

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ILLUSTRATIONS	7
INDEX DES ABBREVIATIONS.....	11
INTRODUCTION.....	13
I. Historique et pathogénie des GIST chez l'homme et l'animal	15
A. Emergence du concept des GIST chez l'homme et l'animal et identification de la protéine KIT	15
1. Apports de la microscopie électronique et de l'immunohistochimie dans la classification des GIST	15
2. Apport de la biologie moléculaire dans la classification des GIST	18
3. Synthèse : définition actuelle des GIST	18
4. Epidémiologie actuelle des GIST chez l'homme et l'animal.....	19
a) Nombre de publications sur les GIST	19
b) Epidémiologie des GIST chez l'homme	20
c) Epidémiologie des GIST chez l'animal	22
5. Origine cellulaire des GIST	23
a) Origine des GIST : les cellules interstitielles de Cajal (ICC)	23
(1) Ressemblance GIST/ICC en microscopie électronique	23
(2) Ressemblance GIST/ICC en immunohistochimie.....	25
(3) Conclusion.....	27
b) Origine des GIST : une cellule précurseur des ICC.....	28
B. Pathogénie des GIST : rôle central de la protéine KIT	28
1. Le récepteur KIT : structure et fonctionnement normal.....	28
2. Mutations dans les gènes <i>Kit</i> et <i>Pdgfra</i> et induction de la cancérogenèse des GIST... ..	31
3. Autres anomalies génétiques intervenant dans la pathogénie des GIST	35
4. Conséquences des anomalies génétiques : activation constitutive du récepteur KIT et développement des GIST	35

II. Diagnostic des GIST chez l'homme et l'animal	41
A. Caractéristiques cliniques des GIST.....	41
1. Critères épidémiologiques.....	41
a) Chez l'homme	41
b) Chez l'animal	42
2. Symptômes	42
3. Localisation anatomique des GIST	43
a) Localisation des GIST primitives	43
(1) Chez l'homme	43
(2) Chez l'animal	43
b) Localisation des métastases de GIST	44
4. Imagerie des GIST	44
a) Radiographie conventionnelle.....	44
(1) Sans préparation	44
(2) Avec préparation	45
b) Endoscopie digestive.....	46
c) Echographie abdominale.....	46
d) Echo-endoscopie	47
e) Tomodensitométrie ou scanner	48
f) Imagerie à résonance magnétique (IRM).....	50
g) Tomographie à émission de positons ou Pet-scan	51
B. Caractéristiques macroscopiques et histologiques des GIST	52
1. Caractéristiques macroscopiques	52
2. Caractéristiques histologiques.....	54
a) Type fusiforme	55
b) Type épithélioïde.....	57
c) Cas particuliers.....	58
d) Variations histologiques en fonction de la localisation anatomique.....	59
C. Caractéristiques immunohistochimiques des GIST	60
1. La protéine KIT (CD117).....	60

a)	Immunodétection de KIT : aspects techniques	60
b)	Immunodétection de KIT : interprétation	62
c)	Le cas particulier des GIST KIT négatives	64
d)	Spécificité de l'immunomarquage	64
2.	La protéine CD34	65
3.	PDGFRA	66
4.	Les nouveaux marqueurs potentiels des GIST : les protéines DOG1 et PKC Θ	67
5.	Autres marqueurs immunohistochimiques des GIST.....	67
a)	Actine musculaire lisse (SMA)	67
b)	Desmine	68
c)	Protéine S100 (pS100)	68
d)	Calponine et h-caldesmone	68
e)	Autres marqueurs	69
D.	Caractéristiques moléculaires des GIST	69
1.	Indications de la recherche d'altérations des gènes <i>Kit</i> et <i>Pdgfra</i>	70
2.	Techniques de détection des altérations des gènes <i>Kit</i> et <i>Pdgfra</i>	70
3.	Recherche d'autres altérations génétiques dans les GIST	70
E.	Diagnostic différentiel des GIST	71
1.	Tumeurs conjonctives bénignes	72
a)	Léiomyomes.....	72
b)	Schwannomes.....	74
c)	Polype fibroïde inflammatoire	74
2.	Tumeurs malignes non conjonctives	74
3.	Sarcomes	75
a)	Léiomiosarcomes	75
b)	Liposarcome indifférencié	76
F.	Evolution des GIST et facteurs pronostiques	77
1.	Facteurs anatomo-pathologiques.....	77
a)	Localisation anatomique	78
b)	Taille de la tumeur et activité mitotique	78
c)	Index de prolifération cellulaire.....	80

