 anni (n = 454) vs osservazione (n = 454)	Rischio intermedio/alto (sec. NIH2002)	3aa e 5 aa RFS: 84% vs 66% e 69% vs 63% (p < 0,001) 5aa IFFS: 87% vs 84% (p = 0,21)* 5aa OS: 91,8% vs 92,7%

Tab. 5: studi clinici relativi ad imatinib nel setting adiuvante [101-104]

[RFS: Relapse-free-survival; OS: Overall Survival; IFFS: Imatinib failure-free survival

* Con un trend a favore di imatinib nel sottogruppo ad alto rischio]

I primi dati riguardo l'impiego di imatinib ad intento adiuvante derivano dallo studio americano ACOSOG Z9001 effettuato su pazienti affetti da GIST di 3 o più cm, sottoposti a chirurgia completa [101]. I pazienti arruolati, sono stati randomizzati a ricevere imatinib al dosaggio di 400 mg/die o placebo per 1 anno. I risultati hanno dimostrato una riduzione del rischio di recidiva dal 17% al 3% ($p < 0.01$) a favore di imatinib, senza tuttavia mostrare una differenza statisticamente significativa in termini di *overall survival*. Sulla base di questo risultato, l'FDA nel dicembre 2008 e l'EMA nel marzo 2009 hanno dato l'approvazione all'uso di imatinib per 1 anno nei pazienti radicalmente operati per GIST con un rischio significativo di recidiva.

Successivamente, per definire la durata ottimale del trattamento adiuvante sono stati condotti alcuni studi:

- lo studio EORTC 62024 che ha confrontato l'impiego di imatinib per 2 anni verso la sola osservazione nei pazienti radicalmente operati per GIST a rischio intermedio-alto di recidiva, ha evidenziato che dopo un follow-up di 3 anni la sopravvivenza libera da recidiva (RFS) era dell'84% nei pazienti sottoposti al trattamento con imatinib vs il 66%, mentre a 5 anni 69% vs 63% ($p < 0.001$). La sopravvivenza globale a 5 anni era del 91,8% vs 92,7%. Per i pazienti ad alto rischio la sopravvivenza libera da fallimento di imatinib a 5 anni mostrava un trend a favore di imatinib (87% vs 84%, $p = 0.21$) [102].
- lo studio SSGXVIII/AIO che ha confrontato l'impiego di imatinib per 1 anno verso 3 anni in pazienti radicalmente operati per GIST a rischio elevato di recidiva [103,104]. Dai risultati di quest'ultimo studio è stato dimostrato un vantaggio statisticamente significativo sia in termini di RFS che di sopravvivenza globale (OS) a 5 anni a favore dei pazienti trattati per 36 mesi rispetto a quelli trattati per 12 mesi (5-anni RFS 65.6% vs 47.9%; 5-anni OS 92.0% vs 81.7%) [104].

Attualmente le linee guida dell'ESMO suggeriscono l'impiego della terapia adiuvante con imatinib per 3 anni per i GIST ad alto rischio di recidiva, mentre non è considerata necessaria per i GIST a basso rischio. Quando il rischio è intermedio la scelta deve essere valutata caso per caso e condivisa con il paziente [105].

Indipendentemente dalla classe di rischio, in caso di rottura tumorale le linee guida pongono indicazione al trattamento adiuvante con imatinib, anche se al momento la durata del trattamento in questo subset di pazienti rimane ancora indefinita.

L'analisi molecolare è fondamentale per la selezione dei pazienti da trattare, escludendo quelli per cui è nota la non sensibilità ad imatinib, come i GIST con mutazione D842V di PDGFRA. Più controversa è l'indicazione al trattamento adiuvante nei pazienti KIT/PDGFRA WT, sia in virtù della loro minore sensibilità ad imatinib che della loro storia naturale indolente specialmente in caso di GIST sindromici. Tuttora dibattuto è anche l'uso di imatinib al dosaggio raddoppiato (800 mg/die) in caso di GIST con mutazione a carico dell'esone 9 del gene KIT anche nel setting adiuvante, alla luce dei dati ormai consolidati nel setting metastatico [106-108].

1.8 Trattamento della malattia localizzata non operabile

Prima dell'avvento degli inibitori tirosin chinasi nell'armamentario terapeutico dei GIST, la sopravvivenza dei pazienti con lesioni giudicate non operabili alla diagnosi, non esistevano possibilità di trattamento alternative e la sopravvivenza mediana di questi pazienti non raggiungeva l'anno, con un tasso di sopravvivenza a 5 anni inferiore al 35% [88]. La chirurgia era presa in considerazione solo in condizioni di urgenza (rottura, emorragia digestiva, occlusione) o ad intento palliativo.

Ad oggi invece l'imatinib, grazie all'elevata percentuale di risposte obiettive ottenute nel trattamento della malattia avanzata, che si aggira intorno all'80%, rappresenta il gold standard anche per il trattamento pre-operatorio nei casi in cui una chirurgia R0 non sia fattibile. Questa condotta deve essere tenuta anche nel caso in cui il chirurgo ritenga che l'intervento chirurgico sia più sicuro dopo citoreduzione, ad esempio per diminuire il rischio di sanguinamento e di rottura del tumore. In seguito alla risposta massima del tumore ad imatinib, in genere dopo 6-12 mesi, può essere riconsiderata l'opzione chirurgica [109].

Pertanto nei casi di GIST ritenuti non operabili, o localizzati in sedi anatomiche per cui sarebbe necessaria una chirurgia molto demolitiva (GIST rettali o esofagei) deve essere considerato un trattamento pre-operatorio ad intento citoreducente con imatinib, riservando la chirurgia dopo aver ottenuto la massima risposta al trattamento.

Il ruolo dell'analisi mutazionale in questo setting di trattamento è di selezionare i pazienti che non potrebbero beneficiare di un trattamento citoreducente, in quanto portatori di mutazioni che conferiscono resistenza primaria ad imatinib, come la mutazione D842V a carico dell'esone 18 di PDGFR, o di utilizzare il dosaggio di imatinib più appropriato in caso di GIST con mutazione a carico dell'esone 9 di KIT.

1.9 Trattamento della malattia avanzata/metastatica

La sede più frequente di metastasi è il fegato (65% dei casi), seguito dal peritoneo (20% dei casi), mentre molto più rare sono invece le localizzazioni a livello linfonodale (6% dei casi), scheletrico (6% dei casi) o polmonare (2% dei casi) [88].

Prima dell'avvento di imatinib, il trattamento medico dei GIST avanzati e/o inoperabili si basava su schemi chemioterapici utilizzati nel trattamento degli altri sarcomi, con un tasso di risposte inferiore al 10%, un tempo mediano alla progressione di soli 3-4 mesi e nessun vantaggio in termini di sopravvivenza [109, 110]. La scoperta e l'introduzione nella pratica clinica degli inibitori tirosin-chinasici hanno rappresentato un progresso notevole nel trattamento dei GIST, consentendo di ottenere tassi elevati di risposta alla terapia, modificando radicalmente la storia naturale e la prognosi dei pazienti affetti da questa malattia.

Ad oggi i farmaci approvati nel trattamento dei GIST in fase avanzata sono i seguenti:

Imatinib: inibitore selettivo dei recettori tirosin-chinasici KIT, PDGFRA e Bcr/Abl, approvato dalla FDA in febbraio 2001 come prima linea standard di trattamento dei GIST localizzati inoperabili o metastatici. Il suo meccanismo di azione si esplica attraverso il suo legame a livello della tasca deputata ad accogliere l'ATP (agente ATP-mimetico), impedendo così l'idrolisi del dominio tirosin-chinasico del recettore e bloccando tutte le vie di trasduzione del segnale a valle (Fig. 7) [111].

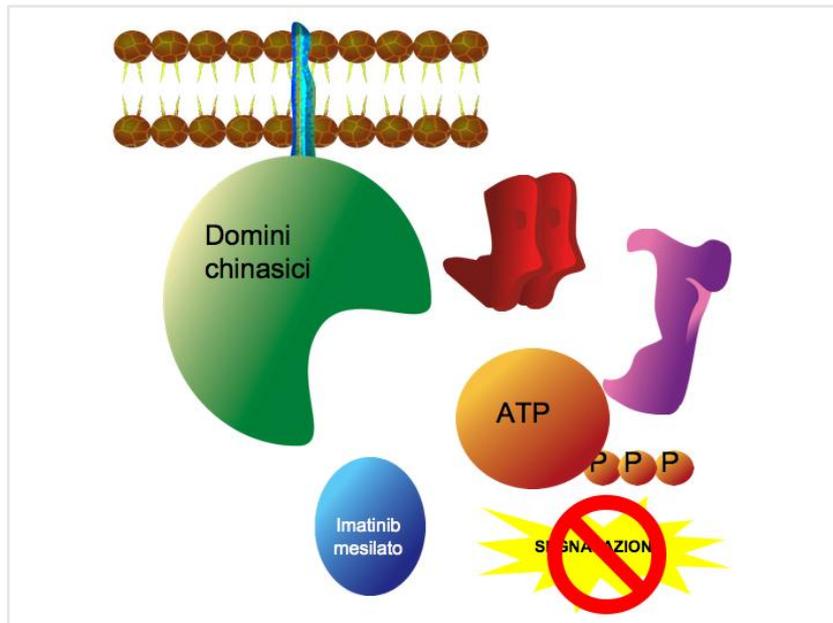


Fig. 7: meccanismo d'azione di imatinib

Dopo la dimostrazione pre-clinica che imatinib fosse in grado di inibire l'attività del recettore tirosin-chinasico KIT [112] e i risultati ottenuti nel trattamento della Leucemia Mieloide Cronica (CML) [113,114], *Joensuu* e colleghi furono i primi a pubblicare l'aneddotico caso di una paziente affetta da GIST metastatico trattata con sorprendente successo con imatinib [115]. L'eccezionale risultato ottenuto in quella paziente, portò allo sviluppo di due studi di fase I/II, che, su 148 e 36 pazienti rispettivamente, riportarono un tasso di risposte obiettive maggiore del 50%, associato ad una percentuale di risposte minori precoci o di stabilizzazione di malattia superiori al 25% [5,116,117]. Questi risultati rappresentarono un tale progresso nella terapia dei GIST avanzati, che divenne non-etico disegnare studi di fase III con un braccio di non-trattamento.

Il dosaggio raccomandato di imatinib è di 400 mg/die fino a progressione di malattia [118]. Nel sottogruppo di pazienti portatori della mutazione a carico dell'esone 9 di KIT, il dosaggio raccomandato è di 800 mg/die, alla luce degli studi di correlazione tra il genotipo e l'*outcome* clinico, che hanno dimostrato un netto vantaggio in termini di response rate (67% vs 17%) nel braccio trattato con il doppio della dose standard [106,107,119].

Il trattamento dovrebbe essere continuato indefinitamente poiché l'interruzione del trattamento è generalmente seguita da una rapida progressione del tumore, anche in caso di risposta completa o asportazione chirurgica delle lesioni secondarie [120].

In caso di progressione, l'approccio standard è l'aumento della dose di imatinib a 800 mg/die, fatta eccezione per i pazienti portatori di mutazioni resistenti al farmaco o che siano stati trattati con imatinib 800 mg/die fin dall'inizio.

Sunitinib: inibitore multitirosin-chinasico dei recettori KIT, PDGFR α , PDGFR β , VEGFR1, VEGFR2 e VEGFR3, FLT3, CSF-1R, RET, approvato nel 2006 per il trattamento dei pazienti affetti da GIST avanzato/metastatico resistenti o intolleranti ad imatinib.

Il suo meccanismo di azione si esplica attraverso la duplice inibizione di bersagli specificamente coinvolti nella patogenesi dei GIST quali KIT e PDGFRA e di bersagli coinvolti nell'angiogenesi tumorale con conseguente effetto anti-angiogenetico (Fig. 8) [121].

Nello studio di fase III che ha portato alla sua approvazione, sunitinib si è dimostrato vantaggioso sia in termini di controllo di malattia, con un guadagno statisticamente significativo del tempo alla progressione (27.3 vs 6.4 settimane, $p < 0.0001$) che di sopravvivenza globale rispetto al braccio di non trattamento [7].

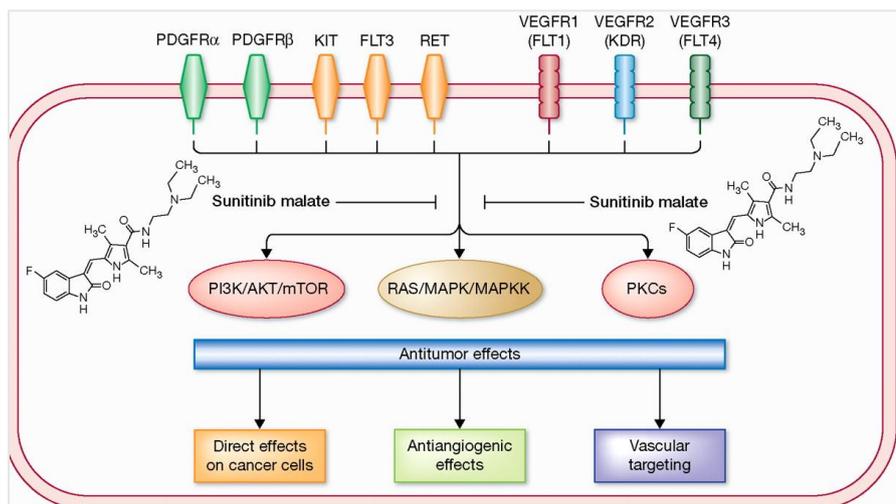


Fig. 8: meccanismo d'azione di sunitinib (tratto da Aparicio-Gallego G et al; Molecular Cancer Ther 2011;10:2215-23)

Nonostante il fatto che nello studio registrativo il sunitinib sia stato somministrato secondo la schedula intermittente (50 mg per 4 settimane seguite da 2 settimane di interruzione), il dosaggio ad oggi in uso nella pratica clinica è di 37.5 mg/die ad assunzione continuativa, in considerazione della pari efficacia a fronte di un migliore profilo di tollerabilità [122].

Regorafenib: inibitore multitirosin-chinasico dei recettori KIT, PDGFR, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, RET, FGF1R, B-RAF e MAPK, che si è dimostrato attivo nei confronti di numerose linee cellulari, incluse quelle di GIST [123]. Un successivo studio di fase II condotto su 34 pazienti affetti da GIST resistenti sia ad imatinib che a sunitinib trattati con regorafenib ha riportato una sopravvivenza libera da progressione mediana di 10 mesi [124]. Sulla base di queste promettenti evidenze, è stato condotto uno studio multicentrico di fase III (GRID Trial) su 199 pazienti, che ha dimostrato un vantaggio statisticamente significativo del braccio di trattamento con regorafenib in termini di sopravvivenza libera da progressione (PFS) (4.8 vs 0.9 mesi, $p < 0.0001$) nei pazienti pre-trattati affetti da GIST avanzato [125].

Attualmente il regorafenib è approvato nel trattamento dei GIST non resecabili o metastatici dopo progressione di malattia o intolleranti al trattamento precedente con IM e SU, con un miglioramento nella sopravvivenza libera da progressione rispetto al placebo di 4,8 mesi vs 0,9 mesi ($p < 0,000001$) [8].

Rechallenge di IM: in caso di progressione, in assenza di ulteriori linee di trattamento approvate, il *rechallenge* di imatinib rappresenta un'opzione terapeutica valida, con un PFS di 1.8 mesi rispetto ai 0.9 mesi del gruppo in placebo e un profilo di tollerabilità del tutto accettabile [126].

Il razionale biologico alla base del *rechallenge* è la probabile persistenza o sviluppo di cloni di malattia sensibili al farmaco. Analogamente, il mantenimento del trattamento con un inibitore tirosin-chinasico anche in caso di progressione di malattia può rallentare la progressione, pertanto anche il proseguimento della terapia “*beyond progression*” specialmente in caso di beneficio clinico, rappresenta un'opzione terapeutica adottata nella pratica clinica [127,128].

Chirurgia: il ruolo della chirurgia nel trattamento dei GIST in fase avanzata di malattia è cambiato radicalmente dopo l'avvento degli inibitori tirosin-chinasici. Infatti se prima la chirurgia veniva utilizzata solo in caso di emergenza o a scopo palliativo, ad oggi invece viene sempre di più integrata al trattamento medico, soprattutto in caso di malattia in risposta o in progressione limitata [129-131]. In questo setting la discussione dei singoli casi nell'ambito di un team multidisciplinare è fondamentale [132].

Nuovi farmaci: sono state studiate diverse molecole per il trattamento dei GIST resistenti alle terapie standard. Si tratta di inibitori multitarget di terza generazione che hanno lo scopo di inibire altri recettori di membrana, oltre al recettore KIT, o diretti contro molecole a valle della cascata di segnale sia a partenza da KIT/PDGFR α come PI3K/AKT/mTOR e RAS/RAF/MEK/ERK, sia indipendenti da KIT/PDGFR α , come HSP90, IGF1R, FAK e FAS/FASL (Tab. 6) [133,134].

Target	Attività	Farmaci	Trial/Fasi	Risultati	Ref.
--------	----------	---------	------------	-----------	------

specifiche					
KIT/ PDGFRA	TKI	Ponatinib	NCT01874665	37% CBR	[135]
	multitarget (KIT esone17 D816-chinasi mutate)		Fase II	alla 16° settimana	[136]
			AIO-STS- 0115 Fase II	Atteso	
	TKI	Dasatinib	Fase II	32% PR;	[137]
	multitarget (PDGFRA D842V)		NCT01643278 Fase I (+ ipilimumab)	21% PFS a 6 mesi atteso	[138]
TKI	Crenolanib	NCT01243346	31% CBR	[139]	
multitarget KIT		FaseI/II			
D816V/PDGF RA D842V inibitori	BLU285	NCT02508532	Atteso	[140]	
		FaseI			
PI3K	PI3K inibitori	BYL719	NCT01735968	Atteso	[141]
			Fase I		
Inibitori selettivi PI3K catalitico subunità p110α	Buparlisib	Fase I	Atteso	[142]	
BRAF V600E	Inibitori	Vemurafenib	NCT02304809	Atteso	[143]
	BRAF		Fase II		
MEK	Inibitori MEK	Binimetinib	NCT01991379	33% Pr	[144]
			FaseIb/II (+ imatinib)		
MEK1/2 TKI	Trametinib	NCT02342600	Atteso	[145]	
		Fase II (+ pazopanib)			
MET	Inibitore di	Cabozantinib	Fase I	SD di lunga	[146]
	MET e KIT			durata	

			NCT02216578	Atteso	[147]
			FaseII		
FGFR	Pan-FGFR inibitori	BGJ398	NCT02257541	Atteso	[148]
			Fase Ib/II (+imatinib)		
IGF1R	IGF1R inibitore	Linsitinib	NCT01560260	45% CBR; 52% PFS, 80% OS a 9 mesi	[149]
HSP90	HSP90 inibitore	Onalespib	NCT01560260	36% CBR	[150]
			Fase I	Atteso	
			NCT01294202		
			Fase II (+imatinib)		[151]
CTLA4	Anticorpi anti CTLA4	Ipilimumab	NCT01738139	PR	[152]
			Fase I (+ imatinib)	singolo	
			NCT01643278	SD	
			Fase I (+dasatinib)	duraturo per più di 59 settimane	[138]
CDK	CDK4/6 inibitore	Palbocklib	NCT01907607	Atteso	[153]
			Fase II		

Tab. 6: nuovi farmaci sviluppati per il trattamento del GIST avanzato ma mai approvati in studi di fase III [154]

1.10 La resistenza primaria e secondaria agli inibitori tirosin-chinasici

Nonostante che l'introduzione dei TKI nel trattamento dei GIST abbia enormemente modificato la storia naturale di questi tumori ottenendo, in circa il 75-90% dei casi, un beneficio clinico in termini di risposta parziale o completa e di stabilità di malattia, circa il 10-15% dei pazienti presentano una resistenza primaria, ovvero sviluppano una resistenza entro 6 mesi dall'inizio del trattamento. Inoltre, anche i pazienti inizialmente responsivi alla terapia tendono a sviluppare una resistenza secondaria in un tempo mediano di 24 mesi.

Resistenza primaria: è stato ampiamente dimostrato come la resistenza primaria sia strettamente correlata allo stato mutazionale di KIT e PDGFRA (Tab. 7).

Classificazione molecolare dei GIST	
GIST sporadici	Commenti
Mutazioni di KIT	
- esone 11	Massima sensibilità ad imatinib
- esone 9	Sensibilità intermedia ad imatinib
- esone 13	Sensibile ad imatinib <i>in vitro</i> , osservate risposte cliniche
- esone 17	Sensibile ad imatinib <i>in vitro</i> , osservate risposte cliniche
Mutazioni di PDGFRA	
- esone 14	Sensibile ad imatinib <i>in vitro</i> , osservate risposte cliniche
- esone 18	D842V resistente ad imatinib; le altre mutazioni sono sensibili ad imatinib
KIT/PDGFRA WT	Sensibilità ad imatinib variabile a seconda delle casistiche.

Tab. 7: correlazione tra lo stato mutazionale di KIT e PDGFRA e resistenza ad imatinib [108,155]

In particolare i pazienti portatori della mutazione puntiforme a carico dell'esone 18 di PDGFRA (D842V) sono resistenti al trattamento con imatinib [108,155]. Al contrario i pazienti con mutazione a carico dell'esone 11 di KIT presentano un tasso di risposta

dell'83,5%, superiore al 48% osservato nei pazienti con mutazione a carico dell'esone 9 di KIT [108,156]. I GIST KIT/PDGFR WT sono maggiormente resistenti ad imatinib rispetto agli altri sottogruppi, con tassi di risposta variabile a seconda degli studi esaminati [108,156,157].

Resistenza secondaria: i meccanismi noti di resistenza secondaria ai TKI sono molteplici e possono essere di natura recettoriale, da attribuire all'acquisizione di anomalie strutturali e funzionali dei recettori KIT e PDGFRA, o più raramente, di natura non recettoriale da attribuire ad alterazioni cromosomiche e a variabili farmacocinetiche (Fig. 9) [28].

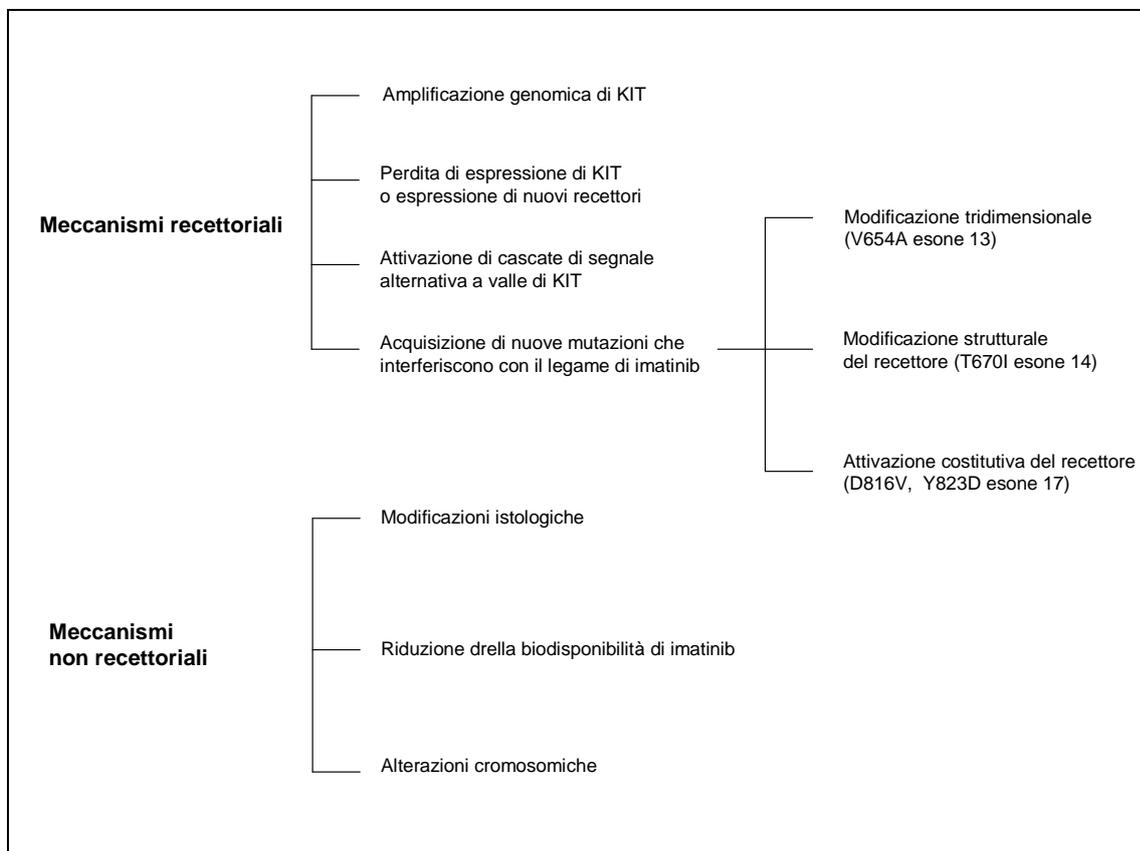


Fig. 9: meccanismi noti di resistenza secondaria agli inibitori tirosin-chinasici [28]

Sono stati identificati quattro meccanismi principali di resistenza secondaria correlati ai recettori KIT e PDGFRA: a) amplificazione genomica di KIT; b) perdita dell'espressione in superficie di KIT e attivazione alternativa di un altro recettore tirosin-chinasico; c) attivazione di una via di segnalazione intracellulare alternativa; d) acquisizione di nuove mutazioni a carico di KIT e PDGFRA che interferiscono con il legame ad imatinib [158]. Quest'ultimo punto rappresenta il meccanismo di resistenza

secondaria in assoluto più frequente. La mutazione acquisita più frequente descritta in letteratura nei casi di resistenza secondaria ad imatinib, soprattutto nei pazienti portatori di una mutazione primitiva a carico dell'esone 11 del gene KIT, è la mutazione V654A dell'esone 13 [159-162].

