

Predicción de respuesta al tratamiento con Imatinib en Tumores del Estroma Gastrointestinal (GIST) a través de la detección de mutaciones en los genes c-Kit y PDGFRA por PCR en Tiempo Real

 8 min.



A continuación la Bioquímica Raquel Cino de BioSystem S.A. nos presenta un trabajo sobre las predicciones de respuestas de los tumores del Estroma Gastrointestinal (GIST) al tratamiento con Imatinib. Para ello BioSystem comercializa el Kit GIST-RT44, éste es un ensayo multiplex para la detección de mutaciones somáticas en los genes c-Kit y PDGFRA por PCR en Tiempo Real que se basa en la amplificación de secuencias mutadas específicas en muestras de biopsias tumorales, secciones de tejido incluídos en parafina ó tejido fresco.



Bioq. Raquel Cino
Biosystems



E-mail: cinoraq@biosystems.com.ar
Web: www.biosystems.com.ar



Los tumores del estroma gastrointestinal (GIST) son tumores raros, confundidos habitualmente con sarcomas que se originan en el tracto gastrointestinal, retroperitoneo, mesenterio y omento.

El tubo digestivo tiene un sistema nervioso propio formado por un tipo muy

peculiar de células, las células intersticiales de Cajal, que se conectan unas con otras componiendo una red que rodea al tubo en toda su longitud y son las responsables de generar las ondas peristálticas que propulsan los alimentos y residuos sólidos a través del tubo digestivo en un único sentido.

Estas células pueden transformarse en cancerosas dando lugar al GIST.

El GIST suele aparecer a partir de los 50 años, siendo la distribución por géneros semejante, aunque con una incidencia algo superior en sexo masculino.

El lugar más frecuente de aparición es el estómago (50-70%) seguido del intestino delgado (20-30%), colorectal (10-20%), esófago (5%) y raramente en mesenterio y omento.

Por lo general son asintomáticos. Cuando hay síntomas, estos dependen del sitio y tamaño del tumor e incluyen: dolor abdominal, disfagia, sangrado gastrointestinal, obstrucción intestinal.

Todos los GIST son potencialmente malignos. Existen características que en general hablan de benignidad: Tamaño menor de 5-2 cm, bajo número de mitosis por campo de alto aumento, sin invasión mucosa, baja celularidad, bajos marcadores de proliferación celular (índice mitótico, Ki-67) y el sitio de aparición: los GISTs malignos son más comunes en intestino.

50% de los tumores localizados

resecados recaen dentro de los 5 años de seguimiento.

En cuanto a factores pronósticos, no hay guías uniformes, el peor pronóstico se asocia con incremento del tamaño tumoral, enfermedad metastásica al diagnóstico, alto índice mitótico.

Histológicamente se distinguen 3 subtipos: sarcomatoide (70%), epiteloide (20%) y mixto (10%).

En cuanto al inmunofenotipo, 95% de los GIST son positivos para KIT (CD117). Otros marcadores a menudo positivos son: CD34 (60-70%), Actina de músculo liso (SMA) (15-60%), S-100 (10%). No expresan desmina a diferencia de otros leiomiomas.

El receptor Kit es una glicoproteína de membrana de 145 kDa codificada por el gen c-Kit.

Es un receptor de tirosin kinasa tipo III formado por un dominio extracelular con 5 dominios tipo inmunoglobulina, una porción transmembrana y una porción intracelular que tiene dos dominios tirosin kinasa y múltiples sitios de autofosforilación.

El Stem Cell Factor (SCF) es el ligando que se une al dominio extracelular del receptor, induciendo la dimerización de Kit y la estimulación de la actividad tirosin kinasa intracelular, lo cual resulta en la fosforilación de varios sustratos que inician una cascada de señalización que culminan en la proliferación celular (MYC, JAK/STAT, RAS) y

monteBIO

TEST RÁPIDOS



- Strep A
- Clamidia
- Rotavirus
- Adenovirus
- Combo Rota / Adeno



- Alcohol por Aire Exhalado
- Drogas en Saliva
- Drogas en Orina



- Troponina I
- Combo Cardíaco



- Sangre Oculta en materia fecal



- Embarazo

monteBIO

+



Distribuidor exclusivo MERCK MILLIPORE en el área de Salud



PARATEST®

1° SISTEMA PARASITOLÓGICO INTEGRADO

RECOLECCIÓN DE MICRO MUESTRA (2 gr.)



CONSERVACIÓN FILTRACIÓN CONCENTRACIÓN (15 min.)