2. Facteurs génétiques	81
a) Présence de mutations sur le gène <i>Kit</i>	81
b) Anomalies chromosomiques	82
 III. Actualités thérapeutiques et perspectives de traitement dans les GIST humaines et animales	83
 A. Traitement chirurgical.....	83
1. Chirurgie des GIST non métastasées	83
a) Tumeurs localisées.....	83
b) Tumeurs localement avancées	84
c) Résultats de la chirurgie.....	84
2. Chirurgie des GIST métastasées	86
a) Exérèse de la tumeur primitive	86
b) Exérèse de récidives isolées	86
c) Exérèse de métastases hépatiques	87
 B. Traitements adjuvants pour les GIST avancées ou métastasées.....	87
1. Chimiothérapie systémique	87
2. Chimio-embolisation intra-artérielle hépatique	88
3. Chimiothérapie intrapéritonéale.....	89
4. Radiothérapie adjuvante	89
 C. Les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) : une révolution dans le traitement des GIST	90
1. Imatinib (Glivec®)	91
a) Bases moléculaires et pharmacologie	91
b) Tolérance et gestion des effets secondaires observés	93
c) Efficacité de l'imatinib dans les GIST métastasées	94
(1) Mise en évidence des effets de l'imatinib <i>in vitro</i>	94
(2) Mise en évidence de l'efficacité de l'imatinib dans les GIST <i>in vivo</i>	96
d) Evaluation de la réponse tumorale	97
(1) Par le scanner et l'IRM.....	98

(2) Par le Pet-scan	99
(3) Par l'examen histologique	100
e) Présence de mutations dans les GIST : facteur prédictif d'efficacité	101
f) Place de la chirurgie dans le traitement au Glivec	104
g) Résistance au traitement.....	104
2. Autres ITK dans le traitement des GIST humaines.....	105
3. Utilisation des ITK dans les GIST animales	106
 CONCLUSION	111
BIBLIOGRAPHIE	113

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures

Figure 1 : Nombre de publications sur les GIST de 1990 à 2007	20
Figure 2 : Photographie d'une GIST humaine en microscopie électronique à transmission.....	24
Figure 3 : Principales caractéristiques cytoplasmiques ultrastructurales des cellules tumorales dans les GIST humaines.	25
Figure 4 : Co-expression de KIT et CD34 dans les ICC, localisées autour du plexus myentérique dans l'intestin grêle normal chez l'homme.....	26
Figure 5 : Co-expression de KIT et CD34 dans les GIST humaines.	27
Figure 6 : Structure du récepteur KIT canin.	29
Figure 7 : Fonctionnement normal du récepteur KIT.	30
Figure 8 : Mise en évidence de mutations sur l'exon 11 du gène <i>Kit</i> dans les GIST canines.	32
Figure 9 : Séquences schématisées des gènes <i>Kit</i> et <i>Pdgfra</i> chez l'homme.	34
Figure 10 : Mise en évidence dans les GIST humaines de l'activation constitutive de la protéine KIT par la technique Western Blot.	36
Figure 11 : Effet <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> chez les souris « nude » de la transfection stable du gène <i>Kit</i> muté dans cellules lymphoïdes murines Ba/F3.	37
Figure 12 : Mise en évidence de la phosphorylation de KIT dans les GIST humaines par la technique Western Blot.	38
Figure 13 : Mise en évidence chez l'homme d'une GIST intestinale à l'examen radiographique sans préparation.	45
Figure 14 : Aspect radiographique d'une GIST gastrique après transit baryté chez l'homme. ...	45
Figure 15 : Aspect échographique d'une GIST humaine.	46
Figure 16 : GIST gastrique de petite taille observée par EUS.	47
Figure 17 : Scanner (coupe axiale, fenêtre étroite) correspondant à l'échographie précédente d'une GIST humaine sur la figure 15.	48
Figure 18 : Mise en évidence d'une GIST humaine au scanner (coupe axiale, fenêtre étroite). ..	49