Numerosi studi condotti negli ultimi anni hanno consentito di individuare altre mutazioni acquisite, soprattutto a carico degli esoni 14 e 17, come ad esempio la mutazione T670I a carico dell'esone 14, che comporta una modificazione strutturale del recettore e le mutazioni puntiformi D816V e Y823D a carico dell'esone 17, che determinano un'attivazione costitutiva del recettore [163-165].

Diversi studi hanno riportato come in uno stesso paziente possano insorgere più mutazioni acquisite contemporaneamente [166-168]. In particolare *Waldermann* e colleghi (2006) hanno dimostrato che in uno stesso paziente possono insorgere più mutazioni, ma che nell'ambito di una stessa lesione, generalmente, è presente una sola mutazione. Inoltre mentre le mutazioni primarie sono presenti in tutti i campioni di materiale biologico tumorale sia prima che dopo il trattamento medico con imatinib, al contrario, le mutazioni acquisite sono riscontrabili solo nelle lesioni secondarie andate in progressione sotto trattamento, come conseguenza dell'evoluzione clonale del nodulo resistente.

Liegl e colleghi (2008) hanno brillantemente descritto l'ampio spettro dei meccanismi di resistenza riscontrabili nell'ambito sia della stessa lesione che di lesioni differenti appartenenti al medesimo paziente, sottolineando il fatto che l'eterogeneità dell'acquisizione di mutazioni secondarie non è solo inter-lesionale ma anche intra-lesionale [169]. Le mutazioni secondarie a carico di PDGFRA sono rare: la mutazione D842V a carico dell'esone 18 di PDGFRA è stata descritta in un paziente portatore di una mutazione V561D [157].

Infine, anche se raramente, le mutazioni secondarie possono insorgere anche su un recettore differente rispetto a quello interessato dalla mutazione primitiva [165,168].

I GIST WT all'esordio non sviluppano mai mutazioni secondarie [169].

Da un punto di vista biologico, le mutazioni secondarie tendono a conferire farmaco-resistenza attraverso una modificazione conformazionale o un'attivazione costitutiva del

recettore tirosin-chinasico [170,171]. Una mutazione *missense* che porti ad una sostituzione amminoacidica, può modificare la struttura tridimensionale del recettore, interferendo con il legame di imatinib, come accade ad esempio nel caso della mutazione secondaria V654A a carico dell'esone 13 [172]. Una modificazione conformazionale della tasca di legame ATP/imatinib si riscontra nel caso della mutazione T670I a carico dell'esone 14 [173].

Infine, le mutazioni secondarie possono conferire resistenza ad imatinib attraverso una stabilizzazione dell'attività chinasica, che preclude il legame di imatinib, come accade nelle mutazioni D816V e Y823D [173,174].

Tuttavia, vi sono altri meccanismi oltre alle mutazioni secondarie responsabili dell'acquisizione di una progressiva resistenza ad imatinib. I più importanti ipotizzati sono: modificazioni istologiche del tumore, riduzione dei livelli plasmatici di imatinib, alterazioni cromosomiche. Dall'analisi istologica di lesioni primitive e secondarie di GIST è emerso che in due pazienti le lesioni secondarie perdevano l'aspetto fusato e l'espressione di KIT, acquisendo invece caratteristiche istologiche di tipo epitelioide [156].

Inoltre è stata osservata la presenza di aree di differenziazione di tipo rabdomioblastico nelle lesioni secondarie di 5 pazienti in trattamento con TKI [175]. Nelle suddette lesioni erano ancora riscontrabili le mutazioni primarie di KIT ma non sono state osservate mutazioni secondarie [175].

Altri meccanismi di resistenza secondaria ad imatinib sono stati descritti in studi *in vitro* come ad esempio l'iperespressione del recettore chinasico oncogenico AXL o le modificazioni dei meccanismi di trasporto degli inibitori chinasici [176].

Oltre alle suddette alterazioni cellulari e molecolari, si è ipotizzato che un ruolo nella resistenza secondaria possa essere svolto anche dalle variazioni dei livelli plasmatici di imatinib: infatti, è stato osservato che bassi livelli plasmatici del farmaco conseguenti ad una scarsa compliance del paziente, alla farmacocinetica individuale o all'interazione con altri farmaci, correlano con una progressione di malattia in tempi più brevi rispetto alla media [177,178]. Studi di farmacogenetica suggeriscono come determinati polimorfismi genici correlino con la risposta individuale ai trattamenti [179,180,181].

1.11 Ruolo dell'analisi mutazionale di KIT e PDGFRA

L'analisi molecolare di KIT e PDGFRA sta diventando sempre più rilevante nella pratica clinica quotidiana, specialmente per l'ormai certa correlazione tra lo stato mutazionale e la risposta al trattamento [108]. Più controversi invece sono il ruolo diagnostico dello stato mutazionale e il significato prognostico da attribuire alle singole mutazioni identificabili [182].

Ruolo diagnostico: il ruolo diagnostico dello stato mutazionale di KIT di PDGFRA è ancora controverso e non rientra ad oggi nella pratica clinica routinaria. Tuttavia l'analisi mutazionale potrebbe essere di aiuto per la conferma diagnostica di GIST, specialmente in quei casi incerti CD117/DOG1 negativi a cellule fusate [81].

Ruolo prognostico: il ruolo prognostico dello stato mutazionale di KIT e di PDGFRA è ancora dibattuto, anche se negli ultimi anni è stata osservata una correlazione tra le mutazioni a carico dell'esone 11 di KIT e un peggiore *outcome* clinico rispetto alle altre mutazioni. In particolare *Ernst* e colleghi (1998) hanno osservato che su 35 pazienti analizzati, il sottogruppo di 13 pazienti portatori di una mutazione all'esone 11 mostrava un tasso di sopravvivenza inferiore ($p = 0.001$), in maniera indipendente rispetto agli altri parametri prognostici noti quali le dimensioni tumorali e l'indice mitotico [31]. Anche quando i GIST venivano classificati come benigni o maligni, le mutazioni a carico dell'esone 11 di KIT erano più frequenti nel sottogruppo di quelli maligni [32].

In uno studio condotto nel 1999 su una casistica più ampia di 124 GIST è stata osservata una chiara differenza in termini prognostici tra i pazienti con e senza mutazioni dell'esone 11 di KIT, anche se in quegli anni non erano note le altre mutazioni, quindi il valore prognostico reale dello stato mutazionale rimane incerto [34]. Un comportamento clinico più aggressivo è stato anche osservato nei GIST mutati per l'esone 9 e 13 di KIT [33,183,184].

L'ipotesi che ogni specifica mutazione potesse avere un valore prognostico è stata avanzata da *Singer* e colleghi (2001), che per la prima volta hanno valutato non solo le mutazioni a carico dell'esone 11 di KIT, ma anche quelle a carico degli esoni 9, 13 e 17.

A un'analisi multivariata hanno osservato che i pazienti portatori di delezioni/inserzioni a carico di KIT avevano un tempo libero alla recidiva più breve rispetto ai pazienti portatori di mutazioni *missenso* di KIT [33]. L'evidenza che i pazienti portatori di mutazioni a carico di KIT hanno una prognosi peggiore è stata confermata in studi successivi su casistiche più ampie [185-187].

Successivamente, all'interno delle singole mutazioni riscontrabili a livello dell'esone 11 di KIT, è emersa l'ipotesi che le inserzioni/delezioni a carico dei codoni 557 e/o 558 avessero un valore prognostico più sfavorevole rispetto agli altri tipi di mutazioni [35,36,188-191].

DeMatteo e colleghi (2008) hanno osservato ad un'analisi univariata che su 127 pazienti affetti da GIST radicalmente operato, le mutazioni a carico dell'esone 9 e le delezioni dei codoni 557 e/o 558 dell'esone 11 di KIT si correlano al tasso di recidiva più alto, che le mutazioni puntiformi e le inserzioni a carico dell'esone 11 al tasso di recidiva più basso, mentre i pazienti KIT/PDGFRA WT mostrano un *outcome* intermedio [187]. Nel suddetto studio solo 4 pazienti erano portatori della mutazione dell'esone 9 di KIT, pertanto il valore prognostico di tale mutazione non è definibile per la casistica troppo limitata [187]. Lo *Spanish Group for Sarcoma Research* (GEIS) a conferma ulteriore del valore prognostico negativo delle delezioni a carico dei codoni 557 e/o 558 dell'esone 11 di KIT, definite come mutazioni critiche, rispetto alle altre mutazioni, ha osservato che le delezioni critiche rappresentano un fattore prognostico indipendente dopo un prolungato follow-up [189]. In particolare hanno osservato come i pazienti portatori di mutazioni critiche hanno un maggiore rischio di recidivare entro i primi 4 anni dalla chirurgia, mentre i pazienti portatori di mutazioni "non-delezioni" tendono a recidivare più tardivamente [189].

Le mutazioni a carico dell'esone 18 e 14 di PDGFRA sembrano associarsi ad un *outcome* migliore e ad un rischio più basso di metastatizzazione [47,48].

Ruolo predittivo di risposta al trattamento: il ruolo predittivo di risposta al trattamento è ormai certo e consolidato nella pratica clinica quotidiana.

La prima evidenza scientifica sulla correlazione tra lo stato mutazionale e la risposta ad imatinib 400mg risale al 2003, quando *Heinrich* e colleghi dimostrarono che i pazienti affetti da GIST metastatico portatori di mutazioni a livello dell'esone 11 di KIT

avevano un tasso di risposta ad imatinib nettamente superiore, pari all'87.5%, rispetto al solo 47.8% osservato nei pazienti portatori di mutazioni a livello dell'esone 9 [108]. Tale correlazione è stata successivamente confermata dall'analisi di correlazione tra il genotipo e la risposta al trattamento condotta all'interno degli studi EORTC di fase I e II disegnati per valutare l'attività di imatinib al dosaggio di 400 mg o 800 mg in pazienti affetti da GIST metastatico [156]. Da due studi di fase III, uno europeo-australiano e l'altro americano-canadese, il cui obiettivo era la valutazione della sopravvivenza libera da progressione in pazienti affetti da GIST avanzato trattati con imatinib a due differenti dosaggi, è inoltre emerso che all'interno del gruppo di pazienti con mutazione a carico dell'esone 9 di KIT, il tasso di risposte più alto veniva osservato nel braccio arruolato a ricevere imatinib al dosaggio di 800 mg [106,107]. Una successiva metanalisi condotta comparando i risultati dei suddetti studi ha confermato che la mutazione a carico dell'esone 9 di KIT rappresenta l'unico fattore predittivo di risposta al trattamento con imatinib al dosaggio di 800 mg [119].

Sia da studi *in vivo* che *in vitro* è stato dimostrato che la mutazione puntiforme D842V a carico dell'esone 18 di PDGFRA conferisce una resistenza primaria ad imatinib, mentre le restanti mutazioni a livello dell'esone 18 (D846Y, N848K, Y849K and HDSN845-848P) sono imatinib-sensibili [5,155].

Lo stato mutazionale sembrerebbe influenzare anche la risposta a sunitinib [190-192]. È stato, infatti, dimostrato come i pazienti in trattamento con sunitinib con mutazione primitiva a carico dell'esone 9 di KIT o KIT/PDGFR WT abbiamo una sopravvivenza libera da progressione significativamente superiore a quella dei pazienti con mutazione all'esone 11 di KIT [192].

Analogamente pazienti con mutazione a carico dell'esone 11 di KIT, con mutazione secondaria all'esone 17 di KIT o *SDH-deficient* presentano un beneficio maggiore in termini di PFS a regorafenib rispetto agli altri sottogruppi [193,194].

1.12 Farmacogenetica nei GIST

La farmacogenetica è stata descritta per la prima volta da Vogel nel 1959 come la scienza “*che studia l’influenza dell’assetto genico degli individui sull’azione dei farmaci ad essi somministrati*”. In particolare, la farmacogenetica si occupa delle variazioni in uno o più geni specifici e delle eventuali associazioni con le diverse risposte farmacologiche, sia in termini di efficacia che di tossicità. Nei GIST la maggior parte degli studi di farmacogenetica ad oggi effettuati riguardano il ruolo dei polimorfismi genici nella suscettibilità allo sviluppo della malattia, nella risposta al trattamento con IM e SU e nell’outcome (Tabella 8).

Per quanto riguarda gli studi di suscettibilità a GIST, O’Brien e colleghi hanno analizzato l’ipotesi che i sarcomi possano essere correlati a fattori di rischio ambientali, quali diossina ed esposizione a radiazioni. Per questo, hanno valutato la correlazione tra 208 varianti in 39 geni coinvolti nella riparazione del DNA e nel metabolismo della diossina, con lo stato mutazionale di KIT e PDGFRA in 279 pazienti affetti da GIST, arruolati in un trial clinico di IM adiuvante. Sebbene nessun *p-value* fosse significativo dopo correzione per test multipli, è stata identificata una forte correlazione tra alcuni polimorfismi in CYP1B1 e le delezioni del codone 557-8 dell’esone 11 di KIT (OR = 1,9, 95% CI: 1,3-2,9 per rs2855658 e OR = 1,8, 95% CI: 1,2-2,7 per rs1056836) e i GIST WT (OR = 2,7, 95% CI: 1,5-4,8 per rs1800440 e OR = 0,5, 95% CI: 0,3-0,9 per rs1056836) [195]. In aggiunta, O’Brien et al, hanno evidenziato altre varianti alleliche di RAD23 e ERCC2 potenzialmente implicate nello sviluppo della malattia, evidenziando la possibilità che l’origine dei GIST possa essere ambientale.

Per quanto riguarda la correlazione fra polimorfismi e risposta ad IM, in uno studio condotto su 54 pazienti con GIST, sono stati identificati tre polimorfismi a singolo nucleotide (SNP), uno in SLC22A4 (rs105152) e due in SLC22A5 (rs263136 e rs231372), codificanti per i trasportatori OCTN1 e OCTN2 rispettivamente, associati ad un tempo di progressione (TTP) più prolungato [196]. In uno studio successivo, Koo e colleghi hanno investigato 209 pazienti con GIST in trattamento con IM ed hanno osservato un’associazione tra sopravvivenza libera da progressione (PFS) e polimorfismo rs2231142 di ABCG2; in particolare, pazienti GIST portatori del genotipo

AA mostravano una PFS più lunga rispetto agli altri pazienti con genotipo GG e AG [197].

Sono stati successivamente studiati i polimorfismi dei geni implicati nel metabolismo dei folati. In particolare, Angelini e collaboratori hanno analizzato le associazioni tra 13 SNP in 8 geni con la suscettibilità a GIST, con le caratteristiche tumorali e con l'outcome, su una popolazione di 60 pazienti affetti da GIST e 153 controlli sani [198]. Da questo studio è emerso che una delezione di 6 bp del gene che codifica per la timidilato sintetasi (TS) (rs344489327, delTInsTTAAAG) era significativamente associata ad un rischio minore di sviluppare GIST (OR=0.20, 95% CI 0.05–0.67, $P=0.0032$). Inoltre, è stata osservata un'associazione significativa tra il genotipo RFC AA / AG e il tempo di progressione (HR = 0,107, 95% CI 0,014-0,82, $P = 0,032$).

Per quanto riguarda invece il ruolo della farmacogenetica nel trattamento con SU ad oggi sono stati pubblicati solamente due studi. Nel 2012 Rutkowski et al hanno riportato 6 polimorfismi dei geni appartenenti al pathway del fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF), strettamente correlati alla tossicità del farmaco, in particolare all'ipotiroidismo iatrogeno [199]. Tra i 6 polimorfismi associati a tossicità, lo SNP VEGFA rs3025039 è degno di nota, poiché il risultato è stato recentemente confermato dal lavoro di Ravegnini e colleghi che hanno riportato come questo polimorfismo fosse un fattore prognostico indipendente nella tossicità SU-relata; nello specifico, la variante T è risultata associata con eventi avversi di grado ≥ 3 (CT + TT vs CC, OR 15,3, 95% CI 2,2-102,1; $P = 0,005$). Nello stesso lavoro è stata riportata un'associazione statisticamente significativa tra i polimorfismi rs6877011 (CC vs CG, OR 9.7, 95% CI 3.31-28.4, $P < 0.001$) e rs7709359 (AA + AG vs GG, OR 5.01, 95% CI 1.33-18.8, $P = 0.017$) e il TTP in 54 GIST pazienti trattati con SU, in seconda linea [200]. Non sono stati invece condotti fino ad oggi studi di farmacogenetica sui pazienti affetti da GIST in trattamento con REG. Questo è dovuto soprattutto alla difficoltà di arruolare un adeguato numero di pazienti per gli studi farmacogenetici; infatti, alla rarità del GIST, si aggiunge il fatto che REG rappresenta la terza linea di trattamento.

Authors	#n of the Evaluated SNPs and Pathway	Gene/Reference Sequence (rs) *	#n of Cases	Aim	Significant SNPs
O'Brien et al [192], 2013	208 SNVs in 39 candidate genes related to DNA repair and dioxin metabolism or response	CYP1A2, CYP1B1, HIF1A, NQO1, G6PC/G6PT, ADH1A, ADH1B, ADH1C, ALDH18A1, ALDH1A1, ALDH1A2, ALDH1A3, ALDH1B1, ALDH1L1, ALDH1L2, ALDH2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4, GSTM1, GSTT1, GSTP1, HNF4A, NAT2, NFE2L2, NOS2A, PTGS2/COX2, SULT1A1, TP53, MDM2.	279 GIST from a clinical trial of adjuvant imatinib mesylate	To test the association between germline SNVs and somatic mutations and to evaluate the hypothesis of environmental related origin for GIST	CYP1B1 rs2855658 and rs1056836 were associated with KIT exon 11 codon 557-8 del; ERCC2 rs50871 was associated with WT GIST; ERCC2 rs50871 was associated with KIT exon 11 insertion (no codon 557-8); GSTM1 deletion was associated with KIT exon 11 codon 557-8 del; RAD23B rs1805329 and rs7041137 were associated with other KIT mutations (none in exon 11)

<p>Angelini et al [193], 2013</p>	<p>27 SNVs in 9 transporters genes; 4 SNVs in 4 metabolizing genes</p>	<p>SLC22A1 (rs12208357, rs683369, rs4646277, rs4646278, rs2282143, rs72552763); SLC22A4 (rs1050152); SLC22A5 (rs2631367, rs2631370, rs2631372); SLCO1A2 (rs11568563); SLCO1B3 (rs4149157, rs4149158, rs4149117, rs7311358); ABCA3 (rs323040, rs4146825); ABCB1 (rs10245483, rs3213619, rs1128501, rs1128503, rs60023214, rs2032582); ABCC4 (rs3765534, rs9561765); ABCG2 (rs2231137, rs2231142); CYP3A4 (rs2740574, rs28371759); CYP3A5 (rs776746, rs28365083).</p>	<p>54 GIST patients receiving imatinib 400 mg</p>	<p>To evaluate the correlation among SNPs and clinical outcome</p>	<p>TTP improved by C allele in SLC22A4 (rs1050152; p = 0.013), and by G alleles in SLC22A5 (rs2631367; p = 0.042) and (rs2631372; p = 0.045)</p>
<p>Koo et al [194], 2015</p>	<p>5 SNVs in 2 transporters genes; 1 SNVs in 1 metabolizing genes</p>	<p>ABCB1 (rs1128503, rs1045642, rs2032582); ABCG2 (rs2231137, rs2231142); CYP3A5</p>	<p>209 GIST patients receiving imatinib 400 mg</p>	<p>To evaluate the correlation among SNPs and clinical outcome</p>	<p>The 5-year PFS rate in patients with the AA variant of ABCG2 rs2032582 was</p>

		(rs776746).			superior compared with patients with CC/CA genotypes (p = 0.047)
Angelini et al [195], 2015	13 SNVs in 8 folate pathway genes	RFC (rs1051266); FOLR (rs2071010); DHFR (rs70991108); TS (rs45445694, rs34489327); SHMT (rs1979277); MTHFR (rs1801131, rs1801133); MTR (rs1805087); MTRR (rs10380).	60 GIST patients receiving imatinib 400 mg and 153 controls	To evaluate the correlation among SNPs and clinical outcome	In 54 patients, presence of WT allele in RFC rs1051266, (AA/AG) was associated with reduced TTP (p = 0.028)
Rutkowski et al [196], 2012	6 SNVs in 2 VEGF pathway genes	VEGFA (rs699947, rs3025039, rs2010963, rs833061); VEGFR2 (1531289, rs1870377).	39 GIST patients receiving sunitinib 2nd line treatment 50 mg	To evaluate the correlation among SNPs and adverse reactions or toxicity	To evaluate the correlation among SNPs and adverse reactions or toxicity

Tab. 8: Sommario degli studi farmacogenetici [201]

1.13 Criteri di valutazione di risposta al trattamento

La valutazione della risposta al trattamento in atto rappresenta una problematica di rilievo nella gestione dei pazienti affetti da GIST, in quanto i criteri comunemente adottati per determinare la risposta alla terapia sono, nel caso specifico dei GIST, spesso inadeguati e fonte di ambiguità interpretative con possibili conseguenze negative sulla gestione clinica dei pazienti affetti da questa patologia. I classici criteri RECIST, infatti, basati esclusivamente su parametri dimensionali, trascurano le modificazioni della massa tumorale indotte dal trattamento con farmaci biologici [202,203].

A volte, infatti, non si rileva nessuna variazione dimensionale o addirittura si osserva un forviante aumento volumetrico del tumore nelle fasi iniziali di trattamento con imatinib, non sempre da interpretare come indice di mancata risposta alla terapia. Infatti, la risposta alla terapia può manifestarsi anche come sanguinamento intralesionale, colliquazione oppure degenerazione mixo-ialina della massa, tutte alterazioni evidenziabili solo come modificazioni densitometriche, che non si accompagnano necessariamente, almeno per i primi tempi, anche a riduzioni dimensionali.

Pertanto nei GIST i criteri basati sulle sole dimensioni della massa tumorale sono inadeguati per le seguenti ragioni:

- rischio di sottostima del tasso di risposta: il ridimensionamento del tumore stromale sotto terapia può evolvere tanto lentamente da richiedere almeno 4-6 mesi di tempo prima di poterlo quantificare e definire, secondo i criteri RECIST, come una risposta parziale (RP);
- rischio, al contrario, di sovrastima del tasso di risposta: è possibile che si sviluppino cloni resistenti e quindi aree focali di progressione nell'ambito di una massa tumorale che in gran parte, invece, continua a rispondere al trattamento e le cui dimensioni appaiono nel complesso ridotte;
- rischio di sottostima del beneficio clinico: i pazienti che, in seguito a terapia, vanno incontro anche solo ad una stabilizzazione di malattia e non

necessariamente ad una RP, possono parimenti mostrare un rilevante miglioramento delle condizioni cliniche generali.

Da quando le terapie biologiche sono state introdotte nella pratica clinica, è stato necessario definire dei nuovi criteri di valutazione della risposta dei GIST alla terapia attraverso la TC e la RM, affiancando al parametro tradizionale dimensionale, anche quello densitometrico espresso in Unità di Hounsfield (HU) [204-207].