LECTURA

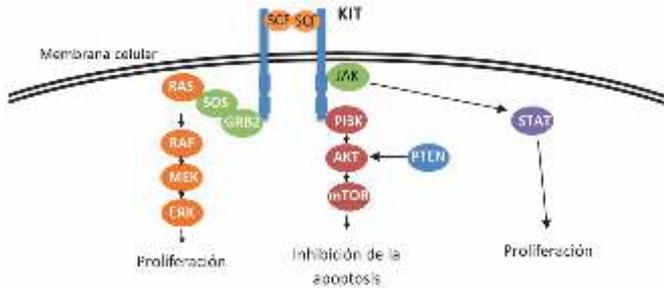


Oficinas y Depósito: Vera 575 (Capital Federal)

TEL/FAX: (011) 4858-0636 (Rotativas)

E-mail: info@montebio.com.ar | www.montebio.com.ar

la inhibición de la apoptosis (PI3K-AKT).



Aproximadamente un 80% de los GIST portan mutaciones activantes en c-Kit y 5-7% en PDGFRA (Platelet-Derived Growth Factor Receptor).

35% de los GIST con KIT Wild Type tienen mutaciones en PDGFRA.

Estado mutacional y pronóstico:

Las mutaciones de KIT y PDGFRA son comunes en GIST y son los mejores predictores de respuesta clínica a Imatinib. Existen 3 grupos pronósticos identificados:

Kit exón 11: Codifica el dominio intracelular yuxtamembrana: Respuesta favorable.

Kit exón 9: Codifica la porción extracelular del dominio transmembrana. Respuesta intermedia.

Kit exón 13: Codifica la primera porción del lugar de corte del dominio quina. No responden.

Kit exón 17: Codifica el sitio con actividad quina. No responden.

Los Kit sin mutaciones de quina (wild type) presentan peor respuesta.

PDGFRA: las mutaciones en este receptor responden al Imatinib, salvo la mutación D842V que presenta resistencia al tratamiento.

Además de la predicción de probabilidad de respuesta a Imatinib, la genotipificación de mutaciones de c-Kit y PDGFRA puede ser útil para:

- Confirmar diagnóstico (5% de los GIST son KIT negativos)
- Predecir supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.
- Permite el desarrollo de nuevos acercamientos terapéuticos para aquellos con alto riesgo de fracaso a Imatinib.

A tal fin Entrogen comercializa en Argentina a través de BioSystems S.A. el kit GIST-RT44 que detecta las mutaciones especificadas en la siguiente tabla



Gene	Mutation	COSMIC ID	Primer Mix Tube
PDGFRA	EX18_p.D842V	COSM736	1
c-Kit	EX11_p.V559D	COSM1252	
	EX11_p.V559G	COSM1253	
	EX11_p.V560D	COSM1257	
	EX11_W557R	COSM1219	
	EX17_p.D816H	COSM1311	
	EX17_p.D816V	COSM1314	
	EX11_p.L576P	COSM1290	
	EX13_p.K642E	COSM1304	
	EX9_p.Y503_F504insAY	COSM1326	
EX11_p.W557_E561del	COSM1332	3	
EX11_p.W557_K558del	COSM1217		
EX11_p.W557_V559>C	COSM1233		
EX11_p.W557_V559>F	COSM1226		
EX17_p.D820Y	COSM12710		
EX17_p.K818R	COSM1315		
EX17_p.N822H	COSM1318		
EX11_p.V559A	COSM1255	4	
EX11_p.W557G	COSM1221		
EX17_p.D820G	COSM1316		
EX17_p.N822K	COSM1322		
EX17_p.Y823D	COSM18681		

El kit para detección de mutaciones de GIST es un ensayo multiplex para la detección de mutaciones somáticas en los genes c-Kit y PDGFRA por PCR en Tiempo Real y se basa en la amplificación de secuencias mutadas específicas en muestras de biopsias tumorales, secciones de tejido incluidos en parafina ó tejido fresco que contienen una mezcla de DNA mutado y DNA wild type.

Cada tubo de reacción contiene sets de sondas y primers para la detección de varias mutaciones como así también del gen control endógeno (Beta-2-microglobulina)

La detección del producto de amplificación se basa en el uso de sondas fluorescentes.

El GIST Mutation Screening Panel requiere un equipo de PCR en Tiempo Real que pueda detectar las sondas marcadas con los fluoróforos FAM, VIC, ROX y Cy5.