Figure 19 : Scanner (coupe axiale, fenêtre étroite) chez l'homme, mettant en évidence une volumineuse GIST duodénale (D) avec des métastases hépatiques multifocales (M)	50
Figure 20 : Mise en évidence à l'IRM d'une GIST gastrique chez une femme de 66 ans présentant une douleur abdominale crâniale gauche	51
Figure 21 : Vue macroscopique d'une GIST unique cœcale chez un poney.....	53
Figure 22 : Vue macroscopique de GIST multiples localisées dans l'iléon, chez un équidé.....	53
Figure 23 : Aspect histologique de GIST animales à faible grossissement.	54
Figure 24 : Aspect histologique d'une GIST canine jéjunale de type fusiforme.	55
Figure 25 : Aspect histologique d'une GIST gastrique de type fusiforme chez un équidé.....	56
Figure 26 : Aspect histologique d'une GIST humaine de type fusiforme.	56
Figure 27 : Aspect histologique des GIST de type épithélioïde.....	57
Figure 28 : Aspect histologique de GIST canines de type pléiomorphe.....	58
Figure 29 : Aspect histologique de GIST cœcales d'aspect myxoïde chez des équidés.	59
Figure 30 : Exemples d'immunomarquage des GIST canines avec CD117.....	63
Figure 31 : Immunomarquage CD34 d'une GIST chez un chimpanzé.....	66
Figure 32 : Aspect histologique à faible grossissement d'un léiomyome gastrique chez un chien.	73
Figure 33 : Aspect histologique à fort grossissement d'un léiomyome intestinal bien différencié chez un chien.....	73
Figure 34 : Aspect macroscopique d'un léiomyosarcome intestinal canin.....	75
Figure 35 : Aspect histologique d'un léiomyosarcome intestinal chez un chien.....	76
Figure 36 : Estimation du risque cumulé de récidive (A) et de mortalité (B) après chirurgie selon la méthode Kaplan-Meier pour les patients GIST possédant la mutation <i>Kit</i> (+) et les patients GIST dépourvues de mutation <i>Kit</i> (-).	81
Figure 37 : Temps de survie calculés selon la méthode Kaplan-Meier pour 22 chiens après une chirurgie de GIST (n=13, pointillés), GILMS (n=5, trait plein), et sarcomes indifférenciés (n=4, tirets).	85
Figure 38 : Structure chimique du mésylate d'imatinib.....	92
Figure 39 : Œdème périorbital chez un patient traité avec de l'imatinib.	93

Figure 40 : Inhibition sélective de la phosphorylation de KIT dans la lignée cellulaire (GIST882) après traitement avec STI571.	94
Figure 41 : Effet de l'imatinib sur la prolifération cellulaire des lignées GIST882 et MPNST ST88-014.....	95
Figure 42 : Action de l'imatinib sur le volume tumoral.....	98
Figure 43 : Evaluation de la réponse tumorale par l'IRM après traitement à l'imatinib chez une patiente atteinte d'une GIST métastasée (coupe transaxiale, image pondérée en T1 après injection de gadolinium dans l'abdomen crânial).	99
Figure 44 : Evaluation de la réponse tumorale à l'imatinib par le scanner et le Pet-scan chez une patiente atteinte d'une GIST intrapéritonéale métastasée.	100
Figure 45 : Aspect histologique d'une GIST maligne avant et après traitement à l'imatinib. ...	101
Figure 46 : Sensibilité à l'imatinib des récepteurs KIT de type sauvage et mutants <i>in vitro</i>	102
Figure 47 : Effet <i>in vitro</i> de l'imatinib sur PDGFRA normal (type sauvage) et muté.....	103
Figure 48 : Effet <i>in vitro</i> de l'imatinib à différentes concentrations sur la prolifération des cellules tumorales de GIST (GIST-DR) chez le rat.	106
Figure 49 : Effet de l'imatinib sur la croissance des xénogreffes GIST882 chez les souris «nude».	107
Figure 50 : Evaluation de la réponse tumorale par le Pet-scan (Focus micro-PET® scanner) chez une souris « nude » avant et 24h après l'imatinib.....	108

Tableaux

Tableau 1 : Diagnostic différentiel des GIST selon les critères immunohistochimiques.	72
Tableau 2 : Evaluation du risque de malignité d'une GIST en fonction de sa taille et de son index mitotique.....	79
Tableau 3 : Evaluation histologique du potentiel de malignité d'une GIST en fonction de sa taille, de son index mitotique et de sa localisation anatomique.	80