La variazione di densità del tessuto tumorale, determinata misurando il *contrast enhancement* alla TAC attraverso il coefficiente HUs, anche se associata a minime riduzioni dimensionali, può essere considerata un valido criterio di risposta in pazienti in trattamento con terapie biologiche. Questo aspetto è stato particolarmente studiato nei pazienti con GIST in trattamento con IM, dove è stata riscontrata un'importante correlazione tra la riduzione di densità e la risposta metabolica ottenuta alla PET. Infatti, è stato dimostrato come una riduzione tumorale di almeno il 10% in termini dimensionali o di almeno il 15% in termini di densità presenti, nei confronti dei pazienti in risposta alla PET, una sensibilità del 97% ed una specificità del 100% rispetto al 52% e 100% dei criteri RECIST [159].

Per questo motivo sono stati proposti dei nuovi criteri di risposta, definiti “Criteri di Choi”, basati non solo sulle variazioni dimensionali delle lesioni target, ma anche sulle variazioni densitometriche (Tab. 9).

Criteri Choi	
Risposta completa	Scomparsa di tutte le lesioni e/o nessuna nuova lesione.
Risposta parziale	Riduzione dimensionale $\geq 10\%$ o riduzione della densità tumorale (HU) $\geq 15\%$ alla TC; assenza di nuove lesioni; assenza di evidente progressione in caso di malattia non misurabile.
Stabilità	Assenza dei criteri di risposta o di progressione; nessun peggioramento dei sintomi dovuto a progressione di malattia.

Progressione	Aumento dimensionale di almeno il 10%, in assenza dei criteri di risposta in base alla densità tumorale; comparsa di nuove lesioni.
---------------------	---

Tab. 9: criteri di risposta secondo Choi [204]

Nella valutazione precoce di risposta al trattamento con TKIs, la TC-PET con ¹⁸F₂FDG gioca un ruolo chiave. Infatti, è stato dimostrato come una risposta metabolica parziale o completa a poche settimane dall'inizio del trattamento con IM sia predittiva di risposta al trattamento e si correla anche a una sopravvivenza libera da progressione a un anno più lunga (92% vs 12%, p=0.00107) [208].

1.14 Follow-up

Pur non essendoci molti dati sul follow up dei pazienti radicalmente operati, le linee guida europee suggeriscono il seguente atteggiamento: per i pazienti a rischio alto ed intermedio di recidiva il programma di sorveglianza prevede l'esecuzione di una TC ogni 3-4 mesi per i primi tre anni dalla chirurgia, poi a cadenza semestrale fino al quinto anno, poi a cadenza annuale, mentre per i pazienti a basso rischio di recidiva il programma prevede un follow up mediante TC a cadenza semestrale per i primi 5 anni [13].

La durata del follow up rimane ad oggi indefinita, alla luce del fatto che sono stati segnalati in letteratura casi di recidive tardive a distanza di oltre 5 anni dalla chirurgia [209].

Capitolo 2

IL REGORAFENIB

2.1 Indicazione terapeutica

Il regorafenib (REG) (nome chimico: 4-[4-[(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)carbamoil]-3-fluorofenossi]-*n*-metilpiridine-2-carboxamide; nome commerciale: Stivarga) è un inibitore multi-chinasico orale che blocca l'attività di diverse protein-chinasi coinvolte nel processo oncogenetico (KIT, RET, RAF1, BRAF V600E), angiogenetico (VEGFR1-3, TIE2) e del microambiente tumorale (PDGFRA e FGFR – *platelet-derived/fibroblast growth factor receptor*) [123].

Come da scheda tecnica, REG trova indicazione nel trattamento:

- del carcinoma metastatico del colon-retto (CCR) precedentemente trattati oppure non candidabili al trattamento con le terapie disponibili (chemioterapia a base di fluoropirimidine, una terapia anti-VEGF ed una terapia anti-EGFR);
- dei GIST non resecabili o metastatici dopo progressione di malattia o intolleranti al trattamento precedente con imatinib e sunitinib.

2.2 Posologia e modo di somministrazione

REG è un farmaco a formulazione orale, prodotto in compresse rivestite da un film, di colore rosa chiaro e di forma ovale, contenente ciascuna 40 mg di principio attivo [210,211].

La dose raccomandata di REG è di 160 mg (quindi 4 compresse da 40 mg) da assumere una volta al giorno per 3 settimane, seguite da 1 settimana di pausa; questo periodo viene considerato un ciclo di trattamento. E' necessario che il farmaco venga assunto sempre alla stessa ora, deglutendo intere le compresse con un po' d'acqua, possibilmente dopo un pasto leggero con meno del 30% di lipidi, ad esempio la colazione.

In caso di dimenticanza, è possibile assumere la compressa nell'arco della giornata stessa, mentre non è consigliabile una dose doppia in uno stesso giorno per compensare la mancata assunzione della dose del giorno prima. In caso di vomito successivamente all'assunzione delle compresse invece il paziente non è tenuto ad assumerne altre.

Il trattamento deve essere continuato fino all'osservazione di un beneficio o viceversa fino alla comparsa di tossicità ritenuta inaccettabile ai fini di una buona qualità di vita [211].

A seconda della sicurezza e tollerabilità individuali, potrebbe essere necessario interrompere il trattamento e/o ridurre la dose. Le variazioni consentite comportano una riduzione di 40 mg. Da scheda tecnica la minima dose giornaliera raccomandata è di 80 mg [211].

2.3 Meccanismo d'azione e farmacocinetica

Meccanismo d'azione

REG è una piccola molecola monoidrata (formula molecolare: $C_{21}H_{15}ClF_4N_4O_3 \cdot H_2O$ – Fig.10) praticamente insolubile in acqua [210]. La struttura chimica e il profilo biochimico sono simili a quelli di sorafenib, un altro inibitore delle chinasi approvato per il trattamento del carcinoma renale avanzato e del carcinoma epatocellulare (HCC) inoperabile, ma l'aggiunta di un atomo di fluoro all'anello centrale fenilico porta il REG ad avere un'azione farmacologicamente più potente e con uno spettro di attività antiangiogenica più ampio [212].

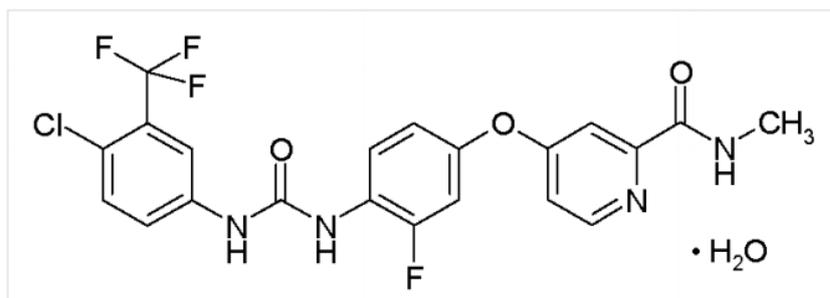


Fig. 10: struttura chimica della molecola del regorafenib [210]

REG è un farmaco inibitore di diverse proteinchinasi coinvolte nell'oncogenesi (KIT, RET, RAF-1, BRAF, BRAF V600E), nell'angiogenesi tumorale (VEGFR1-3, TIE2) e nel microambiente tumorale (PDGFRA, FGFR) [123]. In particolare inibisce la forma mutata di KIT, bloccando quindi la proliferazione cellulare. Prove biochimiche sembrano aver individuato altre chinasi su cui agirebbe REG (DDR2, Eph2A, PTK5, p38 $\alpha\beta$), ma non sono stati condotti saggi cellulari che confermino tali dati [212].

Studi su modelli pre-clinici hanno dimostrato come REG inibisca la proliferazione dell'endotelio vascolare ombelicale umano stimolato da VEGF165 e FGF-2 e delle cellule muscolari lisce aortiche umane stimolate dalla glicoproteina dimerica BB di PDGF. Tale azione è stata evidenziata mediante risonanza magnetica con contrasto dinamico (DCE-MRI) che ha mostrato una diminuita perfusione a livello tumorale nei

topi xenotrapiantati con glioblastoma ed esposti a REG. Nei topi trattati con 4 dosi giornaliere consecutive gli effetti antiangiogenici sono stati osservati per almeno 4 giorni dopo l'ultima dose. La riduzione della microcircolazione, misurata con tecniche immunoistochimiche, ha dimostrato gli effetti antiangiogenici di REG anche in caso di tumore colon-rettale e della mammella [123].

Farmacocinetica

Dal punto di vista farmacocinetico i metaboliti attivi del farmaco, M-2 (N-ossido) e M-5 (N-ossido e N-desmetil) raggiungono nell'arco delle 24 ore diversi picchi di concentrazione plasmatica, indicativi di un ampio ricircolo entero-epatico; tali picchi sono stati osservati a 1-6 ore dopo la somministrazione, a 6-8 ore e infine a circa 24 ore [213,214]. La massima concentrazione plasmatica (C_{max}) raggiunta per dosaggi di 160 mg è di 2,5 mg/L e l'area media sotto la curva di concentrazione plasma-tempo (AUC) di 70 mg/h/L. Allo *steady-state*, REG, M-2, e M-5 raggiungono rispettivamente una C_{max} di 3,9, 3,3 e 2,9 mg/L. Dosi ripetute provocano un accumulo plasmatico del farmaco e dei metaboliti attivi, come evidenziato dall'aumento di 2 a 4 volte di C_{max} . Inoltre le concentrazioni di REG e dei suoi metaboliti attivi raggiungono i massimi livelli dopo un pasto povero di grassi. La biodisponibilità delle compresse di REG risulta del 69%. Sia REG che i suoi metaboliti attivi hanno un'elevata affinità per le proteine plasmatiche ($\geq 99,5\%$) [213,215].

Per quanto riguarda la biotrasformazione del farmaco, REG viene metabolizzato a livello epatico tramite ossidazione da parte dell'enzima CYP3A4 e glucuronidazione da parte di UGT1A9. Il metabolita attivo M-2 viene ulteriormente ossidato da CYP3A4 e glucuronato da UGT1A9. Il riassorbimento del principio attivo e dei metaboliti non coniugati avviene grazie alla riduzione e idrolisi dei metaboliti da parte della flora batterica intestinale.

REG viene eliminata principalmente per via biliare. L'emivita media di eliminazione di REG e di M-2 nel plasma è di circa 20-30 ore, mentre quella di M-5 è di circa 60 ore; il 90% della dose radioattiva viene recuperata entro 12 giorni dalla somministrazione, di questi il 71% della dose viene escreta con le feci e il 19% con le urine, come glucuronidi [214,215].

2.4 Efficacia e sicurezza clinica nei GIST

REG si è dimostrato inizialmente attivo nei confronti di numerose linee cellulari incluse quelle di GIST [123]. Un successivo studio di fase II condotto su 34 pazienti affetti da GIST resistenti sia ad imatinib che a sunitinib trattati con REG ha riportato un beneficio clinico del 75% dei casi e una sopravvivenza libera da progressione mediana di 10 mesi [124]. L'82% dei pazienti ha fatto ricorso ad almeno una riduzione di dose per tossicità e i più comuni eventi avversi riportati sono stati: sindrome mano-piede, ipertensione, astenia, rash, iperuricemia e diarrea.

Sulla base di queste promettenti evidenze, è stato intrapreso, nel 2011, uno studio di fase III, randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo, condotto su pazienti affetti da GIST precedentemente trattati con IM e SU (GRID - *GIST - Regorafenib In Progressive Disease* - Trial) [8]. L'endpoint primario dello studio era la sopravvivenza libera da progressione (PFS - *progression-free survival*), mentre gli endpoint secondari erano il tempo di progressione (TTP - *time to progression*) e la sopravvivenza globale (OS - *overall survival*). Sono stati arruolati 199 pazienti, di età media di 58 anni, 64% di sesso maschile, 68% di razza caucasica, con performance status (PS) ECOG al basale di 0 o 1. I partecipanti sono stati randomizzati 2:1 a ricevere 160 mg di REG (per 3 settimane ogni 4) in aggiunta a terapia di supporto (BSC – Best Supportive Care) una volta al giorno, o placebo e BSC. La dose giornaliera media di REG è stata 140 mg. I pazienti hanno continuato la terapia fino a progressione/comparsa di tossicità inaccettabile e l'85% dei pazienti randomizzati nel braccio placebo in progressione di malattia hanno ricevuto REG [8,211]. Il tempo mediano complessivo di progressione o recidiva è stato di 6 mesi. I risultati finali, riportati in Tab. 10, sono stati i seguenti:

Parametro di efficacia	Rapporto di rischio* (IC 95%)	Valore p (unidirezionale)	Mediana (IC 95%)	
			Stivarga più BSC° (N:133)	Placebo più BSC° (N=66)
Sopravvivenza libera da progressione di malattia	0,268 (0,185; 0,388)	<0,000001	4,8 mesi (4,0; 5,7)	0,9 mesi (0,9; 1,1)
Tempo di progressione	0,248 (0,170; 0,364)	<0,000001	5,4 mesi (4,1; 5,7)	0,9 mesi (0,9; 1,1)
Sopravvivenza globale	0,772 (0,423; 1,408)	0,199	NR**	NR**

Tab. 10: risultati di efficacia dello studio GRID [8]

[° miglior terapia di supporto (Best Supportive Care)]

* Hazard ratio <1 a favore di Stivarga

** NR: non raggiunta]

- Un vantaggio di REG, con *hazard ratio* di 0,268 [IC 95% 0,185; 0,388] e una PFS mediana di 4,8 mesi vs. 0,9 mesi ($p < 0,000001$) (Fig. 11A).
- Una riduzione del rischio relativo di progressione di malattia o morte di circa il 73,2%, nei pazienti trattati con REG.
- Un aumento della PFS costante indipendentemente dall'età, sesso, regione geografica, linee di trattamento precedenti e dal PS ECOG.
- Un TTP significativamente più lungo nei pazienti trattati con REG, con un *hazard ratio* di 0,248 [IC 95% 0,170; 0,364] e un TTP mediano di 5,4 mesi vs. 0,9 mesi ($p < 0,000001$).
- Un *hazard ratio* dell'analisi OS di 0,772 (IC 95% 0,423; 1,408; $p = 0,199$; OS mediana non è stata raggiunta in nessuno dei bracci) (Fig. 11B).

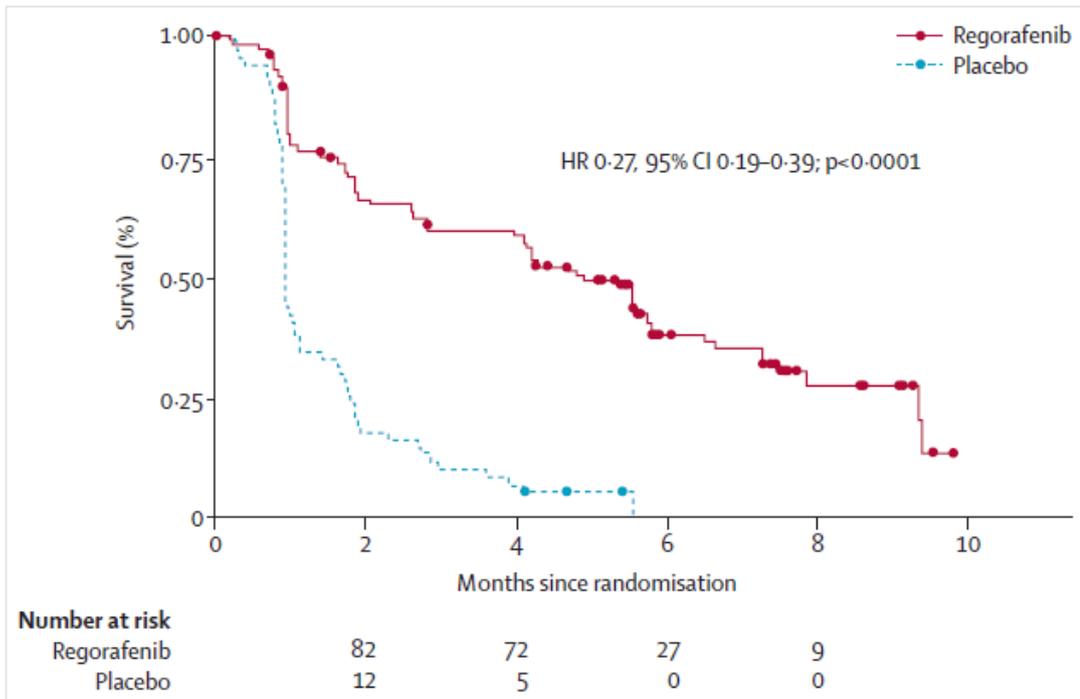


Fig. 11A: curva di Kaplan-Meier della sopravvivenza libera da progressione [8]

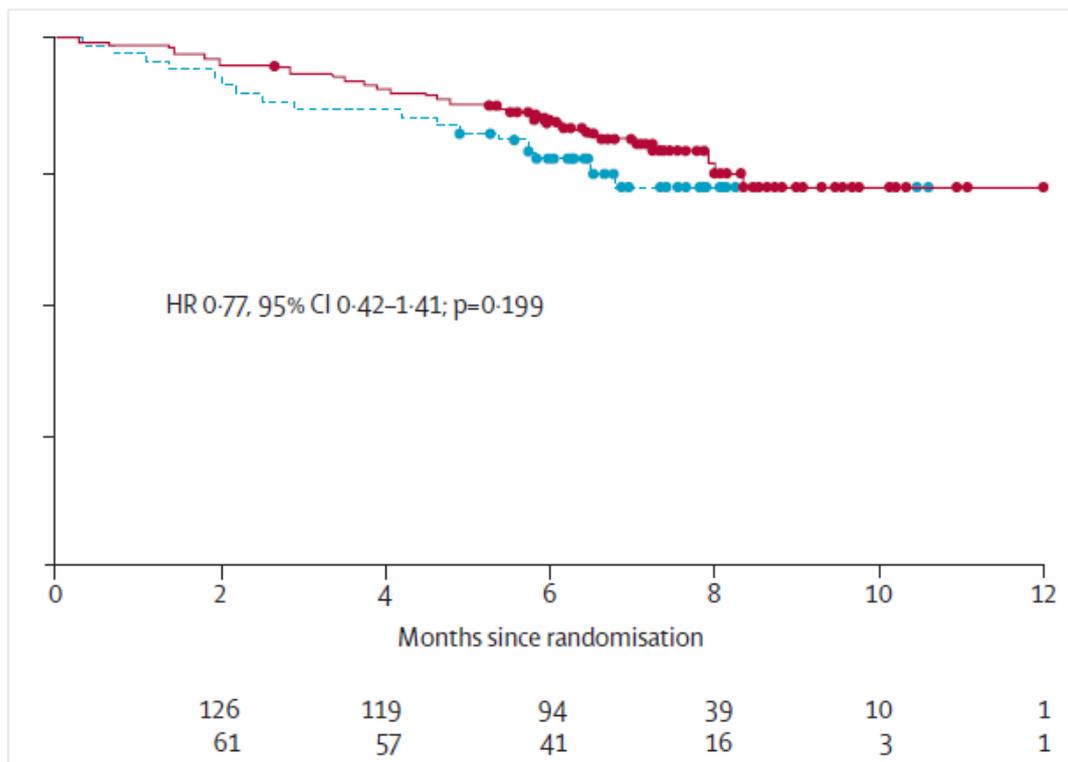


Fig. 11B: curva di Kaplan-Meier della sopravvivenza globale [8]

Nell'98% dei pazienti trattati con REG sono stati segnalati effetti avversi, tra cui più frequentemente l'ipertensione (23%), la sindrome mano-piede (HFS) (20%) e la diarrea (5%) [8].

Ad una recente analisi di tolleranza ed efficacia del precedente studio di fase II, dopo un follow-up mediano più lungo di 41 mesi, è stata riportata una percentuale di beneficio clinico nel 76% dei pazienti [194]. La PFS mediana è risultata essere di 13.2 mesi (95% CI 9.2-18.3 mesi), includendo 4 pazienti che sono rimasti liberi da progressione al momento della chiusura dello studio, con un beneficio clinico superiore ai 3 anni (range 36.8-43.5 mesi). L'OS è risultata essere di 25 mesi (95% CI 13.2-39.1 mesi). Ad un'analisi per sottogruppi molecolari, è emerso che i pazienti con mutazione a carico dell'esone 11 di KIT hanno mostrato una PFS più lunga (13.4 mesi), rispetto ai pazienti KIT/PDGFR WT, non *SDH-deficient*, la cui PFS mediana è risultata di 1.6 mesi ($P < 0.0001$). Il profilo di tossicità a lungo termine è risultato sovrapponibile a quello riportato nei precedenti studi, ovvero l'HFSR e l'ipertensione sono risultati i due eventi avversi che più frequentemente hanno portato ad una riduzione di dose del farmaco. Nonostante l'esiguità numerica di questo campione, sono state riportate risposte obiettive e un beneficio clinico duraturo dei pazienti KIT/PDGFR WT *SDH-deficient* [194].

2.5 Effetti collaterali

Gli effetti collaterali del REG riportati negli studi clinici e suddivisi a seconda della loro frequenza di insorgenza in “molto comuni”, “comuni”, “poco comuni” e “rari” sono elencati nella Tabella 11 [8,210,211].

Effetti sul fegato: frequenti sono le alterazioni degli indici di funzionalità epatica (alanina-aminotransferasi [ALT], aspartato-aminotransferasi [AST] e bilirubina). Una minor percentuale mostra alterazioni severe di grado 3-4 e compromissione epatica con manifestazioni cliniche (inclusi casi con esito fatale). La compromissione epatica è maggiore nei pazienti di etnia asiatica. Per monitorare tali alterazioni si effettuano in genere analisi periodiche della funzionalità epatica prima e durante il trattamento, almeno per i primi 2 mesi. In seguito si prosegue il monitoraggio mensilmente e in base alle esigenze cliniche. Per i pazienti che mostrano un peggioramento della funzionalità epatica evidentemente correlato al REG (cioè senza altra causa evidente, come colestasi postepatica o progressione della malattia), vi è indicazione alla riduzione del dosaggio. Nei pazienti con compromissione epatica precedente all’inizio del trattamento è consigliato uno stretto monitoraggio generale. Infine, dal momento che REG è un inibitore della uridindifosfato-glucuronosiltransferasi (UGT) 1A, nei pazienti con sindrome di Gilbert può manifestarsi una lieve iperbilirubinemia indiretta (non coniugata) [211].

Emorragia: viene segnalato un aumento dell’incidenza di eventi emorragici, a volte con esiti anche fatali; per cui è necessario monitorare il paziente con regolari controlli dell’emocromo e dei parametri di coagulazione, in particolar modo nei pazienti predisposti alle emorragie o in terapia con anticoagulanti (es. warfarin). In caso di emorragia severa è indicata l’interruzione definitiva del trattamento.

Ischemia cardiaca ed infarto cardiaco: è dimostrato un aumento di incidenza di ischemia e infarto del miocardio, per cui i pazienti con angina instabile o di nuova insorgenza (entro 3 mesi dall’inizio del trattamento), infarto recente (entro 6 mesi) e quelli con scompenso cardiaco di grado ≥ 2 NYHA (classificazione della New York Heart Association) sono stati esclusi dagli studi. I pazienti con anamnesi positiva per cardiopatia ischemica devono ricevere uno stretto monitoraggio in relazione ai segni e

sintomi clinici d'ischemia. In caso di sviluppo di complicanze cardiache è necessario interrompere il trattamento che potrà essere ripreso solo in caso di completa risoluzione del quadro, dopo un'attenta e scrupolosa valutazione dei potenziali rischi e benefici.

Sindrome da encefalopatia posteriore reversibile (SEPR): ne sono stati riportati alcuni casi, accompagnati da una sintomatologia tipica, caratterizzata da convulsioni, cefalea, alterazioni dello stato mentale, disturbi visivi o cecità corticale, con o senza ipertensione associata. La diagnosi viene confermata con indagini strumentali cerebrali. Qualora dovesse comparire tale sintomatologia è necessario interrompere il trattamento ed iniziare un trattamento sintomatico specifico.

Perforazione e fistola gastrointestinale: sono state osservate perforazioni e fistole, complicanze tipiche di pazienti affetti da neoplasie maligne del tratto gastrointestinale. In tal caso si interrompe il trattamento.

Iperensione arteriosa: uno degli effetti più frequenti è un rialzo della pressione sanguigna; è raccomandato controllare i valori pressori prima e durante il trattamento, ed eventualmente sottoporre il paziente ad una concomitante terapia antipertensiva standard. In caso di ipertensione severa si riduce la dose di regorafenib. Si ricorre all'interruzione dello stesso solo in caso di crisi ipertensiva.

Complicanze nel processo di cicatrizzazione: dal momento che i farmaci antiangiogenetici possono interferire con la normale cicatrizzazione delle ferite, è consigliata l'interruzione del trattamento con REG nei pazienti sottoposti a chirurgia maggiore.

Tossicità dermatologica: le reazioni più frequentemente osservate sono la reazione cutanea mano-piede (HFSR) o Sindrome da Eritrodisestesia Palmo-Plantare (EPP) e l'eruzione cutanea, maggiormente osservate nei pazienti asiatici (in particolare giapponesi). Ai fini preventivi si possono controllare la callosità e l'uso di calzature imbottite e guanti, per evitare di esercitare una pressione eccessiva sia a livello plantare che palmare. Si può ricorrere all'uso di creme cheratolitiche a base di urea, acido salicilico o alfa-idrossiacido, applicate localmente in piccole quantità o semplici creme idratanti. Nei casi severi e persistenti va tenuta in considerazione la riduzione di dose fino all'interruzione temporanea o definitiva del trattamento.

Alterazioni delle analisi biochimiche e metaboliche di laboratorio: da non dimenticare le anomalie elettrolitiche, comprendenti ipofosfatemia, ipocalcemia, iponatriemia ed ipopotassiemia, e quelle metaboliche, comprendenti aumenti dell'ormone stimolante la tiroide, della lipasi e dell'amilasi. Tali anomalie non sono in genere associate a manifestazioni cliniche e non richiedono riduzioni di dose o interruzioni, a meno che non diventino significative persistenti o ricorrenti.

Classificazioni e per sistemi e organi (MedDRA)	Molto comune	Comune	Non comune	Raro
Infezioni ed infestazioni	Infezione			
Tumori benigni, maligni e non specificati (cisti e polipi compresi)				Cheratoacantoma/ carcinoma cutaneo a cellule squamose Patologie
Patologie del sistema emolinfopoietico	Trombocitopenia Anemia	Leucopenia		
Disturbi del sistema immunitario				Reazione di ipersensibilità
Patologie endocrine	Ipotiroidismo			
Disturbi del metabolismo e della nutrizione	Riduzione dell'appetito e dell'assunzione e di cibo	Ipopotassiemia Ipopotassiemia Ipocalcemia Iponatriemia Ipomagnesiemia Iperuricemia		
Patologie del sistema nervoso	Cefalea	Tremore	Sindrome da Encefalopatia Posteriore Reversibile (SEPR)	
Patologie cardiache				Infarto miocardico Ischemia miocardica
Patologie vascolari	Emorragia* Ipertensione	Crisi ipertensiva		
Patologie respiratorie, toraciche e mediastiniche	Disfonia			

Patologie gastro-intestinali	Diarrea Stomatite Vomito Nausea	Disturbi del gusto Secchezza della bocca Reflusso gastroesofageo Gastroenterite	Perforazione gastro-intestinale * Fistola gastro-intestinale	
Patologie epatobiliari	Iperbilirubinemia	Aumento delle transaminasi	Danno epatico severo*#	
Patologie della cute e del tessuto sottocutaneo	Reazione cutanea mano-piede** Eruzione cutanea Alopecia	Cute secca Eruzione cutanea esfoliativa	Disturbi ungueali Eritema multiforme	Sindrome di Stevens-Johnson Necrolisi epidermica tossica
Patologie del sistema muscoloscheletrico e del tessuto connettivo		Rigidità muscoloscheletrica		
Patologie renali e urinarie		Proteinuria		
Patologie sistemiche e condizioni relative alla sede di somministrazione	Astenia/affaticamento Dolore Febbre Infiammazione delle mucose			
Esami diagnostici	Calo ponderale	Aumento dell'amilasi Aumento della lipasi INR anomalo		

Tab. 11: reazioni avverse da farmaco (adverse drug reactions - ADRs) riportate negli studi clinici nei pazienti trattati con regorafenib [210,211]

[* sono stati segnalati casi fatali]

** sindrome da eritrodismetesia palmoplantare nella terminologia MedDRA

in base ai criteri di danno epatico indotto da farmaci (drug-induced liver injury, DILI) del gruppo di lavoro internazionale DILI]

2.6 Management degli effetti collaterali

I vari studi su REG hanno dimostrato come il dosaggio standard di 160 mg (ovvero 4 compresse da 40 mg al giorno) molto spesso sia mal tollerato dai pazienti. Il riconoscimento e la tempestiva gestione di tale tossicità relativa all'uso di REG sta migliorando con l'esperienza clinica [216]. La maggior parte di questi effetti avversi infatti è prevedibile e tende a comparire subito dopo l'inizio del trattamento, per cui l'educazione del paziente e un attento monitoraggio nelle prime fasi di terapia sono fondamentali [9]. In questo modo si riesce a minimizzare la gravità e la durata degli effetti avversi e a prolungare il più possibile il tempo di terapia per molti pazienti, attraverso l'uso di trattamenti sintomatici, aggiustamenti del dosaggio e interruzioni di trattamento.

Come da scheda tecnica è consigliato:

→l'interruzione temporanea di regorafenib in caso di [210]:

- Sindrome mano-piede (HFSR) o eritrodissiestesia palmo-plantare (EPP) di grado 2 ricorrente o che non migliora entro 7 giorni malgrado la riduzione di dose; è consigliato interrompere la terapia per un minimo di 7 giorni per una tossicità di grado 3. Sono riportati le principali modifiche di dose in base al grado di tossicità cutanea nella tabella 12.
- Ipertensione sintomatica di grado 3.
- Qualsiasi reazione avversa di grado 3 o 4.

→un dosaggio ridotto di 120 mg (3 compresse da 40 mg al giorno) in caso di:

- Sindrome mano-piede (HFSR) di grado 2 di qualsiasi durata (vedi Tab. 12).
- Post-ricovero per qualsiasi reazione avversa di grado 3 o 4.
- Rialzo di grado 3 delle transaminasi ALT/AST, come è riportato nella tabella 13; in caso di coinvolgimento delle transaminasi è necessario tornare alla dose standard solo se il potenziale beneficio supera il rischio di epatotossicità.

→un dosaggio ridotto di 80 mg (2 compresse da 40 mg/die) in caso di:

- Ricorrenza dell'HFSR di grado 2 sotto dosaggio di 120 mg/die.
- Post-ricovero per qualsiasi reazione avversa di grado 3 o 4 sotto dosaggio di 120 mg/die (ad eccezione di un'eventuale epatotossicità).

→interrompere definitivamente il regorafenib in caso di:

- Fallimento della riduzione ad 80 mg/die.
- Rialzo ≥ 20 volte i limiti del normale delle transaminasi ALT/AST.
- Rialzo ≥ 3 volte i limiti del normale delle transaminasi ALT/AST, con il concomitante rialzo di 2 volte i limiti del normale della bilirubina.
- Ricorrenza del rialzo delle transaminasi ALT/AST ≥ 5 volte i limiti della norma, malgrado la riduzione di dosaggio a 120 mg/DIE.
- Qualsiasi reazione avversa di grado 4, da riprendere solo ed esclusivamente qualora i potenziali benefici superino i rischi per il paziente.

Grado di tossicità cutanea	Occorrenza	Modifiche di dose e misure raccomandate
Grado 1	Qualsiasi	Mantenere la dose corrente ed adottare immediatamente misure di supporto per alleviare la sintomatologia.
Grado 2	1a occorrenza	Ridurre la dose con decrementi di 40 mg (una compressa) ed adottare immediatamente misure di supporto. In assenza di miglioramento nonostante la riduzione della dose, interrompere la terapia per almeno 7 giorni, fino alla regressione della tossicità al grado 0-1. Un successivo incremento della dose è possibile, a discrezione del medico.
	Assenza di miglioramento entro 7 giorni o 2a occorrenza	Sospendere la terapia fino alla regressione della tossicità al grado 0-1. Alla ripresa del trattamento, ridurre la dose di 40 mg (una compressa). Un successivo incremento della dose è possibile, a discrezione del medico.
	3a occorrenza	Sospendere la terapia fino alla regressione della tossicità al grado 0-1. Alla ripresa del trattamento, ridurre la dose di 40 mg (una compressa). Un successivo incremento della dose è possibile, a discrezione del medico.
	4a occorrenza	Interrompere definitivamente il trattamento con regorafenib.
Grado 3	1a occorrenza	Adottare immediatamente misure di supporto. Interrompere la terapia per almeno 7 giorni, fino alla regressione della tossicità al grado 0-1. Alla ripresa del trattamento, ridurre la dose di 40 mg (una compressa). Un successivo incremento della dose è possibile, a discrezione del medico.
	2a occorrenza	Adottare immediatamente misure di supporto. Interrompere la terapia per almeno 7 giorni, fino alla regressione della tossicità al grado 0-1. Alla ripresa del trattamento, ridurre la dose di 40 mg (una compressa).
	3a occorrenza	Interrompere definitivamente il trattamento con regorafenib.

Tab. 12: modifiche di dose e misure raccomandate in caso di EP [211]

Aumenti osservati di ALT e/o AST	Occorrenza	Modifiche di dose e misure raccomandate
≤5 volte il limite superiore della norma (LSN) (al massimo grado 2)	Qualsiasi	Proseguire il trattamento con regorafenib. Monitorare la funzionalità epatica con cadenza settimanale fino a che le transaminasi non siano ritornate ad essere inferiori a 3 volte il LSN (grado 1) od ai livelli basali.
>5 volte il LSN e ≤20 volte il LSN (grado 3)	1a occorrenza	Interrompere il trattamento con regorafenib. Monitorare le transaminasi con cadenza settimanale fino a che non siano ritornate ad essere inferiori a 3 volte il LSN od ai livelli basali. Ripresa della terapia: se il potenziale beneficio supera il rischio di tossicità epatica, riprendere il trattamento con regorafenib, ridurre la dose di 40 mg (una compressa) e monitorare la funzionalità epatica con cadenza settimanale per almeno 4 settimane.
	Nuova occorrenza	Interrompere definitivamente il trattamento con regorafenib.
>20 volte il LSN (grado 4)	Qualsiasi occorrenza	Interrompere definitivamente il trattamento con regorafenib.
>3 volte il LSN (grado 2 o superiore) con bilirubina >2 volte il LSN	Qualsiasi occorrenza	Interrompere definitivamente il trattamento con Stivarga. Monitorare la funzionalità epatica con cadenza settimanale fino alla risoluzione od al ritorno ai livelli basali. Eccezione: i pazienti affetti da sindrome di Gilbert che sviluppano un aumento delle transaminasi devono essere trattati secondo le raccomandazioni sopra riportate per l'aumento di ALT e/o AST.

Tab. 13: misure e modifiche di dose raccomandate in caso di alterazioni correlate al farmaco negli indici di funzionalità epatica [211]

Capitolo 3

STUDIO SPERIMENTALE

3.1 Scopo dello studio

REG è attualmente approvato nel trattamento di terza linea dei GIST non resecabili o metastatici dopo progressione di malattia o intolleranza al trattamento con IM e SU. Nonostante il suo beneficio in termini di sopravvivenza libera da progressione, in più della metà (61,4%) dei pazienti è stata segnalata una tossicità di grado ≥ 3 , con conseguente riduzione del dosaggio nel 72% dei casi [8]. Tale tossicità viene osservata maggiormente nei primi cicli di trattamento e tende a migliorare nel tempo, senza che siano stati osservati eventi avversi a lungo termine inattesi [10]. E' molto probabile che questa variabilità di tossicità che si verifica inter-paziente sia dovuto a differente capacità del singolo di metabolizzare ed eliminare il farmaco e questo potrebbe essere dovuto al differente patrimonio farmaco genetico del singolo.

È dunque evidente come l'ottimizzazione del trattamento e la gestione degli effetti collaterali siano cruciali per garantire la maggior continuità terapeutica possibile, unitamente ad un profilo di tolleranza ottimale.

Nella pratica clinica di tutti i giorni la personalizzazione del trattamento con REG non avviene in modo uniforme e standardizzato, ma si basa sull'esperienza personale di ogni singolo centro, in assenza di dati clinici consolidati. Infatti, oltre alla riduzione del dosaggio raccomandata in scheda tecnica, vengono spesso adottate numerose schedule di trattamento alternative, che combinano la riduzione della dose a differenti schemi di assunzione intermittente. Tuttavia il reale utilizzo di REG al di fuori dei trial clinici non è ad oggi mai stato descritto, come non è ancora noto quale sia l'impatto di ciascuna di queste schedule alternative sulla qualità di vita (QoL) del paziente nonché sull'outcome a lungo termine.

Sulla base di queste premesse, è stato disegnato uno studio con lo scopo di valutare la personalizzazione della terapia con TKIs, tra cui REG, in pazienti affetti da GIST e di studiare il valore predittivo di polimorfismi dei geni coinvolti nel pathway del *vascular endothelial growth factor* (VEGF) e di quelli codificanti le principali proteine coinvolte nel metabolismo e trasporto del REG.

La presente tesi è una articolazione dello studio sopracitato ed in particolare si pone l'obiettivo primario di effettuare un'analisi osservazionale volta a descrivere l'utilizzo di REG nei pazienti affetti da GIST avanzato/metastatico nella realtà clinica italiana, al fine di:

- conoscere il reale utilizzo di REG dalla sua immissione in commercio nella realtà clinica italiana, ad oggi mai descritto;
- valutare l'impatto delle singole schedule alternative di REG adottate sul profilo di tolleranza del paziente, per poter ottimizzare al meglio l'utilizzo di REG nella pratica clinica, rendendolo più omogeneo e uniforme, in modo da minimizzare gli eventi avversi attesi ed evitare premature sospensioni del farmaco, vista l'assenza ad oggi di ulteriori alternative terapeutiche disponibili;

Obiettivi secondari della presente tesi sono i seguenti:

- valutazione dell'impatto delle singole schedule alternative di REG adottate sull'outcome a lungo termine del paziente;
- avviare la fase di raccolta prospettica dei campioni di sangue periferico dei pazienti che assumono REG che saranno poi utilizzati e processati in un secondo step per lo studio farmacogenetico.

3.2 *Materiali e metodi*

Per l'analisi osservazionale sono stati arruolati pazienti affetti da GIST metastatico/avanzato in trattamento con REG a dosaggio e/o schedula personalizzata afferenti al GISTSTUDY GROUP, Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna.

Siccome analoga analisi è stata eseguita presso altri centri italiani di riferimento per i GIST, di seguito riportati, è stato interessante fare una *pooled analysis* su questo tema:

- 1) Struttura Complessa Oncologia Medica dei Tumori Mesenchimali dell'Adulto e Tumori Rari, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori, Milano;
- 2) Dipartimento di Oncologia, Policlinico Universitario Campus Bio-Medico, Roma;
- 3) Oncologia Medica, Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico Paolo Giaccone, Palermo;
- 4) Oncologia Medica, Unità Sarcomi di IRCC - istituto per la ricerca e la cura del cancro, Candiolo, Torino;
- 5) Centro Regionale di Genetica Oncologica-Oncologia Medica, Università Politecnica delle Marche, Ancona;
- 6) Oncologia Medica, Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi, Firenze.

A ciascun paziente è stato assegnato un codice identificativo e sono stati raccolti in un database elettronico le seguenti informazioni cliniche:

- tipo e numero di schedule alternative adottate
- ragioni che hanno portato all'ottimizzazione del trattamento
- impatto della modifica del trattamento sul profilo di tolleranza
- outcome

Per lo studio di farmacogenetica, è stato raccolto prospetticamente il sangue periferico dei pazienti afferenti al solo al nostro centro, secondo la seguente modalità:

- 1 prelievo prima dell'inizio del trattamento
- 1 prelievo durante il trattamento
- 1 prelievo nel periodo di sospensione

Tale studio è stato approvato dal Comitato Etico locale nell'ambito dello studio intitolato "Studio dei polimorfismi genici di pazienti affetti da tumori stromali gastrointestinali (GISTs) e del loro valore predittivo di attività clinica di inibitori tirosin kinasici", approvato in data 23/01/2007 numero 3/2007/U/Tess.

3.3 Risultati

Sono stati arruolati 15 pazienti affetti da GIST metastatico/avanzato in trattamento con REG a dosaggio e/o schedula personalizzata afferenti al GISTSTUDY GROUP di Bologna. All'analisi sono stati aggiunti i dati raccolti presso gli altri centri, per un totale di 62 pazienti, di cui 12 provenienti da Milano, 12 da Candiolo, 9 da Roma, 7 da Palermo, 4 da Firenze e 3 da Ancona. Le caratteristiche di tutti i pazienti di questa *pooled analysis* sono riportate nella Tabella 14.

		N° pz (%) Totale: 62
Sesso	Maschi	33 (53%)
	Femmine	29 (47%)
Età alla diagnosi	Media	56 anni
	Range	32-75 anni
Sede del primitivo	Stomaco	16 (26%)
	Duodeno	5 (8%)
	Digiuno	6 (10%)
	Ileo	27 (43%)
	Colon	1 (2%)
	Retto	4 (6%)
	Extra-GIST	3 (5%)
Classe di rischio	Bassa	4 (10%)
	Intermedia	8 (20%)
	Alta	28 (70%)
Stato della malattia alla diagnosi	Localizzato	40 (64%)
	Metastatico	22 (36%)
Stato mutazionale	KIT esone 9	13 (21%)
	KIT esone 11	40 (64%)
	KIT esone 17	1 (2%)
	KIT/PDGFRA WT	3 (5%)
	NA	5 (8%)
Terapia adiuvante	Sì	13 (32%)
	No	27 (68%)
Sede delle metastasi	Fegato	16 (26%)
	Peritoneo	12 (20%)
	Fegato e peritoneo	27 (43%)
	Pluridistrettuale	7 (11%)

Tab. 14: caratteristiche dei pazienti della *pooled analysis*

Su 62 pazienti, 33 sono di sesso maschile e 29 di sesso femminile, di età media di 56 anni (range: 32-75 anni). In 27 pazienti (43%) il tumore primitivo era a sede ileale, seguita dallo stomaco in 16 pazienti (26%), digiuno in 6 (10%), duodeno in 5 (8%), retto in 4 (6%), colon in 1 (2%), mentre 3 pazienti presentavano un GIST a sede extra-gastrointestinale (5%).

Al momento della diagnosi, 40 presentavano una malattia localizzata (64%), mentre 22 (36%) erano metastatici all'esordio. Dei pazienti con malattia localizzata all'esordio, 4 erano a basso rischio di recidiva (10%), 8 a rischio intermedio (20%) e 28 ad alto rischio (70%).

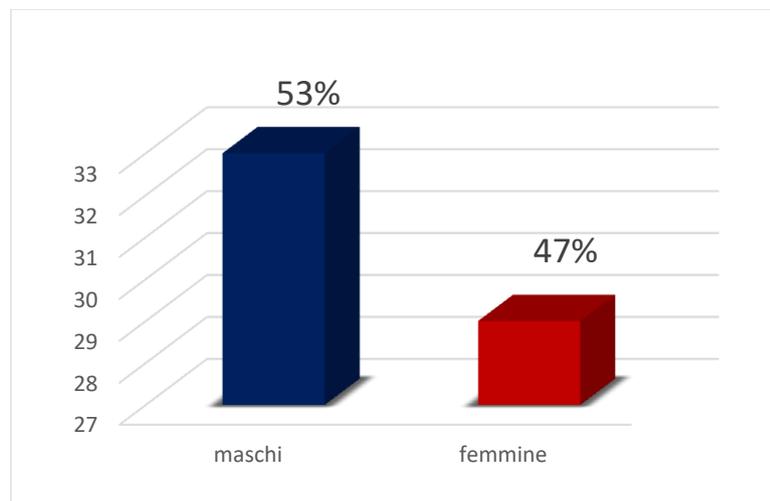


Grafico 1: sesso

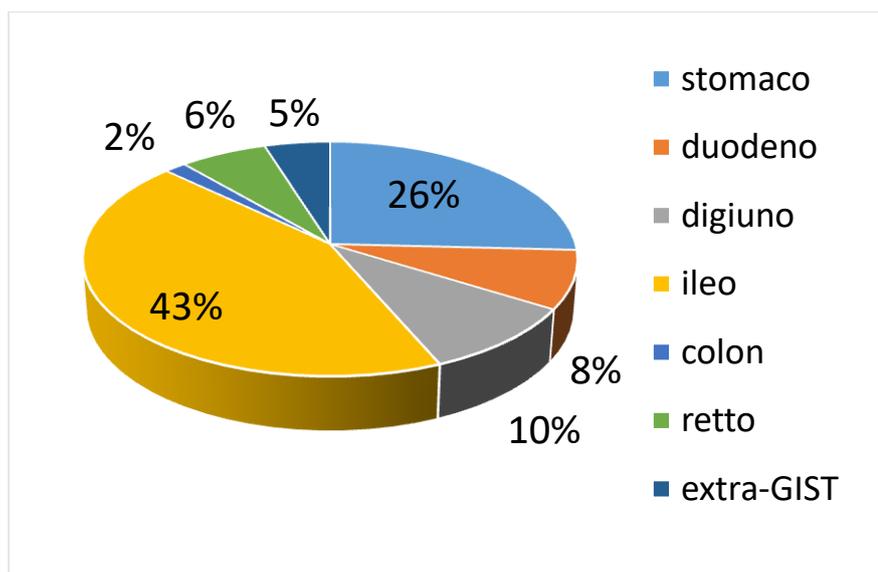


Grafico 2: sede del tumore primitivo

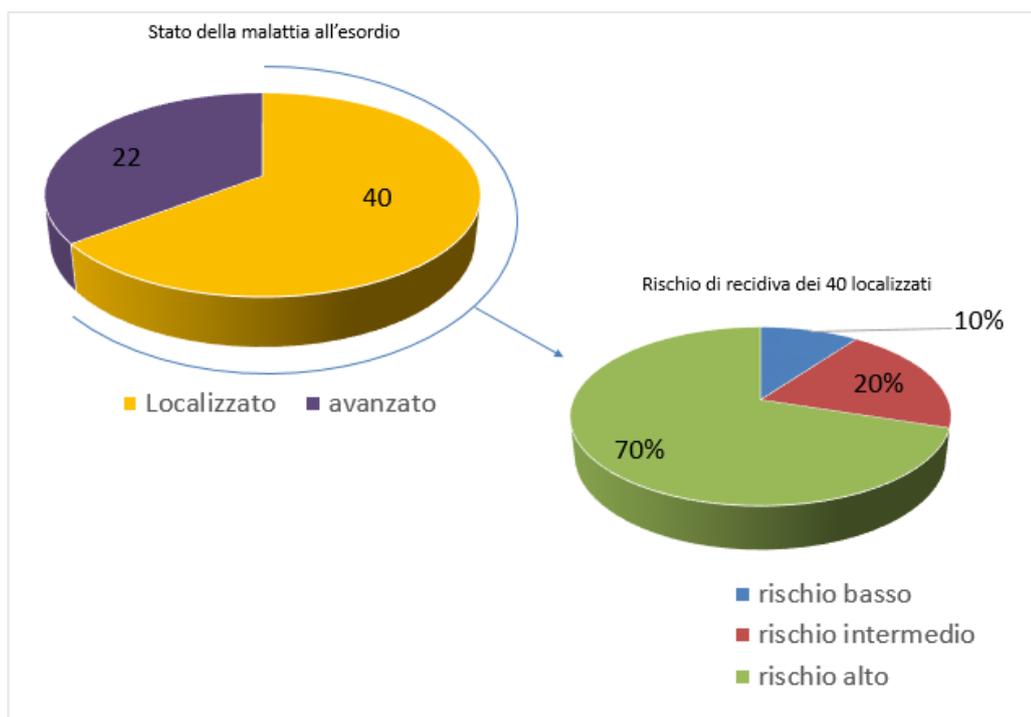


Grafico 3: stato della malattia all'esordio e classe di rischio

All'analisi molecolare, disponibile in 57 pazienti (92%), 40 (64%) erano mutati in KIT esone 11, 13 (21%) in KIT esone 9, 3 (5%) KIT/PDGFR WT e 1 paziente (2%) presentava una mutazione primaria in KIT esone 17.