INDEX DES ABREVIATIONS

ADNc : Acide désoxyribonucléique complémentaire	kDa : kiloDalton
Ac : Anticorps	kg : kilogramme
CALP : Calponine	KIT : Protéine KIT
CEAH : Chimio-embolisation intra-artérielle hépatique	Kit : Gène <i>Kit</i>
CGH : Hybridation génomique comparative	L : litre
CIP : Chimiothérapie intra-péritonéale	LMC : Leucémie myéloïde chronique
CMH-1 : Complexe majeur d'histocompatibilité de type 1	M-CSF : Macrophage Colony Stimulating Factor
EUS : Endoscopic Ultrasonography	mg : milligramme
GANT : Tumeur gastro-intestinale du système nerveux autonome	μm : micromètre
GILMS : Léiomyosarcome gastro-intestinal	μM : micromolaire (10^{-6} moles.L $^{-1}$)
GIPACT : Tumeur des cellules pacemaker gastro-intestinales	μmol : micromole
GIST : Tumeur stromale gastro-intestinale	nmol : nanomole
HCD : h-caldesmone	p : bras court d'un chromosome
HE : Hématoxyline-Eosine	PBS : Phosphate Buffered Saline
HEK : Human Embryonic Kidney	PDGF : Platelet Derived Growth Factor
HPF : Nombre de mitoses par champ à fort grossissement	PDGFR : Récepteur pour le Platelet Derived Growth Factor
IC : Intervalle de confiance	PDGFRA : Récepteur alpha pour le Platelet Derived Growth Factor
IC₅₀ : Concentration inhibitrice permettant une diminution de la moitié de l'activité d'une molécule	Pdgfra : Gène <i>Pdgfra</i>
ICC : Cellule interstitielle de Cajal	PET-scan : Tomographie à émission de positons
ICCT : Tumeur des cellules interstitielles de Cajal	pS100 : Protéine S100
Ig : Immunoglobuline	q : bras long d'un chromosome
IL-3 : Interleukine 3	rhSCF : recombinant human Stem Cell Factor
IRM : Imagerie à résonance magnétique	rmIL-3 : recombinant mouse Interleukin-3
ITK : Inhibiteur de Tyrosine Kinase	rmSCF : recombinant mouse Stem Cell Factor
JM : Domaine Juxtamembranaire du récepteur KIT	SCF : Stem Cell Factor
	SIST : Small Intestinal Stromal Tumor
	SMA : Actine musculaire lisse
	ST1571 : Mésylate d'imatinib
	TK : Tyrosine kinase

INTRODUCTION

Les tumeurs stromales gastro-intestinales ou **GIST** (pour Gastro-Intestinal Stromal Tumor), peu connues et sous diagnostiquées en médecine vétérinaire, sont des proliférations cellulaires tumorales des cellules interstitielles de Cajal, localisées dans la paroi intestinale. Elles sont considérées comme des tumeurs rares, même si leur incidence réelle est probablement sous-estimée ; elles sont cependant suffisamment fréquentes pour que tout pathologiste ayant une activité en pathologie digestive y soit régulièrement confronté. L'intérêt actuel porté aux GIST vient des progrès remarquables réalisés dans la compréhension de leurs mécanismes de survenue et dans les implications thérapeutiques découlant de ces découvertes.

Les apports des techniques modernes, notamment l'immunohistochimie et la biologie moléculaire ont permis de mieux caractériser les GIST.

Dans une première partie, nous aborderons l'historique des GIST, avant de nous intéresser à la pathogénie de ces tumeurs.

Dans une seconde partie, nous décrirons les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, histologiques, immunohistochimiques et génétiques des GIST et proposerons une stratégie diagnostique, en soulignant les éléments importants pour leur identification, leur diagnostic différentiel et l'évaluation de leur pronostic.

Dans la troisième et dernière partie, nous présenterons et discuterons du traitement actuel des GIST, ainsi que des nouvelles avancées thérapeutiques effectuées chez l'homme.

Cette thèse a essentiellement pour but de proposer une mise au point actuelle sur les sarcomes digestifs, particulièrement sur les GIST humaines et animales, qui ont fait l'objet d'un grand nombre de publications au cours de ces 20 dernières années.

I. Historique et pathogénie des GIST chez l'homme et l'animal

A. *Emergence du concept des GIST chez l'homme et l'animal et identification de la protéine KIT*

1. Apports de la microscopie électronique et de l'immunohistochimie dans la classification des GIST

Jusque dans les années 1980, les tumeurs mésenchymateuses digestives étaient classées en deux grands groupes chez l'homme : les **tumeurs des cellules musculaires lisses**, incluant les léiomyomes et les léiomyosarcomes, et les **schwannomes**. La distinction entre les deux groupes se faisait sur des arguments morphologiques, peu sensibles et peu spécifiques. Malgré ses limites, le diagnostic différentiel entre ces deux groupes de tumeurs était important d'un point de vue clinique : en effet, les tumeurs classées comme tumeurs musculaires lisses étaient considérées comme potentiellement malignes alors que les lésions classées comme schwannomes étaient habituellement bénignes⁹.