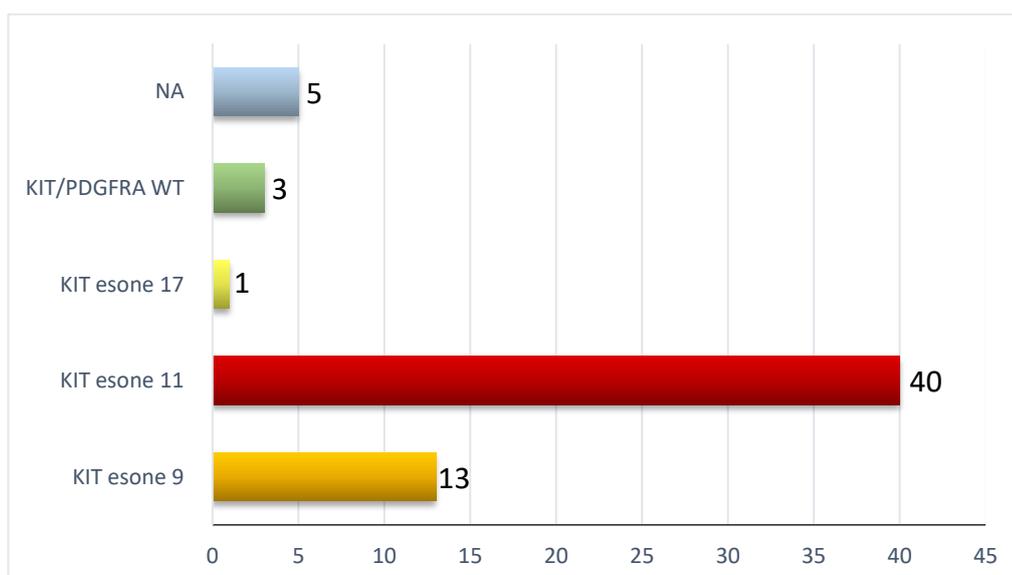


Grafico 4: stato mutazionale

Su 62 pazienti totali, REG è stato somministrato come II linea di trattamento in 3 pazienti, come III linea in 15 pazienti, come IV linea in 32 pazienti, come V linea in 6 pazienti e come VI linea in 6 pazienti.

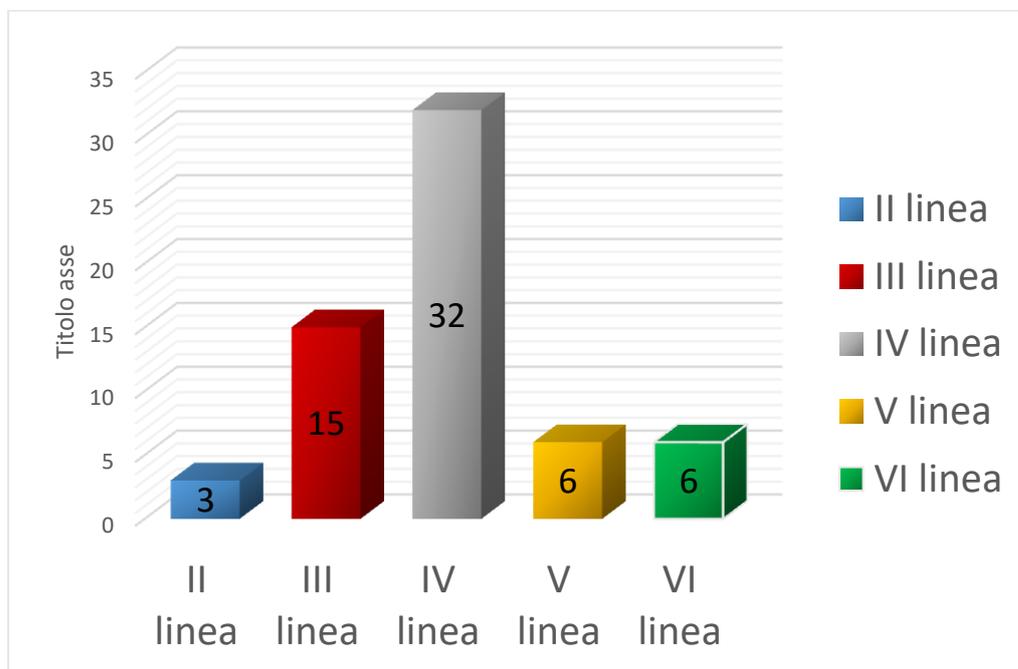


Grafico 5: linee di terapia con REG

Nell'intera casistica raccolta, 55 pazienti (89%) hanno intrapreso il trattamento con REG a dosaggio pieno di 160 mg/die secondo schedula standard (160 mg/die g1-21 q28), mentre in 7 pazienti (11%) il trattamento è stato fin da subito intrapreso a dosaggio o schedula personalizzata per motivi clinici.

In accordo con lo scopo dell'elaborato, tutti i 55 pazienti inizialmente trattati a dosaggio e/o schedula standard hanno ricevuto almeno una modifica del trattamento per intolleranza. Di questi 55, 23 pazienti (42%) hanno successivamente ricevuto una seconda modifica, di cui 21 per intolleranza. Nei restanti due casi la modifica è consistita nella ripresa del dosaggio e schedula standard, per mancato controllo di malattia.

Andando ad analizzare nello specifico le tipologie di personalizzazione del trattamento con REG adottate nel gruppo dei 55 pazienti inizialmente trattati con il farmaco a dosaggio e schedula standard, in 36 pazienti (65%) è stata effettuata una sola riduzione del dosaggio, in 7 pazienti (13%) è stata modificata la schedula di trattamento

mantenendo il dosaggio pieno, mentre in 12 pazienti (22%) la riduzione della posologia è stata combinata ad una personalizzazione della schedula di assunzione (Grafico 6).

Analogamente, dei 21 pazienti che nel corso del trattamento hanno ricevuto una seconda modifica per intolleranza, in 4 pazienti (19%) è stata modificata solo la posologia, in 9 (43%) solo la schedula di assunzione, mentre in 8 (38%) sono state modificate entrambe (Grafico 6).

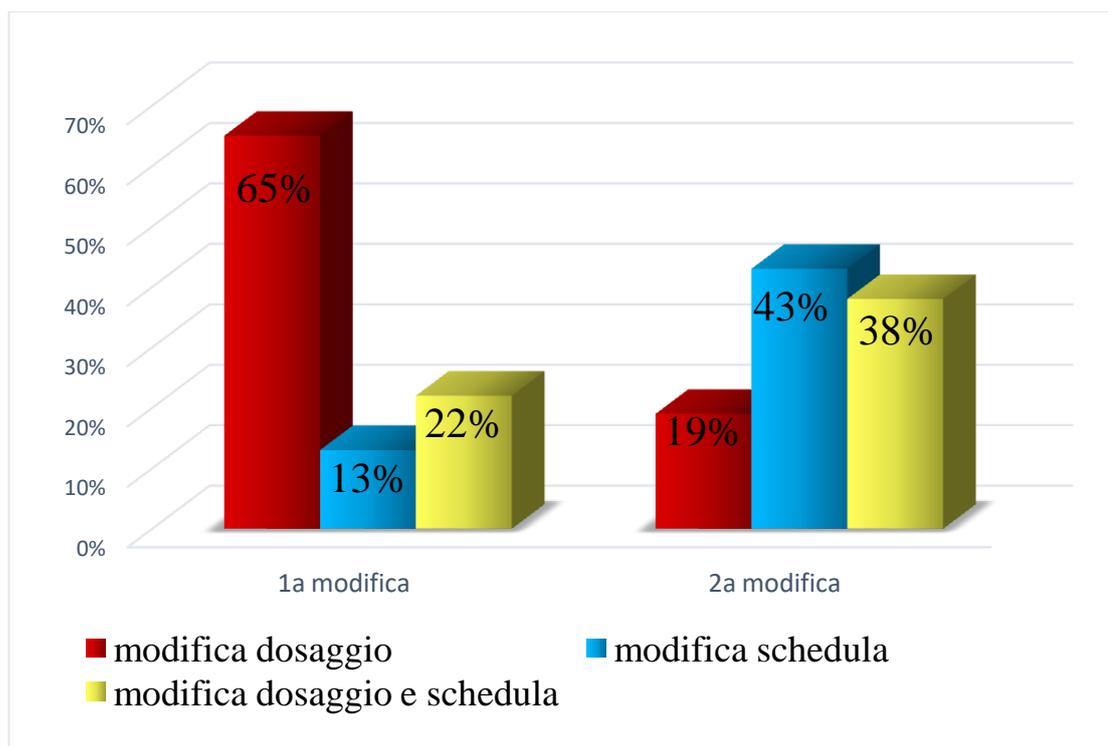


Grafico 6: tipologie di personalizzazione del trattamento per la 1° e 2° modifica

Dei rimanenti 7 pazienti in cui il trattamento era stato fin da subito intrapreso a dosaggio o schedula personalizzata per motivi clinici, 3 hanno ugualmente ricevuto un'ulteriore modifica della terapia per intolleranza, 2 hanno mantenuto la medesima schedula per tutta la durata del trattamento, mentre in 2 il dosaggio è stato incrementato per mancato controllo di malattia.

	Dose/schedula di partenza	T tra inizi o e 1° modifica	1° modifica	T tra 1° e 2° modifica	2° modifica	Motiv o	Durat a di tratta mento
BO 01	160 mg/die g1-21 q28	1,83	80mg/die g1-15 q21	-	-	Tossicità	In corso
BO 03	160 mg/die g1-21 q28	1,03	120mg/die g1-21 q28	2,97	80mg/die g1-5 q9	Tossicità	In corso
BO 04	160 mg/die g1-21 q28	3,03	160mg/die g1-21 q31	5,70	120mg/die g1-5 q9	Tossicità	In corso
BO 05	160 mg/die g1-21 q28	3,10	120mg/die g1-21 q28	45,83	80mg/die g1-21 q28	Tossicità	In corso
BO 06	160 mg/die g1-21 q28	1,10	120mg/die g1-21 q28	1,30	120mg /die g1-5 q9 per 3 settimane q28	Tossicità	7,53 mesi
BO 07	160 mg/die g1-21 q28	6,37	80mg/die g1-21 q28	10,83	80mg/die g1-14 q21	Tossicità	In corso
BO 08	160 mg/die g1-21 q28	0,60	120mg/die g1-21 q28	8,07	120mg/die g1-5 q9 per 3 settimane q28	Tossicità	24,97 mesi
BO 09	160 mg/die g1-21 q28	8,27	120mg/die g1-21 q28	-	-	Tossicità	11,43 mesi
BO 10	160 mg/die g1-21 q28	0,43	120mg/die g1-21 q28	-	-	Tossicità	10,4 mesi
BO 11	160 mg/die g1-21 q28	0,93	120mg/die g1-21 q28	1,53	120mg/die g1-10 q17	Tossicità	17,67 mesi
BO 12	160 mg/die g1-21 q28	1,90	160mg/die g1-5 q9	3,73	120mg/die g1-5 q10	Tossicità	6,10 mesi
BO 13	160 mg/die g1-21 q28	0,97	120 mg/die g1-21 q28	1,80	120mg/ die g1-14 q21	Tossicità	4,40 mesi
RO 01	160 mg/die g1-21 q28	0,46	160mg/die g1-5 q7	-	-	Tossicità	4 mesi
RO 03	160 mg/die g1-21 q28	2,3	120mg/die g1-21 q28	3,73	80mg/ die g1-14 q21	Tossicità	21 mesi
RO 04	160 mg/die g1-21 q28	0,46	120mg/die g1-21 q28	-	-	Tossicità	6 mesi
RO 05	160 mg/die g1-21 q28	3,3	160mg/die g1-5 q7	3,73	80mg/ die g1-14 q21	Tossicità	17mesi
RO 07	160 mg/die g1-21 q28	0,7	160mg/die g1-5 q7	-	-	Tossicità	4 mesi
RO 08	160 mg/die g1-21 q28	0,46	120mg/die g1-21 q28	-	-	Tossicità	3 mesi
RO 09	160 mg/die g1-21 q28	0,93	160mg/die g1-5 q7	1,6	120mg/ die g1-21 q28	Tossicità	12 mesi
PA 01	160 mg/die g1-21 q28	1,03	120 mg/die g1-21 q28	-	-	Tossicità	3 mesi
PA 02	160 mg/die g1-21 q28	1,03	120 mg/die g1-21 q28	-	-	Tossicità	19 mesi
PA 03	160 mg/die g1-21 q28	0,93	120 mg/die g1-21 q28	-	-	Tossicità	2 mesi
PA	160 mg/die	20,3	120 mg/die g1-	-	-	Tossicità	26

04	g1-21 q28	0	21 q28			ità	mesi
PA 05	160 mg/die g1-21 q28	0,93	120 mg/die g1- 21 q28	-	-	Tossic ità	10 mesi
PA 06	160 mg/die g1-21 q28	2,03	120 mg/die g1-7 q10	-	-	Tossic ità	In corso
PA 07	160 mg/die g1-21 q28	1,03	120 mg/die g1- 14 q21	-	-	Tossic ità	In corso
FI 01	160 mg/die g1-21 q28	5,13	120 mg/die g1- 14 q21/28	-	-	Tossic ità	8 mesi
FI 02	160 mg/die g1-21 q28	2,57	80 mg/die g1-10 q20	-	-	Tossic ità	11 mesi
FI 03	160 mg/die g1-21 q28	3,50	120 mg/die g1- 10 q20	-	-	Tossic ità	8 mesi
FI 04	160 mg/die g1-21 q28	1,00	120 mg/die g1- 21 q35	-	-	Tossic ità	3 mesi
TO 01	160 mg/die g1-21 q28	2,37	120 mg/die g1- 21 q28	2,87	120mg/die g1- 5 q9	Tossic ità	In corso
TO 02	160 mg/die g1-21 q28	6,87	120 mg/die g1- 21 q28	-	-	Tossic ità	34 mesi
TO 03	160 mg/die g1-21 q28	2,07	120 mg/die g1- 21 q28	-	-	Tossic ità	35 mesi
TO 04	160 mg/die g1-21 q28	1,60	120 mg/die g1- 21 q28	-	-	Tossic ità	10 mesi
TO 05	160 mg/die g1-21 q28	0,30	120 mg/die g1- 21 q28	-	-	Tossic ità	2 mesi
TO 06	160 mg/die g1-21 q28	0,60	120 mg/die g1- 21 q28	-	-	Tossic ità	5 mesi
TO 07	160 mg/die g1-21 q28	0,57	120 mg/die g1-5 q7	-	-	Tossic ità	6 mesi
TO 08	160 mg/die g1-21 q28	0,60	120 mg/die g1- 21 q28	-	-	Tossic ità	6 mesi
TO 09	160 mg/die g1-21 q28	0,23	120 mg/die g1- 21 q28	1,30	80 mg/ die g1- 21 q28	Tossic ità	3 mesi
TO 10	160 mg/die g1-21 q28	0,90	120 mg/die g1- 21 q28	2,33	80 mg/ die g1- 5 q9	Tossic ità	In corso
TO 11	160 mg/die g1-21 q28	0,97	120 mg/die g1-5 q7	-	-	Tossic ità	16 mesi
TO 12	160 mg/die g1-21 q28	0,43	120 mg/die g1-5 q7	-	-	Tossic ità	2 mesi
AN 01	160 mg/die g1-21 q28	11,7	120 mg/die g1- 21 q28	3,73	80 mg die g1- 21 q28 alternate a 120 mg/die g1-21 q28 se diarrea	Tossic ità	18 mesi
AN 02	160 mg/die g1-21 q28	1,03	120 mg/die g1- 21 q28	3,73	80 mg die g1- 21 q28 alternate a 120 mg/die g1-21 q28 se diarrea	Tossic ità	In corso
AN 03	160 mg/die g1-21 q28	0,50	80 mg/die g1-21 q28	-	-	Tossic ità	1,5 mesi
MI 01	160 mg/die g1-21 q28	0,70	120 m/die g1-21 q28	1,17	160 mg/die g1-21 q28	Tossic ità- Scarso	5,9 mesi

						control malat.	
MI 02	160 mg/die g1-21 q28	1,87	160 mg/die g1- 12 q18	-	-	Tossic ità	20,5 mesi
MI 03	160 mg/die g1-21 q28	3,90	120 mg/die g1- 21 q28	9,37	120 mg/die g1-14 q21	Tossic ità	20,8 mesi
MI 04	160 mg/die g1-21 q28	3,43	120 mg/die g1- 21 q28	-	-	Tossic ità	7,67 mesi
MI 06	160 mg/die g1-21 q28	5,53	120 mg/die g1- 21 q28	17,9 7	160 mg/die g1-21 q28	Tox- scarso control malat.	35,40 mesi
MI 07	160 mg/die g1-21 q28	2,87	120 mg/die g1-9 q11	0,87	80 mg/die g1- 21 q28	Tossic ità	14,97 mesi
MI 08	160 mg/die g1-21 q28	2,60	120 mg/die g1- 21 q28	-	-	Tossic ità	4,03 mesi
MI 10	160 mg/die g1-21 q28	3,43	160 mg/die g1-7 e 120 mg/die g8-21 q28	6,53	160 mg g1-7 e 120 mg g8-14 q21	Tossic ità	26,3 mesi
MI 11	160 mg/die g1-21 q28	1,60	120 mg/die g1- 21 q28	-	-	Tossic ità	2, 40 mesi
MI 12	160 mg/die g1-21 q28	5,60	120 mg/die g1- 21 q28	1,60	120 mg/die g1-14 q21	Tossic ità	14,47 mesi
BO 02	80 mg/die g1- 21 q28	4,53	120mg/die g1- 21 q28	-	-	Scarso control malat.	In corso
BO 14	80 mg/die g1- 21 q28	-	-	-	-		9,53 mesi
BO 15	120 mg/die g1-21 q28	-	-	-	-		In corso
RO 02	160 (g1-5 q7)	1,4	80mg/die g1-14 q21	-	-	Tossic ità	8 mesi
RO 06	160 (g1-5 q7)	0,93	120mg/die g1- 21 q28	-	-	Tossic ità	6 mesi
MI 05	120 mg/die g1-21 q28	2,97	120 mg/die g1- 14 q21	5,33	120 mg/die g1-21 q28		10,60 mesi
MI 09	120 mg/die g1-21 q28	2,13	160 mg/die g1- 21 q28	-	-	Scarso control malat.	7,90 mesi

Tab. 15: tipologie della 1° e 2° modifica e durata di trattamento

Dei 55 pazienti inizialmente trattati con REG a dosaggio e schedula standard, i principali effetti collaterali osservati, che hanno portato alla prima modifica del trattamento sono stati i seguenti: HFS (43,6%), astenia (34,5%), tossicità gastrointestinale (36,4%), inappetenza (13%), ipertensione (16,3%) e mucosite (11%). La seconda modifica del trattamento è stata indotta nella maggior parte dei casi dalla persistenza di HFS (52%), astenia (33,4%) e tossicità gastrointestinale (19%) (Tab. 16).

Effetti collaterali causa della 1° modifica		Effetti collaterali causa della 2° modifica	
HFS	43,6%	HFS	52%
Astenia	34,5%	Astenia	33,4%
Tossicità gastrointestinali	36,4%	Tossicità gastrointestinali	19%
Ipertensione	16,3%	Ipertensione	4,8%
Inappetenza	13%	Inappetenza	4,8%
Mucosite	11%	Mucosite	4,8%
Febbre	1,8%	Febbre	4,8%
Iperamilasemia/iperlipasemia	1,8%	Iperamilasemia	4,8%
Tossicità midollare	3,6%		
Tossicità epatica	3,6%		
Pollachiuria	1,8%		
TVP	1,8%		
Calo del visus	1,8%		
Calo tono di voce	3,6%		
Caduta denti	1,8%		
Ipotiroidismo	1,8%		

Tab. 16: effetti collaterali della 1° e della 2° modifica

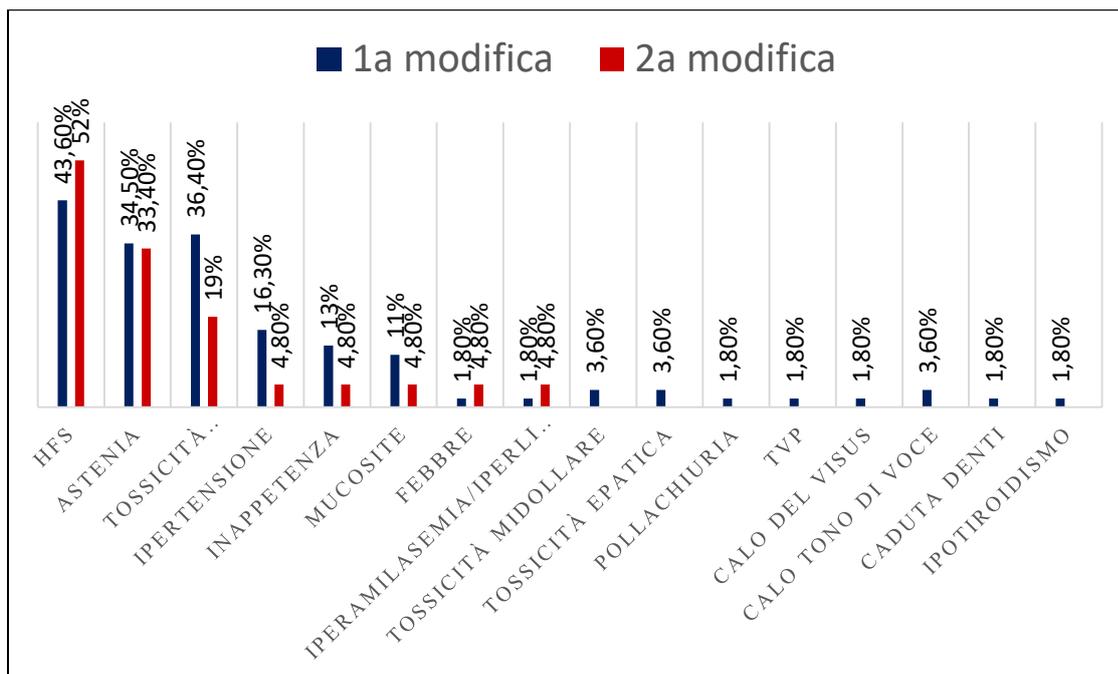


Grafico 7: rapporto tra effetti collaterali della 1° e 2° modifica

Il tempo medio intercorso tra l'inizio del trattamento e la prima modifica per intolleranza è stato di 2,5 mesi (range 0,2-20,3 mesi). Il tempo medio intercorso tra la prima e la seconda modifica è stato di 6,9 mesi (range 0,9-45,8 mesi).

A seguito della prima modifica legata a motivi di intolleranza, 9 pazienti (15,5%) hanno avuto una risoluzione completa degli effetti collaterali, 38 pazienti (65,5%) una risoluzione parziale, mentre 11 pazienti (19%) non hanno avuto alcun beneficio (Tab. 17a). Dei pazienti che hanno ricevuto un'ulteriore personalizzazione del trattamento, in tutti è stato ottenuto un miglioramento complessivo della tolleranza: in particolare 7 pazienti (33%) hanno avuto una risoluzione completa degli effetti collaterali, mentre 13 pazienti (62%) una risoluzione parziale (Tab. 17b).

Tipo di schedule adottate per la 1° modifica	N° pazienti	Impatto sulla QoL	Pz che hanno fatto 2° modifica
120mg/die g1-21 q28	35 pz	6 pz con complete risoluzione 23 pz con parziale risoluzione 6 pz con nessuna risoluzione	14
160mg/die g1-5 q7	4 pz	1 pz con parziale risoluzione 3 pz con nessuna risoluzione	2
120 mg/die g1-5 q7	3 pz	3 pz con parziale risoluzione	-
120 mg/die g1-14 q21	3 pz	2 pz con parziale risoluzione 1 pz con nessuna risoluzione	1 (aumento dose)
80mg/die g1-21 q28	2 pz	1 pz con parziale risoluzione 1 pz con nessuna risoluzione	1
80mg/die g1-14 q21	2 pz	Completa risoluzione	-
80mg/die g1-10 q20	1 pz	Parziale risoluzione	-
120 mg/die g1-7g q10	1 pz	Parziale risoluzione	-
120 mg/die g1-10 q20	1 pz	Complete risoluzione	-
120 mg/die g1-21 q35	1 pz	Parziale risoluzione	-
120 mg/ g1-9 q11	1 pz	Parziale risoluzione	1
160mg/die g1-21 q31	1 pz	Parziale risoluzione	1
160mg/die g1-5 q9	1 pz	Parziale risoluzione	1
160 mg/die g1-12 q18	1 pz	Parziale risoluzione	-
160 mg/die g1-7/120 mg g8-21 q28	1 pz	Parziale risoluzione	1

Tab. 17a: strategie adottate per la prima modifica.

Tipo di schedule adottate per la 2° modifica	N° pazienti	Impatto sulla QoL
120mg/die g1-14 q21	3 pz	Parziale risoluzione
80mg/die g1-21 q28	3 pz	1 pz con completa risoluzione 2 pz con parziale risoluzione
80mg g1-14 q21	3 pz	1 pz con completa risoluzione 2 pz con parziale risoluzione
80mg/die g1-5 q7	2 pz	1 pz con completa risoluzione 1 pz con parziale risoluzione
80mg/die g1-21 q28 [alternate a 120mg/die g1-21 q28 se diarrea]	2 pz	Parziale risoluzione
120mg/die g1-5 q7	2 pz	1 pz con completa risoluzione 1 pz con parziale risoluzione
120mg/die g1-5 q7 per 3 settimane q28	2 pz	1 pz con completa risoluzione 1 pz con parziale risoluzione
120mg/die g1-10 q 17	1 pz	Complete risoluzione
120mg/die g1-5 q10	1 pz	NA
120mg/die g1-21 q28	1 pz	Completa risoluzione
160 mg/die g1-7 e 120 mg/die g8-14 q21	1 pz	Parziale risoluzione

Tab. 17b: strategie adottate per la seconda modifica.

Nel complesso, nonostante l'estrema eterogeneità osservata (Grafico 8a e b), le strategie di personalizzazione più frequentemente adottate nella realtà clinica italiana sono state le seguenti:

- 120mg/die g1-21 q28 (35 pz su 58, **60%**)
- 160mg/die g1-5 q7 (4 pz su 58, **7%**)
- 120 mg/die g1-5 q7 (3 pz su 58, **5%**)
- 120 mg/die g1-14 q21 (3 pz su 58, **5%**)

per la prima modifica.

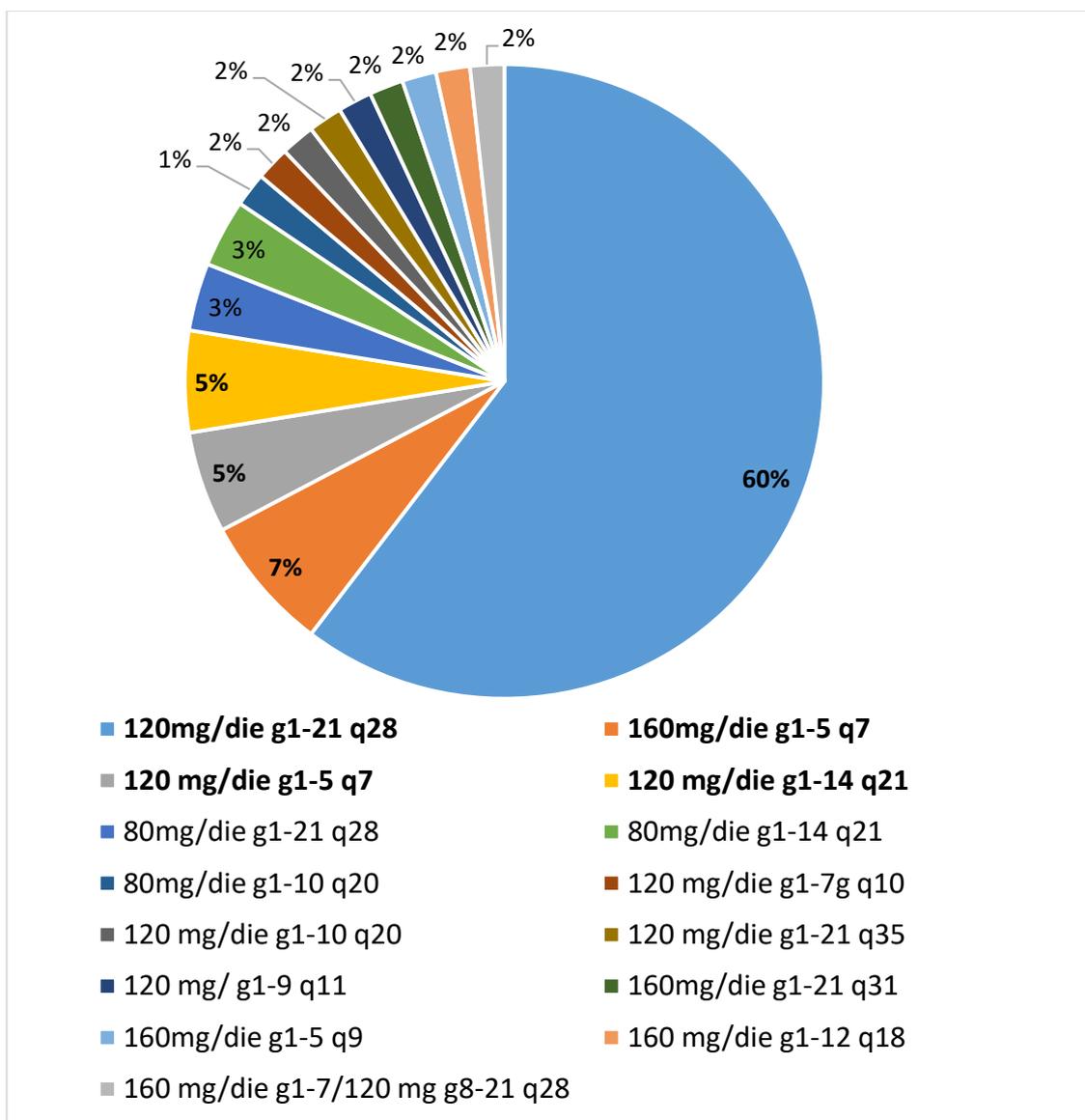


Grafico 8a: strategie di personalizzazione adottate per la 1° modifica

- 120mg/die g1-14 q21 (3 pz su 21, **14%**)
- 80mg/die g1-21 q28 (3 pz su 21, **14%**)
- 80mg g1-14 q21 (3 pz su 21, **14%**)

per la seconda modifica.

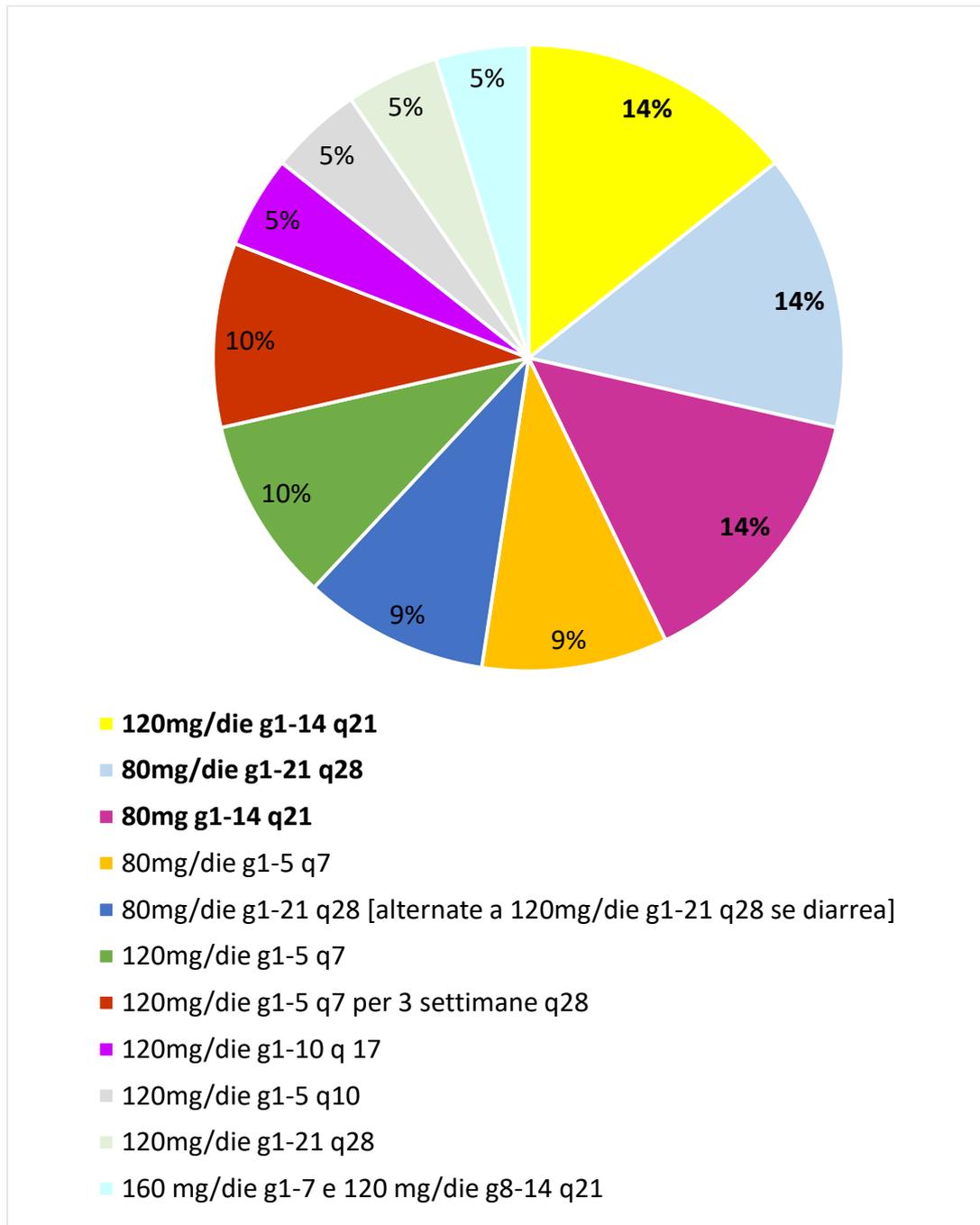


Grafico 8b: strategie di personalizzazione adottate per la 2° modifica

La durata del trattamento media osservata nell'intera casistica è stata di 13,8 mesi (madiana 9,9 mesi; range 1,5-53,6), comprendente 12 pazienti che risultano tutt'ora in corso di trattamento. Nel 23% dei casi (14 pazienti) la durata del trattamento è superiore ai 20 mesi, con una media di 32,14 (range 20,50-53,67). Di questi 4 hanno ricevuto una sola modifica del trattamento, mentre i restanti 10 pazienti hanno ricevuto due modifiche. Andando ad osservare nello specifico le strategie di personalizzazione adottate in questo sottogruppo di pazienti che hanno ricevuto REG più a lungo, la tipologia più frequentemente adottata nella prima modifica è stata la sola riduzione del dosaggio a 120 mg/die (g1-21 q28), mentre per la seconda la scelta è stata di gran lunga più eterogenea, con una maggiore prevalenza per le strategie di combinazione (Tab. 18).

Pazienti	1° modifica	2° modifica	Durata di trattamento (in mesi)
BO04*	160mg/die g1-21 q31	120mg/die g1-5 q7	33,17
BO05*	120mg/die g1-21 q28	80mg/die g1-21 q28	53,67
BO07*	80mg/die g1-21 q28	80mg/die g1-14 q21	40,30
BO08	120 mg/die g1-21 q28	120mg g1-5 q7 per 3 settimane + q28	24,97
MI02	160mg/die g1-12 q18	-	20,50
MI03	120 mg/die g1-21 q28	120mg/die g1-14 q21	20,80
MI06	120 mg/die g1-21 q28	160mg/die g1-21 q28	35,40
MI10	160 mg/die g1-7 e 120 mg/die g8-21 q28	160 mg/die g1-7 e 120 mg/die g8-14 q21	26,30
TO01*	120 mg/die g1-21 q28	120mg/die g1-5 q7	39,67
TO02	120 mg/die g1-21 q28	-	34,30
TO03	120 mg/die g1-21 q28	-	34,67
PA04	120 mg/die g1-21 q28	-	26,43
RO03	120 mg/die g1-21 q28	80mg/die g1-14 q21	21
AN02*	120 mg/die g1-21 q28	80mg/die g1-21 q28	38,87
			MEDIA = 32,14
			MAX = 53,67
			MIN = 20,50

Tab. 18: tipologie di personalizzazione adottate nei pazienti con durata del trattamento > 20 mesi [*pazienti con trattamento ancora in corso.]

All'ultimo follow-up 27 pazienti sono risultati ancora vivi, mentre 32 sono deceduti per malattia. Dei pazienti in vita 15 hanno interrotto il REG per progressione e 12 sono tutt'ora in trattamento.

Dei 15 pazienti arruolati presso il nostro centro, è stato raccolto il sangue periferico di 2 pazienti, prima dell'inizio del trattamento, durante il trattamento e durante la settimana di pausa. L'analisi di farmacogenetica sui polimorfismi dei geni coinvolti nel pathway di VEGF e di quelli codificanti le principali proteine coinvolte nel metabolismo e trasporto del REG è in corso.

3.4 *Discussione*

REG è un inibitore multi-chinasico attualmente approvato nel trattamento di terza linea dei GIST non resecabili o metastatici dopo progressione di malattia o intolleranza al trattamento con IM e SU.

Nonostante il suo beneficio in termini di sopravvivenza libera da progressione, in più della metà (61,4%) dei pazienti è stata segnalata una tossicità di grado ≥ 3 , con conseguente riduzione del dosaggio nel 72% dei casi [8]. Tale tossicità viene osservata maggiormente nei primi cicli di trattamento e tende a migliorare nel tempo, senza che siano stati osservati eventi avversi a lungo termine inattesi [10].

Analogamente all'esperienza maturata con altri TKIs, l'ottimizzazione del trattamento mediante aggiustamenti di dose e/o di schedula di somministrazione si sta dimostrando cruciale per ridurre al minimo la tossicità, garantendo così al paziente la maggior continuità terapeutica possibile [11,12].

Tuttavia nella pratica clinica di tutti i giorni la personalizzazione del trattamento con REG non avviene in modo uniforme e standardizzato, ma si basa sull'esperienza personale di ogni singolo centro, in assenza di dati clinici consolidati.

Siccome il reale utilizzo di REG al di fuori dei trial clinici non è ad oggi mai stato descritto, come non è ancora noto quale sia l'impatto di ciascuna di queste strategie alternative sulla QoL del paziente nonché sull'outcome a lungo termine, lo scopo della presente tesi è stato dunque quello di effettuare un'analisi osservazionale volta a descrivere per la prima volta l'utilizzo di REG nei pazienti affetti da GIST avanzato/metastatico nella realtà clinica italiana dalla sua immissione in commercio.

Sulla base della *pooled analysis* da noi effettuata unendo la nostra casistica con quella di altri centri italiani di riferimento per i GIST, abbiamo raccolto un totale di 62 pazienti trattati con REG a dosaggio e/o schedula personalizzata, nella quasi totalità dei casi (55 pazienti), adottata in corso di trattamento per motivi di intolleranza. Di questi circa la metà ha poi ricevuto una seconda rimodulazione del trattamento sempre per tossicità. In linea con quanto già noto in letteratura, i principali effetti collaterali di REG che hanno

portato alla personalizzazione del trattamento sono stati l'HFS, l'astenia e la tossicità gastrointestinale, seguiti poi dall'ipertensione, l'inappetenza e la mucosite.

Andando ad analizzare nello specifico i singoli casi, si conferma innanzitutto l'estrema eterogeneità di utilizzo del REG nella pratica clinica italiana, con strategie di personalizzazione del trattamento basate sulla sola riduzione del dosaggio, sulla modifica della schedula di somministrazione oppure sulla combinazione di entrambe (Figura 12).

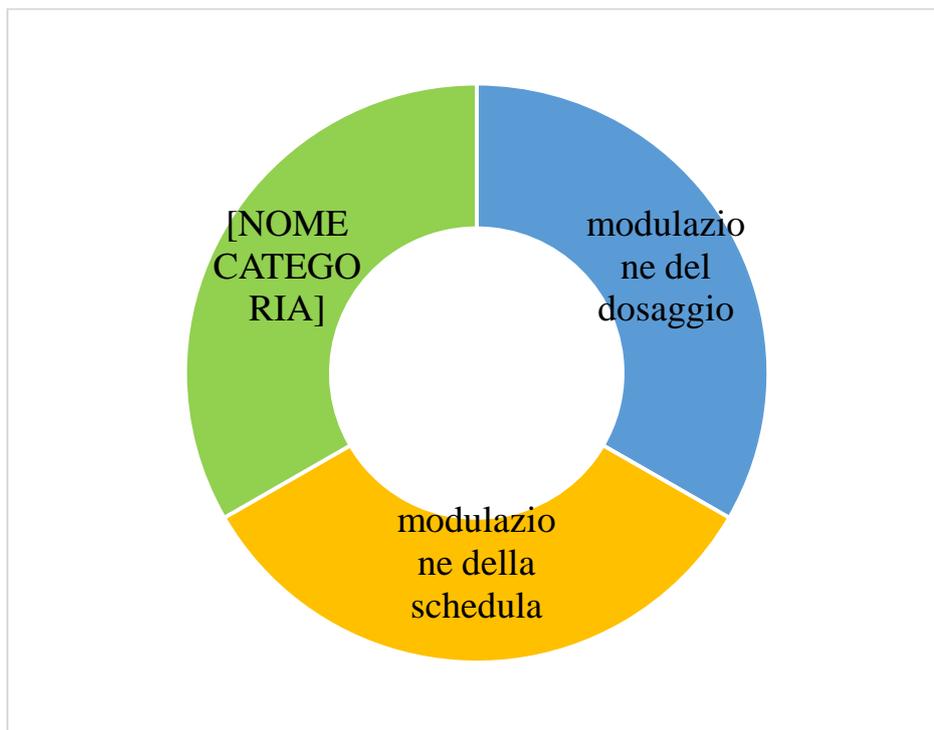


Fig. 12: strategie di personalizzazione del trattamento con REG

Dal nostro studio è emerso come la riduzione del dosaggio a 120 mg/die mantenendo la schedula standard (g1-21 q28) è quella di gran lunga più utilizzata come prima modifica in più della metà dei pazienti (35 pz su 58, 60%), seguita dal mantenimento del dosaggio pieno (160 mg/die) ma somministrato con schedula accorciata (g1-5 q7) (4 pz su 58,7%). Per quanto riguarda invece la seconda modifica è emerso come prevalgano strategie di personalizzazione combinate quali 120 mg/die g1-14 q21 (3 pz su 21, 14%), 80 mg/die g1-21 q28 (3 pz su 21, 14%) e 80 mg g1-14 q21 (3 pz su 21, 14%).

Sul piano clinico, la personalizzazione del trattamento ha permesso di ottenere nella quasi totalità dei pazienti almeno una risoluzione parziale degli effetti collaterali, e in 9

casi anche una risoluzione completa. Anche in caso di seconda modifica, il miglioramento in termini di tolleranza è stato raggiunto in tutti i pazienti.

Interessante è notare come le tossicità che più di tutte beneficiano di una personalizzazione del trattamento, specialmente di una riduzione del dosaggio, sono le tossicità gastrointestinali (36,4% vs 19%, rispettivamente 1° e 2° modifica), l'ipertensione (16,3% vs 4,8%) e l'inappetenza (13% vs 4,8%). Si mantiene stabile l'astenia (34,5% vs 33,4%). Al contrario l'HFS nella nostra casistica sembra essere quella che risente meno della modifica (43,6% vs 52%).

Dei pazienti che invece hanno fin dall'inizio intrapreso un trattamento personalizzato con REG per motivi clinici, la strategia più adottata è stata quella della sola riduzione di dose nonostante sia presente anche in questo caso un'ampia eterogeneità. Di questi è meritevole sottolineare che 3 hanno subito un'ulteriore modifica per intolleranza, 2 hanno aumentato la dose per ottenere un maggior controllo di malattia mentre i restanti 2 pazienti, di cui uno tutt'ora in trattamento, non hanno subito ulteriori modifiche, a sostegno dell'approccio "*a start low and go slow*" proposto per i pazienti affetti da cancro del colon-retto trattati con REG [217].

In media il tempo intercorso tra l'inizio del trattamento e la prima modifica è risultato di 2,5 mesi, a conferma di come la maggior parte degli eventi avversi di REG si manifestano principalmente durante i primi cicli di trattamento [10]. Per tale motivo la personalizzazione del trattamento con REG riveste un ruolo cruciale fin dall'inizio, quando il profilo di tossicità del farmaco è più pronunciato. Infatti, nei pazienti in cui è stata necessaria un'ulteriore modifica del trattamento per intolleranza, questa è stata effettuata dopo un intervallo medio di tempo di 7 mesi, superiore al tempo alla progressione (TTP) di 5,4 mesi riportato nello studio registrativo [8].

La durata di trattamento mediana dell'intera casistica è risultata essere di 9,9 mesi, superiore quindi allo studio registrativo, e più vicina al *progression-free survival* (PFS) mediano recentemente riportato da Ben-Ami (13,2 mesi) sulla casistica di pazienti trattati con REG nell'ambito dello studio di fase II antecedente al GRID trial, includendo anche i pazienti che hanno proseguito il trattamento oltre la progressione per beneficio clinico [194]. È meritevole evidenziare l'ampiezza del range della durata di trattamento della nostra casistica (1,5-53,6), incluso il sottogruppo di 12 pazienti che è

tutt'ora in trattamento, la cui durata media è di 23,9 mesi (range 4,6-53,6 mesi). Tale dato è significativo in quanto dimostra come la personalizzazione della terapia giochi un ruolo rilevante nella massimizzazione del trattamento con REG, evitando interruzioni precoci per intolleranza severa.

Andando ad analizzare nello specifico i 14 pazienti che hanno assunto il trattamento per più tempo (> 20 mesi), di cui 5 ancora in trattamento con REG, 4 hanno ricevuto una sola modifica, mentre 10 hanno ricevuto un'ulteriore modifica, con una media complessiva di durata di trattamento di 32,14 mesi (range 20,50-53,67). In questo sottogruppo, la sola riduzione del dosaggio a 120 mg/die e schedula standard (120 mg/die g1-21 q28) è risultata la strategia di personalizzazione adottata con più prevalenza (10 pazienti su 14).

Conclusioni

In conclusione, sulla base dei risultati di questa analisi osservazionale, si dimostra come la personalizzazione del trattamento con REG nei pazienti affetti da GIST sia pratica diffusa nella realtà clinica italiana e quanto le strategie adottate siano estremamente eterogenee e basate esclusivamente sull'esperienza clinica dei singoli centri. Analogamente all'esperienza maturata con altri TKIs, l'ottimizzazione del trattamento mediante aggiustamenti di dose e/o di schedula di somministrazione si conferma essere cruciale per massimizzare la durata della terapia, garantendo così la maggior continuità terapeutica possibile, con il minor impatto sulla qualità di vita del paziente. Inoltre la personalizzazione del trattamento non solo ha conseguenze sull'ottimizzazione della terapia in termini di durata, ma anche sulla riduzione dei costi sanitari legati alla gestione degli eventi avversi.

Vista l'estrema eterogeneità osservata non è possibile definire quale sia la strategia di personalizzazione migliore in termini di tolleranza e di *outcome*, in quanto sarebbero necessari studi prospettici su casistiche più numerose ed omogenee. Di certo al di là di quale sia la strategia adattativa ottimale, sul piano clinico è fondamentale definire quale sia la strategia di partenza migliore per ciascun singolo paziente.

In futuro, i risultati degli studi di farmacogenetica e la determinazione dei livelli plasmatici di REG, potranno aiutare nel definire in maniera più razionale la strategia di trattamento con REG più efficace in termini di controllo di malattia e con il profilo di tolleranza più favorevole, in modo da rendere più omogeneo ed uniforme il *decision-making* nella pratica clinica.

Bibliografia

1. Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, et al. Gain-of-function mutation of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998;279:577-80.
2. Antonescu CR. The GIST paradigm: lessons for other kinase-driven cancers. *J Pathol* 2011;223:251-61.
3. Corless CL, Barnett CM, Heinrich MC. Gastrointestinal stromal tumors: origin and molecular oncology. *Nat Rev Cancer* 2011;11:865-78.
4. Nannini M, Astolfi A, Urbini M, et al. Integrated Genomic study of quadruple-WT GIST (KIT/PDGFR α /SDH/RAS pathway wild-type GIST). *BMC Cancer* 2014;14:685.
5. Demetri GD, Von Mehren M, Blanke CD, et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med* 2002;347:472-480.
6. Blanke CD, Demetri GD, Von Mehren M, et al. Long-term results from randomized phase II trial of standard- versus higher-dose imatinib mesylate for patient with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing KIT. *J Clin Oncol* 2008;26:620-5.
7. Demetri GD, van Oosterom AT, Garrett CR, et al. Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of imatinib a randomised controlled trial. *Lancet* 2006;368:1329-1338.
8. Demetri GD, Reichardt P, Kang Y-K, et al. Efficacy and safety of regorafenib for advanced gastrointestinal stromal tumours after failure of imatinib and sunitinib (GRID): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2013;381:295-302.
9. Grothey A, George S, Van Cutsem E, et al. Optimizing treatment outcomes with regorafenib: personalized dosing and other strategies to support patient care. *Oncologist* 2014;19:669-80.
10. Demetri GD, Reichardt P, Kang Y-K, et al. Long-term safety of regorafenib (REG) in advanced gastrointestinal stromal tumors (GIST): updated safety data of the phase 3 GRID trial. *Ann Oncol* 2016 (Supplement 6): vi1-vi14, 2016 (1415P).

11. Saponara M, Lolli C, Nannini M, et al. Alternative schedules or integration strategies to maximise treatment duration with sunitinib in patients with gastrointestinal stromal tumours. *Oncol Lett* 2014;8:1793-1799.
12. Lankheet N, Desar IM, Mulder SF, Burger DM, van Herpen CML, van der Graaf WTA, van Erp NP. Optimizing the dose in cancer patients treated with imatinib, sunitinib and pazopanib. *Annals of Oncology* (2016) 27 (6): 483492
13. Casali PG, Blay JY; ESMO/CONTICANET/EUROBONET Consensus Panel of Experts. Gastrointestinal stromal tumours: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010;21:98-102.
14. Miettinen M, Kopczynski J, Makhlouf HR, et al. Gastrointestinal stromal tumors, intramural leiomyomas, and leiomyosarcomas in the duodenum: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 167 cases. *Am J Surg Pathol* 2003;27:625-641.
15. Miettinen M, Sobin LH, Lasota J, et al. 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.
16. Golden T, Stout AP. Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract and retroperitoneal tissues. *SurgGynecol Obstet* 1941;73:784-810.
17. Mazur MT, Clark HB. Gastric stromal tumors. Reappraisal of histogenesis. *Am J Surg Pathol*. Sep 1983;7(6):507-19.
18. Appelman HD. Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract. What we know now that Stout didn't know. *Am J Surg Pathol* 1986;10:83-99.
19. Miettinen M, Virolainen M, Maarit-Sarlomo-Rikala. Gastrointestinal stromal tumors--value of CD34 antigen in their identification and separation from true leiomyomas and schwannomas. *Am J Surg Pathol* 1995;19:207-16.
20. Kindblom LG, Remotti HE, Aldenborg F, et al. Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. *Am J Pathol* 1998;152:1259-69.
21. Sircar K, Hewlett BR, Huizinga JD, et al. Interstitial cells of Cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol* 1999;23:377-89.
22. Huizinga JD, Thuneberg L, Klüppel M, Malysz J, Mikkelsen HB, Bernstein A. W/k_{it} gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity. *Nature* 1995;373:347-9.

23. Sommer G, Agosti V, Ehlers I, et al. Gastrointestinal stromal tumors in a mouse model by targeted mutation of the Kit receptor tyrosine kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:6706-11.
24. Rubin BP, Antonescu CR, Scott-Browne JP, et al. A knock-in mouse model of gastrointestinal stromal tumor harboring kit K641E. *Cancer Res* 2005;65:6631-9.
25. Lorincz A, Redelman D, Horváth VJ, Bardsley MR, Chen H, Ordög T. Progenitors of interstitial cells of cajal in the postnatal murine stomach. *Gastroenterology* 2008;134:1083-93.
26. Pantaleo MA, Astolfi A, Nannini M, et al. Differential expression of neural markers in KIT and PDGFRA wild-type gastrointestinal stromal tumours. *Histopathology* 2011;59:1071-80.
27. Hanks SK, Quinn AM, Hunter T. The protein kinase family: conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. *Science* 1988;241:42-52.
28. Maleddu A, Pantaleo MA, Nannini M, et al. Mechanisms of secondary resistance to tyrosine kinase inhibitors in gastrointestinal stromal tumors (Review). *Oncol Rep* 2009;21:1359–1366.
29. Huang E, Nocka K, Beier DR, et al. The hematopoietic growth factor KL is encoded by the Sl locus and is the ligand of the c-kit receptor, the gene product of the W locus. *Cell* 1990;63:225-33.
30. Corless CL, McGreevey L, Town A, et al. KIT gene deletions at the intron 10-exon 11 boundary in GI stromal tumors. *J Mol Diagn* 2004;6:366-70.
31. Ernst SI, Hubbs AE, Przygodzki RM, Emory TS, Sobin LH, O'Leary TJ. KIT mutation portends poor prognosis in gastrointestinal stromal/smooth muscle tumors. *Lab Invest* 1998;78:1633-6.
32. Lasota J, Jasinski M, Sarlomo-Rikala M, Miettinen M. Mutations in exon 11 of c-Kit occur preferentially in malignant versus benign gastrointestinal stromal tumors and do not occur in leiomyomas or leiomyosarcomas. *Am J Pathol* 1999;154:53-60.
33. Singer S, Rubin BP, Lux ML, et al. Prognostic value of KIT mutation type, mitotic activity, and histologic subtype in gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2002;20:3898-905.
34. Taniguchi M, Nishida T, Hirota S, et al. Effect of c-kit mutation on prognosis of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 1999;59:4297-300.

35. Andersson J, Bümming P, Meis-Kindblom JM, et al. Gastrointestinal stromal tumors with KIT exon 11 deletions are associated with poor prognosis. *Gastroenterology* 2006;130:1573-81.
36. Cho S, Kitadai Y, Yoshida S, et al. Deletion of the KIT gene is associated with liver metastasis and poor prognosis in patients with gastrointestinal stromal tumor in the stomach. *Int J Oncol* 2006;28:1361-7.
37. Liu XH, Bai CG, Xie Q, Feng F, Xu ZY, Ma DL. Prognostic value of KIT mutation in gastrointestinal stromal tumors. *World J Gastroenterol* 2005;11:3948-52.
38. Martín J, Poveda A, Llombart-Bosch A, , et al. Deletions affecting codons 557–558 of the c-KIT gene indicate a poor prognosis in patients with completely resected gastrointestinal stromal tumors: a study by the Spanish Group for Sarcoma Research (GEIS). *J Clin Oncol* 2005;23:6190-8.
39. Lux ML, Rubin BP, Biase TL, et al. KIT extracellular and kinase domain mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Am J Pathol* 2000;156:791-5.
40. Antonescu CR, Viale A, Sarran L, et al. Gene expression in gastrointestinal stromal tumors is distinguished by KIT genotype and anatomic site. *Clin Cancer Res* 2004;10:3282-90.
41. Huss S, Künstlinger H, Wardelmann E, Kleine MA, Binot E, Merkelbach-Bruse S, Rüdiger T, Mittler J, Hartmann W, Büttner R, Schildhaus HU. A subset of gastrointestinal stromal tumors previously regarded as wild-type tumors carries somatic activating mutations in KIT exon 8 (p.D419del). *Mod Pathol*. 2013 Jul;26(7):1004-12
42. Lasota J, Corless CL, Heinrich MC, 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;21:476-84.
43. Hirota S, Ohashi A, Nishida T, et al. Gain-of-function mutations of platelet-derived growth factor receptor alphas in gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterology* 2003;125:660-7.
44. Kang HJ, Nam SW, Kim H, et al. Correlation of KIT and platelet-derived growth factor receptor alpha mutations with gene activation and expression profiles in gastrointestinal stromal tumors. *Oncogene* 2005;24:1066-74.
45. Wasag B, Debiec-Rychter M, Pauwels P, et al. Differential expression of KIT/PDGFRα mutant isoforms in epithelioid and mixed variants of

- gastrointestinal stromal tumors depends predominantly on the tumor site. *Mod Pathol* 2004;17:889-94.
46. Debiec-Rychter M, Wasag B, Stul M, et al. Gastrointestinal stromal tumours (GISTs) negative for KIT (CD117 antigen) immunoreactivity. *J Pathol* 2004;202:430-8.
 47. Lasota J, Dansonka-Mieszkowska A, Sobin LH, Miettinen M. A great majority of GISTs with PDGFRA mutations represent gastric tumors of low or no malignant potential. *Lab Invest* 2004;84:874-83.
 48. Lasota J, Stachura J, Miettinen M. GISTs with PDGFRA exon 14 mutations represent subset of clinically favorable gastric tumors with epithelioid morphology. *Lab Invest* 2006;86:94-100.
 49. Duensing A, Medeiros F, McConarty B, et al. Mechanisms of oncogenic KIT signal transduction in primary gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *Oncogene* 2004;23:3999-4006.
 50. 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 SurgPathol* 2010;34:636-44.
 51. 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* 2011; 108:314-318.
 52. Miettinen M, Wang ZF, 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 SurgPathol* 2011;35:1712-1721.
 53. Pantaleo MA, Astolfi A, Urbini M, Nannini M, Paterini P, Indio V, et al. Analysis of all subunits, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, of the succinate dehydrogenase complex in KIT/PDGFRA wild-type GIST. *Eur J Hum Genet* 2014;22:32-9.
 54. Pantaleo MA, Astolfi A, Indio V, Moore R, Thiessen N, Heinrich MC, et al. SDHA loss-of-function mutations in KIT-PDGFRA wild-type gastrointestinal stromal tumors identified by massively parallel sequencing. *J Natl Cancer Inst* 2011;103:983-987.
 55. Miettinen M, Killian JK, Wang ZF, 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* 2013;37:234-240.
56. Pantaleo MA, Lolli C, Nannini M, Astolfi A, Indio V, Saponara M, et al. Good survival outcome of metastatic SDH-deficient gastrointestinal stromal tumors harboring SDHA mutations. *Genet Med* 2015;17:391-5.
 57. Nannini M, Astolfi A, Paterini P, Urbini M, Santini D, Catena F, et al. Expression of IGF-1 receptor in KIT/PDGF receptor- α wild-type gastrointestinal stromal tumors with succinate dehydrogenase complex dysfunction. *Future Oncol* 2013;9:121-126.
 58. Belinsky MG, Rink L, Flieder DB, Jahromi MS, Schiffman JD, Godwin AK, et al. Overexpression of insulin-like growth factor 1 receptor and frequent mutational inactivation of SDHA in wild-type SDHB-negative gastrointestinal stromal tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 2013;52:214-224.
 59. Killian JK, Kim SY, Miettinen M, Smith C, Merino M, Tsokos M, et al. Succinate dehydrogenase mutation underlies global epigenomic divergence in gastrointestinal stromal tumor. *Cancer Discov* 2013;6:648-57.
 60. Mason EF, Hornick JL. Succinate dehydrogenase deficiency is associated with decreased 5-hydroxymethylcytosine production in gastrointestinal stromal tumors: implications for mechanisms of tumorigenesis. *Mod Pathol* 2013;26:1492-7.
 61. Killian JK, Miettinen M, Walker RL, Wang Y, Zhu YJ, Waterfall JJ, et al. Recurrent epimutation of SDHC in gastrointestinal stromal tumors. *Sci Transl Med* 2014;6:268ra177.
 62. Urbini M, Astolfi A, Indio V, Heinrich MC, Corless CL, Nannini M, et al. SDHC methylation in gastrointestinal stromal tumors (GIST): a case report. *BMC Med Genet* 2015;28:16:87.
 63. Kelly L, Bryan K, Kim SY, Janeway KA, Killian JK, Schildhaus HU, et al. Post-transcriptional dysregulation by miRNAs is implicated in the pathogenesis of gastrointestinal stromal tumor [GIST]. *PLoS One* 2013;8(5):e64102.
 64. Pantaleo MA, Ravegnini G, Astolfi A, Simeon V, Nannini M, Saponara M, Urbini M, Gatto L, Indio V, Sammarini G, Santini D, Ferracin M, Negrini M, Hrelia P, Biasco G, Angelini S. Integrating miRNA and gene expression profiling analysis revealed regulatory networks in gastrointestinal stromal tumors. *Epigenomics*. 2016 Sep 14. [Epub ahead of print]

65. Agaimy A, Terracciano LM, Dirnhofer S, Tornillo L, Foerster A, Hartmann A, Bihl MP. V600E BRAF mutations are alternative early molecular events in a subset of KIT/PDGFR α wild-type gastrointestinal stromal tumours. *J Clin Pathol*. 2009 Jul;62(7):613-6.
66. Daniels M, Lurkin I, Pauli R, Erbstösser E, Hildebrandt U, Hellwig K, et al. Spectrum of KIT/PDGFR α /BRAF mutations and Phosphatidylinositol-3-Kinase pathway gene alterations in gastrointestinal stromal tumors (GIST). *Cancer Lett* 2011;312:43-54.
67. Rossi S, Gasparotto D, Miceli R, Toffolatti L, Gallina G, Scaramel E, Marzotto A, Boscato E, Messerini L, Bearzi I, Mazzoleni G, Capella C, Arrigoni G, Sonzogni A, Sidoni A, Mariani L, Amore P, Gronchi A, Casali PG, Maestro R, Dei Tos AP. KIT, PDGFR α , and BRAF mutational spectrum impacts on the natural history of imatinib-naive localized GIST: a population-based study. *Am J Surg Pathol*. 2015 Jul;39(7):922-30.
68. Jasek K, Buzalkova V, Minarik G, Stanclova A, Szepe P, Plank L, Lasabova Z. Detection of mutations in the BRAF gene in patients with KIT and PDGFR α wild-type gastrointestinal stromal tumors. *Virchows Arch* 2016 [Epub ahead of print].
69. Andersson J, Sihto H, Meis-Kindblom JM, Joensuu H, Nupponen N, Kindblom LG. NF1-associated gastrointestinal stromal tumors have unique clinical, phenotypic, and genotypic characteristics. *Am J Surg Pathol*. 2005 Sep;29(9):1170-6.
70. 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 Jan;30(1):90-6.
71. Bajor J. Gastrointestinal stromal tumors in patients with type 1 neurofibromatosis. *Clin Exp Med J* 2009;3:247-254.
72. Salvi PF, Lorenzon L, Caterino S, Antolino L, Antonelli MS, Balducci G. Gastrointestinal stromal tumors associated with neurofibromatosis 1: a single centre experience and systematic review of the literature including 252 cases. *Int J Surg Oncol*. 2013;2013:398570.
73. Gasparotto D, Rossi S, Polano M, Tamborini E, Lorenzetto E, Sbaraglia M, et al. Quadruple-negative GIST is a sentinel for unrecognized Neurofibromatosis Type 1 syndrome. *Clin Cancer Res* 2016 [Epub ahead of print].

74. Pantaleo MA, Nannini M, Corless CL, Heinrich MC. Quadruple wild-type (WT) GIST: defining the subset of GISTs that lack abnormalities of KIT, PDGFRA, SDH, and the RAS signalling pathway. *Cancer Med* 2015;4:101-3.
75. Nannini M, Astolfi A, Urbini M, Indio V, Santini D, Heinrich MC, et al. Integrated genomic study of quadruple-WT GIST (KIT/PDGFR/SDH/RAS pathway wild-type GIST). *BMC Cancer* 2014;14:685.
76. Brenca M, Rossi S, Polano M, Gasparotto D, Zanatta L, Racanelli D, et al. Transcriptome sequencing identifies ETV6-NTRK3 as a gene fusion involved in GIST. *J Pathol.* 2016;238(4):543-9
77. Shi E, Chmielecki J, Tang CM, Wang K, Heinrich MC, Kang G, Corless CL, Hong D, Fero KE, Murphy JD, Fanta PT, Ali SM, De Siena M, Burgoyne AM, Movva S, Madlensky Heestand GM, Trent JC, Kurzrock R, Morosini D, Ross JS, Harismendy O, Sicklick JK. FGFR1 and NTRK3 actionable alterations in "Wild-Type" gastrointestinal stromal tumors. *J Transl Med.* 2016 Dec 14;14(1):339.
78. Pantaleo MA, Urbini M, Indio V, et al. Genome-wide Analyses Identifies MEN1 and MAX Mutations and a Neuroendocrine-like Molecular Heterogeneity in Quadruple WT GIST. *Mol Cancer Res* 2016 [Epub ahead of print]
79. Belinsky MG, Rink L, Cai KQ, Capuzzi SJ, Hoang Y, Chien J, et al. Somatic loss of function mutations in neurofibromin 1 and MYC associated factor X genes identified by exome-wide sequencing in a wild-type GIST case. *BMC Cancer* 2015;15:887.
80. Boikos SA, Pappo AS, Killian JK, LaQuaglia MP, Weldon CB, George S, Trent JC, von Mehren M, Wright JA, Schiffman JD, Raygada M, Pacak K, Meltzer PS, Miettinen MM, Stratakis C, Janeway KA, Helman LJ. Molecular Subtypes of KIT/PDGFR Wild-Type Gastrointestinal Stromal Tumors: A Report From the National Institutes of Health Gastrointestinal Stromal Tumor Clinic. *JAMA Oncol.* 2016 Jul 1;2(7):922-8.
81. Dei Tos AP, Laurino L, Bearzi I, ET AL; Gruppo Italiano Patologi Apparato Digerente (GIPAD); Società Italiana di Anatomia Patologica e Citopatologia Diagnostica/International Academy of Pathology, Italian division (SIAPEC/IAP). Gastrointestinal stromal tumors: the histology report. *Dig Liver Dis* 2011;43 Suppl 4:S304-9.
82. Eriksson M, Reichardt P, Sundby Hall K, Schütte J, Cameron S, Hohenberger P, Bauer S, Leinonen M, Reichardt A, Rejmyr Davis M, Alvegård T, Joensuu H.

- Needle biopsy through the abdominal wall for the diagnosis of gastrointestinal stromal tumour - Does it increase the risk for tumour cell seeding and recurrence? *Eur J Cancer*. 2016 May;59:128-33.
83. Miettinen M, Wang ZF, Lasota J. DOG1 antibody in the differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a study of 1840 cases. *Am J Surg Pathol* 2009;33:1401-8.
 84. Zheng S, Chen LR, Wang HJ, Chen SZ. Analysis of mutation and expression of c-kit and PDGFR-alpha gene in gastrointestinal stromal tumor. *Hepatogastroenterology* 2007;54:2285-90.
 85. Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: A consensus approach. *Hum Pathol*.2002;33:459-65.
 86. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: pathology and prognosis at different sites. *Semin Diagn Pathol* 2006;23:70-83.
 87. Joensuu H, Vehtari A, Riihimäki J, et al. Risk of recurrence of gastrointestinal stromal tumour after surgery: an analysis of pooled population-based cohorts. *Lancet Oncol* 2012;13:265-74.
 88. 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* 2000;231:51-8.
 89. Di Battista M, Saponara M, Pantaleo MA, et al. Microscopic margins of resection in gastrointestinal stromal tumor (GIST): An analysis of 122 patients. *J Clin Oncol* 27:15s, 2009 (suppl; abstr 10554).
 90. Pierie JP, Choudry U, Muzikansky A, et al. The effect of surgery and grade on outcome of gastrointestinal stromal tumors. *Arch Surg* 2001;136:383-9
 91. McCarter MD, Antonescu CR, Ballman KV, et al. Microscopically positive margins for primary gastrointestinal stromal tumors: analysis of risk factors and tumor recurrence. *J Am Coll Surg* 2012;215:53-9.
 92. Yao KA, Talamonti MS, Langella RL, et al. Primary gastrointestinal sarcomas: analysis of prognostic factors and results of surgical management. *Surgery* 2000;128:604-12
 93. Matthews BD, Walsh RM, Kercher KW, et al. Laparoscopic vs open resection of gastric stromal tumors. *Surg Endosc* 2002;16:803-7.
 94. Nguyen SQ, Divino CM, Wang JL, et al. Laparoscopic management of gastrointestinal stromal tumors. *Surg Endosc* 2006;20:713-6.

95. Blanchard DK, Budde JM, Hatch GF, 3rd, et al. Tumors of the small intestine. *World J Surg* 2000;24:421-9.
96. Hatch KF, Blanchard DK, Hatch GF, et al. Tumors of the appendix and colon. *World J Surg* 2000;24:430-6.
97. Hatch KF, Blanchard DK, Hatch GF, et al. Tumors of the rectum and anal canal. *World J Surg* 2000;24:437-43.
98. Hatch GF, Wertheimer-Hatch L, Hatch KF, et al. Tumors of the esophagus. *World J Surg* 2000;24:401-11.
99. Gold JS, and Dematteo RP. Combined surgical and molecular therapy: the gastrointestinal stromal tumor model. *Ann Surg* 2006;244:176-84.
100. Pollock RE, Munsell MF, Atkinson EN, et al. Prognostic factors influencing survival in gastrointestinal leiomyosarcomas. Implications for surgical management and staging. *Ann Surg* 1992;215:68-77.
101. DeMatteo RP, Owzar K, Maki R, and the American College of Surgeons Oncology Group (ACOSOG) Intergroup Adjuvant GIST Study Team. Adjuvant imatinib mesylate increases recurrence free survival (RFS) in patients with completely resected localized primary gastrointestinal stromal tumor (GIST): North American Intergroup Phase III trial ACOSOG Z9001. *J Clin Oncol* 2007; 25:10079
102. Casali PG, Le Cesne A, Poveda A, et al: Time to definitive failure to the first tyrosine kinase inhibitor in localized gastrointestinal stromal tumors (GIST) treated with imatinib as an adjuvant: An EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group (STSBG) intergroup randomized trial in collaboration with the Australasian Gastro-Intestinal Trials Group (AGITG), UNICANCER, French Sarcoma Group (FSG), Italian Sarcoma Group (ISG), Spanish Group for Research on Sarcomas (GEIS). *J Clin Oncol* 33:4276-4283, 2015
103. Imatinib Mesylate or Observation Only in Treating Patients Who Have Undergone Surgery for Localized Gastrointestinal Stromal Tumor. Available at: <http://clinicaltrials.gov/show/NCT00103168>. Accessed on 15 August 2010
104. Joensuu H, Eriksson M, Sundby Hall K, et al. One vs three years of adjuvant imatinib for operable gastrointestinal stromal tumor: a randomized trial. *JAMA* 2012;307:1265-72.

105. Casali PG, Blay JY; The ESMO/European Sarcoma Network Working Group. Gastrointestinal stromal tumours: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2014;25:21-26.
106. Debiec-Rychter M, Sciot R, Le Cesne A et al. KIT mutations and dose selection for imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumors. *Eur J Cancer* 2006; 42: 1093–1103. 18.
107. Heinrich MC, Owzar K, Corless CL et al. Correlation of kinase genotype and clinical outcome in the North American Intergroup Phase III Trial of imatinib mesylate for treatment of advanced gastrointestinal stromal tumor: CALGB 150105 Study by Cancer and Leukemia Group B and Southwest Oncology Group. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5360–5367. 19.
108. Heinrich MC, Corless CL, Demetri GD et al. Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. *J Clin Oncol* 2003; 21: 4342–4349.
109. Eisenberg BL and Judson I. Surgery and imatinib in the management of GIST: emerging approaches to adjuvant and neoadjuvant therapy. *Ann Surg Oncol* 2004;11:465-75.
110. Edmonson JH, Marks RS, Buckner JC, et al. Contrast of response to dacarbazine, mitomycin, doxorubicin, and cisplatin (DMAP) plus GM-CSF between patients with advanced malignant gastrointestinal stromal tumors and patients with other advanced leiomyosarcomas. *Cancer Invest* 2002;20:605-12.
111. Manley PW, Cowan-Jacob SW, Buchdunger E, et al. imatinib: a selective tyrosine kinase inhibitor. *Eur J Cancer* 2002;38(Suppl 5):S19-27.
112. Heinrich MC, Griffith DJ, Druker BJ, Wait CL, Ott KA, Zigler AJ. Inhibition of c-kit receptor tyrosine kinase activity by STI 571, a selective tyrosine kinase inhibitor. *Blood* 2000;96:925-32.
113. Druker BJ, Sawyers CL, Kantarjian H, et al. Activity of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the philadelphia chromosome. *New Engl J Med* 2001; 344: 1038-1042.
114. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2001;344:1031-7.

115. Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M, et al. Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N Engl J Med* 2001;344:1052-6.
116. Van Oosterom AT, Judson I, Verweij J, et al. Safety and efficacy of imatinib (STI571) in metastatic gastrointestinal stromal tumours: a phase I study. *Lancet* 2001;358:1421-3.
117. Van Oosterom AT, Judson IR, Verweij J, et al. Update of phase I study of imatinib (STI571) in advanced soft tissue sarcomas and gastrointestinal stromal tumors: a report of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *Eur J Cancer* 2002;38 Suppl 5:S83-7.
118. Verweij J, Casali PG, Zalcberg J, et al. Progression-free survival in gastrointestinal stromal tumours with high-dose imatinib: randomised trial. *Lancet* 2004;364:1127-34.
119. Gastrointestinal Stromal Tumor Meta-Analysis Group (MetaGIST). 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;28:1247-53.
120. Le Cesne A, Ray-Coquard I, Bui BN, et al; French Sarcoma Group. Discontinuation of imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumours after 3 years of treatment: an open-label multicentre randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2010;11:942-9.
121. Mendel DB, Laird AD, Xin X, et al. In vivo antitumor activity of SU11248, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor receptors: determination of a pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship. *Clin Cancer Res* 2003; 9:327-37.
122. George S, Blay JY, Casali PG, et al. Clinical evaluation of continuous daily dosing of sunitinib malate in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after imatinib failure. *Eur J Cancer* 2009;45:1959-68.
123. Wilhelm SM, Dumas J, Adnane L, et al. Regorafenib (BAY 73-4506): a new oral multikinase inhibitor of angiogenic, stromal and oncogenic receptor tyrosine kinases with potent preclinical antitumor activity. *Int J Cancer* 2011;129:245-55.
124. George S, Wang Q, Heinrich MC, et al. Efficacy and Safety of Regorafenib in Patients With Metastatic and/or Unresectable GI Stromal Tumor After Failure of

- Imatinib and Sunitinib: A Multicenter Phase II Trial. *J Clin Oncol* 2012;30:2401-7.
125. Demetri GD, Reichardt P, Kang Y-K, et al. Randomized phase III trial of regorafenib in patients (pts) with metastatic and/or unresectable gastrointestinal stromal tumor (GIST) progressing despite prior treatment with at least imatinib (IM) and sunitinib (SU): GRID trial. *J Clin Oncol* 2012 (suppl; abstr LBA10008).
 126. Kang YK, Ryu MH, Yoo C, Ryoo BY, Kim HJ, Lee JJ, Nam BH, Ramaiya N, Jagannathan J, Demetri GD. Resumption of imatinib to control metastatic or unresectable gastrointestinal stromal tumours after failure of imatinib and sunitinib (RIGHT): a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2013 Nov;14(12):1175-82.
 127. Casali PG, Jost L, Reichardt P, Schlemmer M, Blay JY; ESMO Guidelines Working Group. Gastrointestinal stromal tumours: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2009 May;20 Suppl 4:64-7;
 128. Reichardt P, Kang YK, Rutkowski P, Schuette J, Rosen LS, Seddon B, Yalcin S, Gelderblom H, Williams CC Jr, Fumagalli E, Biasco G, Hurwitz HI, Kaiser PE, Fly K, Matczak E, Chen L, Lechuga MJ, Demetri GD. Clinical outcomes of patients with advanced gastrointestinal stromal tumors: safety and efficacy in a worldwide treatment-use trial of sunitinib. *Cancer*. 2015 May 1;121(9):1405-13.
 129. 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;245:347-52.
 130. Gronchi A, Fiore M, Miselli F et al. Surgery of residual disease following molecular-targeted therapy with imatinib mesylate in advanced/metastatic GIST. *Ann Surg* 2007;245: 341–346.
 131. Hohenberger P, Schneider U, Pink D et al. Resection of progressive or residual tumor after treatment with imatinib for advanced GI stromal tumors. *Ann Surg Oncol* 2004;11 (Suppl): 53.
 132. Reichardt P, Morosi C, Wardelmann E, Gronchi A. Gastrointestinal stromal tumors: evolving role of the multidisciplinary team approach in management. *Expert Rev Anticancer Ther* 2012 [in press].

133. Nannini M, Biasco G, Maleddu A, Pantaleo MA. New molecular targets beyond KIT and PDGFRA in gastrointestinal stromal tumors: present and future. *Expert Opin Ther Targets* 2011;15:803-15
134. Saponara M, Pantaleo MA, Nannini M, Biasco G. Treatments for gastrointestinal stromal tumors that are resistant to standard therapies. *Future Oncol* 2014; 10(13):2045-2059.
135. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01874665. 45 mg Daily Dose Phase 2 Trial of Ponatinib in Patients With Metastatic and/or Unresectable Gastrointestinal Stromal Tumor Following Failure of Prior Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy. <https://clinicaltrials.gov>
136. AIO-STS-0115: Phase 2 Trial of Ponatinib in Patients with Metastatic and/or Unresectable Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST) following Failure of Prior Therapy with Imatinib (POETIG trial – Ponatinib after rEsisTance to Imatinib in GIST). www.aio-portal.de
137. Trent K, Wathen M, von Mehren B et al. Sarcoma Alliance for Research through Collaboration: a Phase II study of dasatinib for patients with imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor (GIST). *J. Clin. Oncol.* 29(Suppl.) Abstract 10006 (2011).
138. Shoushtari AN, D'Angelo SP, Keohan ML. Combined KIT and CTLA-4 blockade in patients with refractory GIST and other advanced sarcomas. *J. Clin. Oncol.* 32(Suppl. 5), Abstract 10521 (2014).
139. Von Mehren M, Tetzlaff ED, Macaraeg M. Dose escalating study of crenolanib besylate in advanced GIST patients with PDGFRA D842V activating mutations. *J. Clin. Oncol.* 34(Suppl.), Abstract 11010 (2016).
140. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02508532. A Phase 1 Study of BLU-285 in Patients With Gastrointestinal Stromal Tumors (GIST) and Other Relapsed and Refractory Solid Tumors. <https://clinicaltrials.gov>
141. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01735968. A Dose-Finding Phase Ib Multicenter Study of Imatinib in Combination With the Oral Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K) Inhibitor BYL719 in Patients With Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST) Who Failed Prior Therapy With Imatinib and Sunitinib. <https://clinicaltrials.gov>
142. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01468688. A Multi-Arm Dose-Finding Phase Ib Multicenter Study of Imatinib in Combination With the Oral Phosphatidylinositol

- 3-Kinase (PI3-K) Inhibitor BKM120 in patients with gastrointestinal stromal tumor (GIST) who failed prior therapy with imatinib and sunitinib. <https://clinicaltrials.gov>
143. Blay J, Labouret NH, Cropet C et al. Biomarker-driven access to vemurafenib in BRAF-positive cancers: Second study of the French National AcSé Program. *J. Clin. Oncol.* 34(Suppl.), Abstract TPS11620 (2016).
 144. Chi P. A Phase Ib/II study of MEK162 (binimetinib) in combination with imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumor (GIST). *J. Clin. Oncol.* 33(Suppl.), Abstract 10507 (2015).
 145. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02342600 SARC029. Phase II Pilot study of trametinib in combination with pazopanib in patients with metastatic or local-regionally recurrent GIST (gastrointestinal stromal tumors) refractory or intolerant to at least imatinib and sunitinib. <https://clinicaltrials.gov>
 146. Nokhara H, Yamamoto N, Nakamichi S et al. A Phase 1 study of cabozantinib in japanese patients with advanced solid tumors: anti-tumor activity in NSCLC and GIST. *Ann. Oncol.* 24(Suppl. 9), ix48 (2013).
 147. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02216578. Phase II study of cabozantinib in patients with gastrointestinal stromal tumors (GIST) who progressed during neoadjuvant, adjuvant or palliative therapy with imatinib and sunitinib. <https://clinicaltrials.gov>
 148. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02257541. A Phase Ib/II study of BGJ398 in combination with imatinib mesylate in patients with untreated advanced gastrointestinal stromal tumors (GIST). <https://clinicaltrials.gov>
 149. Mehren M, George S, Heinrich MC et al. Results of SARC 022, a Phase II multicenter study of linsitinib in pediatric and adult wild-type (WT) gastrointestinal stromal tumors (GIST). *J. Clin. Oncol.* 32(Suppl.), Abstract 10507 (2014).
 150. Shapiro GI, Kwak E, Dezube BJ et al. First-in-human Phase I dose escalation study of a second generation non-ansamycin HSP90 inhibitor, AT13387, in patients with advanced solid tumors. *Clin. Cancer Res.* 21(1), 87–97 (2015).
 151. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01294202. An open-label, randomised, multi-centre, Phase II study to investigate the safety and efficacy of AT13387, either as monotherapy or in combination with imatinib, in patients with unresectable and/or

- metastatic malignant GIST whose tumour has progressed following treatment with a maximum of three tyrosine kinase inhibitors. <https://clinicaltrials.gov>
152. Reilley M, Bailey AM, Subbiah V et al. Phase I clinical trial of combination imatinib and ipilimumab in patients with advanced malignancies. *J. Clin. Oncol.* 34(Suppl.), Abstract 3054 (2016).
 153. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01907607. Efficacy and safety of PD-0332991 in patients with advanced gastrointestinal stromal tumors refractory to imatinib and sunitinib: a Phase 2 study. <https://clinicaltrials.gov>
 154. Szucs Z, Thway K, Fisher C, Bulusu R, Constantinidou A, Benson C, van der Graaf WT, Jones RL. Promising novel therapeutic approaches in the management of gastrointestinal stromal tumors. *Future Oncol.* 2017 Jan;13(2):185-19
 155. 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: 5357-5364.
 156. Debiec-Rychter M, Dumez H, Judson I, et al. Use of c-KIT/PDGFR mutations 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;40:689-695.
 157. Heinrich MC, Corless CL, Blanke CD, et al. Molecular correlates of imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2006;24:4764-4774.
 158. Fletcher JA, Corless CL, Dimitrijevic S, et al. Mechanisms of resistance to imatinib mesylate (IM) in advanced gastrointestinal stromal tumor (GIST). *Proc ASCO* 2003;22: abs. 3275.
 159. Chen LL, Trent JC, Wu EF, et al. A missense mutation in KIT kinase domain 1 correlates with imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 2004;64: 5913-5919.
 160. Tamborini E, Gabanti E, Lagonigro MS, et al. KIT/Val654Ala receptor detected in one imatinib-resistant GIST patient. *Cancer Res* 2005;65: 1115.
 161. Utsunomyia T, Okamoto M, Yano S, et al: Secondary c-kit mutation in a recurrent gastrointestinal stromal tumor under long-term treatment with imatinib mesylate: report of a case. *Surg Today* 2008;38: 65-67.
 162. Bertucci F, Goncalves A, Monges G, et al. Acquired resistance to imatinib and secondary KIT exon 13 mutation in gastrointestinal stromal tumour. *Oncol Rep* 2006;16: 97-101.

163. Tamborini E, Bonadiman L, Greco A, et al: A new mutation in the KIT ATP pocket causes acquired resistance to imatinib in a gastrointestinal stromal tumor patient. *Gastroenterology* 2004;127:294-299.
164. Wakai T, Kanda T, Hirota S, et al. Late resistance to imatinib therapy in a metastatic gastrointestinal stromal tumour is associated with a second KIT mutation. *Br J Cancer* 2004;90: 2059-2061.
165. Debiec-Rychter M, Cools J, Dumez H, et al: Mechanisms of resistance to imatinib mesylate in gastrointestinal stromal tumors and activity of the PKC412 inhibitor against imatinib-resistant mutants. *Gastroenterology* 2005;128: 270-279.
166. Wardermann E, Merkelbach-Bruse S, Pauls K, et al. Polyclonal evolution of multiple secondary KIT mutations in gastrointestinal stromal tumors under treatment with imatinib mesylate. *Clin Cancer Res* 2006;12: 1743-1749.
167. Nishida T, Kanda T, Nishitani A, et al. Secondary mutations in the kinase domain of the KIT gene are predominant in imatinib resistant gastrointestinal stromal tumor. *Cancer Sci* 2008; 99:799-804.
168. Lim KH, Huang M-J, Chen L-T, et al. Molecular analysis of secondary kinase mutations in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors. *Med Oncol* 2008;25:207-213.
169. Liegl B, Kepten I, Le C, et al. Heterogeneity of kinase inhibitor resistance mechanisms in GIST. *J Pathol* 2008;216:64-74.
170. Schindler T, Bornmann W, Pellicena P, et al. Structural mechanism for STI-571 inhibition of abelson tyrosine kinase. *Science* 2000;289: 1938-1942.
171. Mol CD, Dougan DR, Schneider TR, et al. Structural basis for the autoinhibition and STI-571 inhibition of c-kit tyrosine kinase. *J Biol Chem* 2004;279: 31655-31663.
172. Roberts KG, Odell AF, Byrnes EM, et al. Resistance to c-KIT kinase inhibitors conferred by V654A mutation. *Mol Cancer Ther* 2007;6: 1159-1166.
173. Bohmer FD, Karagyozov L, Uecker A, et al. A single aminoacid exchange inverts susceptibility of related receptor tyrosine kinases for the ATP site inhibitor STI-571. *J Biol Chem* 2003;278: 5148-5155.
174. Antonescu CR, Besmer P, Guo T, et al. Acquired resistance to imatinib in gastrointestinal stromal tumors occurs through secondary gene mutation. *Clin Cancer Res* 2005;11: 4182-4190.

175. Liegl B, Hornick JL, Antonescu CR, Corless CL, Fletcher CD. Rhabdomyosarcomatous differentiation in gastrointestinal stromal tumors after tyrosine kinase inhibitor therapy: a novel form of tumor progression. *Am J Surg Pathol* 2009;33:218-26.
176. Mahadevan D, Cooke L, Riley C, et al. A novel tyrosine kinase switch is a mechanism of imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors. *Oncogene* 2007;26: 3909-3919.
177. von Mehren M, Widmer N. Correlations between imatinib pharmacokinetics, pharmacodynamics, adherence, and clinical response in advanced metastatic gastrointestinal stromal tumor (GIST): an emerging role for drug blood level testing? *Cancer Treat Rev* 2011;37:291-9.
178. Bui BN, Italiano A, Miranova A, et al. Trough imatinib plasma levels in patients treated for advanced gastrointestinal stromal tumors evidence of large interpatient variations under treatment with standard doses. *Proc ASCO* 26: abs. 10564, 2008.
179. Angelini S, Pantaleo MA, Ravegnini G, et al. Polymorphisms in OCTN1 and OCTN2 transporters genes are associated with prolonged time to progression in unresectable gastrointestinal stromal tumours treated with imatinib therapy. *Pharmacol Res* 2013 Feb;68(1):1-6;
180. Ravegnini G, Nannini M, Simeon V, et al. Polymorphisms in DNA repair genes in gastrointestinal stromal tumours: susceptibility and correlation with tumour characteristics and clinical outcome. *Tumour Biol.* 2016 Oct;37(10):13413-13423;
181. Ravegnini G, Nannini M, Zenesini C, et al. An exploratory association of polymorphisms in angiogenesis-related genes with susceptibility, clinical response and toxicity in gastrointestinal stromal tumors receiving sunitinib after imatinib failure. *Angiogenesis.* 2017 Feb;20(1):139-148.
182. Maleddu A, Pantaleo MA, Nannini M, Biasco G. The role of mutational analysis of KIT and PDGFRA in gastrointestinal stromal tumors in a clinical setting. *J Transl Med* 2011;9:75.
183. Lasota J, Wozniak A, Sarlomo-Rikala M, et al. Mutations in exons 9 and 13 of KIT gene are rare events in gastrointestinal stromal tumors. A study of 200 cases. *Am J Pathol* 2000; 157:1091-1095.
184. Sakurai S, Oguni S, Hironaka M, Fukayama M, Morinaga S, Saito K. Mutations in c-kit gene exons 9 and 13 in gastrointestinal stromal tumors among Japanese. *Jpn J Cancer Res* 2001;92:494-498.

185. Kim TW, Lee H, Kang YK, et al. Prognostic significance of c-kit mutation in localized gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 2004;10:3076-3081.
186. Waldermann E, Losen I, Hans V, et al. Deletion of Trp-557 and Lys-558 in the juxtamembrane domain of the c-kit protooncogene is associated with metastatic behavior of gastrointestinal stromal tumors. *Int J Cancer* 2003;106:887-895.
187. Dematteo RP, Gold JS, Saran L, et al. Tumor mitotic rate, size, and location independently predict recurrence after resection of primary gastrointestinal stromal tumor (GIST). *Cancer* 2008;112:608-615.
188. Martín J, Poveda A, Llombart-Bosch A, , et al. Deletions affecting codons 557–558 of the c-KIT gene indicate a poor prognosis in patients with completely resected gastrointestinal stromal tumors: a study by the Spanish Group for Sarcoma Research (GEIS). *J Clin Oncol* 2005;23:6190-8.
189. Martin-Broto J, Gutierrez A, Garcia-del-Muro X, et al. Prognostic time dependence of deletions affecting codons 557 and/or 558 of KIT gene for relapse-free survival (RFS) in localized GIST: a Spanish Group for Sarcoma Research (GEIS) Study. *Annals of Oncol* 2010;21:1552-1557.
190. Gramza AW, Corless CL, Heinrich MC. Resistance to Tyrosine Kinase Inhibitors in Gastrointestinal Stromal Tumors. *Clin Cancer Res* 2009;15:7510-7518.
191. Corless CL, Ballman KV, Antonescu C, et al. Relation of tumor pathologic and molecular features to outcome after surgical resection of localized primary gastrointestinal stromal tumor (GIST): Results of the intergroup phase III trial ACOSOG Z9001. Proceedings of The American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting: June 4-8 2010; Chicago, IL. *J Clin Oncol* 2010, 28:15s, [abstract 1006].
192. Heinrich MC, Maki RG, Corless CL, et al. Primary and Secondary Kinase Genotypes Correlate With the Biological and Clinical Activity of Sunitinib in Imatinib-Resistant Gastrointestinal Stromal Tumor. *J Clin Oncol* 2008;26:5352-5359.
193. Chun-Nan Yeh; Chang Gung Memorial Hospital, Taoyuan, Taiwan. Efficacy and safety of regorafenib in patients with metastatic and/or unresectable gastrointestinal stromal tumor harboring secondary mutation with exon 17: Interim report of a phase II trial. *J Clin Oncol* 34, 2016 (suppl; abstr e22511);
194. Ben-Ami E, Barysaukas CM, von Mehren M, et al. Long-term follow-up results of the multicenter phase II trial of regorafenib in patients with metastatic and/or

- unresectable GI stromal tumor after failure of standard tyrosine kinase inhibitor therapy. *Ann Oncol.* 2016 Sep;27(9):1794-9.
195. O'Brien, K.M.; Orlow, I.; Antonescu, C.R.; Ballman, K.; McCall, L.; DeMatteo, R.; Engel, L.S. Gastrointestinal stromal tumors, somatic mutations and candidate genetic risk variants. *PLoS ONE* 2013, 8, e62119.
 196. Angelini, S.; Pantaleo, M.A.; Ravegnini, G.; Zenesini, C.; Cavrini, G.; Nannini, M.; Fumagalli, E.; Palassini, E.; Saponara, M.; di Battista, M.; et al. Polymorphisms in OCTN1 and OCTN2 transporters genes are associated with prolonged time to progression in unresectable gastrointestinal stromal tumours treated with imatinib therapy. *Pharmacol. Res.* 2013, 68, 1–6. 19.
 197. Koo, D.H.; Ryu, M.H.; Ryoo, B.Y.; Beck, M.Y.; Na, Y.S.; Shin, J.G.; Lee, S.S.; Kim, E.Y.; Kang, Y.K. Association of ABCG2 polymorphism with clinical efficacy of imatinib in patients with gastrointestinal stromal tumor. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2015, 75, 173–182.
 198. Angelini, S.; Ravegnini, G.; Nannini, M.; Bermejo, J.L.; Musti, M.; Pantaleo, M.A.; Fumagalli, E.; Venturoli, N.; Palassini, E.; Consolini, N.; et al. Folate-related polymorphisms in gastrointestinal stromal tumours: Susceptibility and correlation with tumour characteristics and clinical outcome. *Eur. J. Hum. Genet.* 2015, 23, 817–823.
 199. Rutkowski, P.; Bylina, E.; Klimczak, A.; Switaj, T.; Falkowski, S.; Kroc, J.; Lugowska, I.; Brzeskwiniwicz, M.; Melerowicz, W.; Osuch, C.; et al. The outcome and predictive factors of sunitinib therapy in advanced gastrointestinal stromal tumors (GIST) after imatinib failure-one institution study. *BMC Cancer* 2012, 12, 107.
 200. Ravegnini G, Nannini M, Zenesini C, Simeon V, Sammarini G, Urbini M, Gatto L, Saponara M, Biasco G, Pantaleo MA, Venturoli N, Hrelia P, Angelini S. An exploratory association of polymorphisms in angiogenesis-related genes with susceptibility, clinical response and toxicity in gastrointestinal stromal tumors receiving sunitinib after imatinib failure. *Angiogenesis.* 2017 Feb;20(1):139-148.
 201. Ravegnini G, Nannini M, Sammarini G, Astolfi A, Biasco G, Pantaleo MA, Hrelia P, Angelini S. Personalized Medicine in Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST): Clinical Implications of the Somatic and Germline DNA Analysis. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16:15592—15608.

202. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:205-16.
203. Gehan EA, Tefft MC. Will there be resistance to the RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors)? *J Natl Cancer Inst* 2000;92:179-81.
204. Choi H. Critical issues in response evaluation on computed tomography: lessons from the gastrointestinal stromal tumor model. *Curr Oncol Rep* 2005;7:307-11.
205. Choi H, Charnsangavej C, de Castro Faria S, et al. CT evaluation of the response of gastrointestinal stromal tumors after imatinib mesylate treatment: a quantitative analysis correlated with FDG PET findings. *AJR Am J Roentgenol* 2004;183:1619-28.
206. Antoch G, Kanja J, Bauer S, et al. Comparison of PET, CT, and dual-modality PET/CT imaging for monitoring of imatinib (STI571) therapy in patients with gastrointestinal stromal tumors. *J Nucl Med* 2004; 45:357-65.
207. Choi H, Charnsangavej C, Faria SC, et al. Correlation of computed tomography and positron emission tomography in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor treated at a single institution with imatinib mesylate: proposal of new computed tomography response criteria. *J Clin Oncol* 2007;25: 1753-9.
208. Stroobants S, Goeminne J, Seegers M, et al. 18FDG-Positron emission tomography for the early prediction of response in advanced soft tissue sarcoma treated with imatinib mesylate (Glivec). *Eur J Cancer* 2003;39:2012-20.
209. Nannini M, Biasco G, Pallotti MC, et al. Late recurrences of gastrointestinal stromal tumours (GISTs) after 5 years of follow-up. *Med Oncol* 2012;29:144-50.
210. FDA 2013
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/2030851bl.pdf
211. http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20170127136893/anx_136893_it.pdf.
212. Crona D J, Keisler M D, Walko C M, BCOP. Regorafenib: A Novel Multitarget Tyrosine Kinase Inhibitor for Colorectal Cancer and Gastrointestinal Stromal Tumors. *Annals of Pharmacotherapy* 47(12):1685-1696.
213. Mross K, Frost A, Steinbild S, Hedbom S, Buchert M, Fasol U, et al. (2012) A phase I dose escalation study of regorafenib (BAY 73-4506), an inhibitor of

- oncogenic, angiogenic and stromal kinases, in patient with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* 18:2658-2667.
214. Strumberg D, Scheulen ME, Schultheis B, et al. Regorafenib (BAY 73-4506) in advanced colorectal cancer: a phase I study. *Br J Cancer*. 2012;106:1722-1727. doi:10.1038/bjc.2012.153.
 215. Stivarga (regorafenib) [product information]. Wayne, NJ: Bayer HealthCare Pharmaceuticals, Inc; 2013. http://labeling.bayerhealthcare.com/html/products/pi/Stivarga_PI.pdf. Accessed March 1, 2013.
 216. Ferraro D, Zalberg j, Regorafenib in gastrointestinal stromal tumors: clinical evidence and place in therapy. *Therapeutic advances in Medical Oncology* 2014;6:222-228.
 217. Tabchi S, Ghosn M. Regorafenib: start low and go slow. *Target Oncol*. 2015 Sep;10(3):445-7.

Ringraziamenti

Grazie

Al Prof.re Biasco, che mi ha insegnato che un Medico non deve solo essere capace di curare ma anche e soprattutto di prendersi cura

Alla Prof.ssa Pantaleo, che mi ha insegnato che a volte andare oltre le linee guida vuol dire rischiare ma essere un vero Medico

Alla Dott.ssa Nannini, che mi ha insegnato che fare le cose con passione vuol dire vincere, indipendentemente da tutto

Alla Dott.ssa Fumagalli, la Dott.ssa Saponara e la Dott.ssa Gatto, che mi hanno insegnato che la collaborazione in Medicina è l'ingrediente vincente

Grazie

Al mio Papà, la mia Mamma e a mia Sorella

Alla mia grande Famiglia, ai miei Zii e i miei Cugini

Al mio Ragazzo e ai suoi Genitori

E a TUTTI i miei Amici, quelli più datati, quelli più recenti e quelli di sempre

Grazie davvero di cuore.