Mais, l'utilisation de la microscopie électronique au début des années 1970 montre que très peu de ces tumeurs dérivent des cellules musculaires lisses ou nerveuses^{27,65}. En effet, les cellules tumorales présentent des prolongements cytoplasmiques différents de ceux que l'on rencontre dans les cellules nerveuses, et sont dépourvues des microfilaments typiques des cellules musculaires⁶⁵.

Au début des années 1980, l'introduction des techniques immunohistochimiques, par l'utilisation d'anticorps contre des constituants cellulaires variés puis marquage par fluorescence ou réaction histochimique, a permis d'espérer disposer de moyens simples pour identifier et classer de manière précise et objective les tumeurs mésenchymateuses digestives, en se fondant sur leur profil d'expression de marqueurs de différenciation des cellules musculaires lisses ou des cellules de Schwann^{2,62}. On utilise ainsi des marqueurs tels que la vimentine, la desmine, l'actine, la myosine, et la protéine S100 (pS100).

Mais ces marqueurs immunohistochimiques ne permettent pas d'identifier avec précision ces nouvelles tumeurs, notamment en raison de leur hétérogénéité d'expression, de leur fréquente co-expression au sein d'une même tumeur, ou encore de leur absence complète d'expression dans certaines lésions morphologiquement typiques^{2,44}. C'est dans ce contexte que le terme de « tumeur stromale » a été proposé pour la première fois en 1983, par Mazur et Clark⁶⁵ pour désigner des tumeurs gastriques morphologiquement classées comme léiomyomes, mais de « phénotype nul », c'est-à-dire dépourvues des marqueurs immunohistochimiques et des signes ultrastructuraux témoignant d'une différentiation en cellules musculaires lisses ou en cellules de Schwann.

Le terme de « tumeur stromale » a ensuite été repris par d'autres auteurs^{2,44} pour désigner des tumeurs similaires dans le reste du tube digestif.

La présence de pS100, marqueur des cellules dérivées du neuroectoderme, dans quelques tumeurs mésenchymateuses digestives suggère cependant une origine nerveuse⁶⁵. Des études complémentaires en microscopie électronique ont mis en évidence des cellules de Schwann et des neurofilaments de type axone : ces tumeurs, initialement appelées « plexosarcomes » par Herrera *et al.*⁴⁰ en 1984 deviendront plus connues sous le nom de tumeurs gastro-intestinales du système nerveux autonome ou **GANT** (pour Gastro-intestinal Autonomic Nerve Tumor)^{25,56}.

La poursuite des études immunohistochimiques des tumeurs mésenchymateuses digestives a permis d'identifier de nouveaux marqueurs diagnostiques. Les deux principaux marqueurs identifiés ont été successivement la protéine **CD34** en 1994⁷⁵, puis en 1998, la protéine **KIT**, encore appelée CD117 selon la terminologie standardisée des anticorps leucocytaires⁹⁶. L'identification de ces deux marqueurs a grandement contribué à l'émergence et à la reconnaissance du concept de tumeur stromale gastro-intestinale ou GIST.

L'expression de **CD34** a cependant été reconnue comme relativement **peu sensible**, puisqu'elle est présente dans seulement 60 à 70 % des cas de GIST, et **peu spécifique**, car elle est présente dans d'autres tumeurs mésenchymateuses digestives, comme les léiomyosarcomes⁷⁵.

Il n'en est pas de même pour la protéine **KIT**, qui se révèle être un **excellent marqueur diagnostique**. En effet, elle identifie la majorité des GIST positives pour CD34, mais aussi un grand nombre de GIST négatives pour CD34⁹⁶. Nous verrons par la suite que KIT joue aussi un rôle fondamental dans la pathogénie de ces tumeurs (*voir I. B. Pathogénie*

des GIST : rôle central de la protéine KIT) et constitue une cible thérapeutique très efficace (*voir III. C. Les inhibiteurs de tyrosine kinase ou ITK*).

L'utilisation de KIT dans l'analyse immunohistochimique montre par ailleurs que beaucoup de tumeurs anciennement diagnostiquées comme des GANT sont en fait des GIST. En effet, ces tumeurs expriment KIT et présentent les mêmes caractéristiques moléculaires que celles observées dans les GIST⁵⁸. De ce fait, les GANT devraient être considérées comme un sous-groupe des GIST et non comme une entité tumorale particulière.

Chez l'homme, les GIST sont donc définies comme des tumeurs mésenchymateuses du tube digestif exprimant la protéine KIT.

Chez l'animal, le diagnostic des GIST est également basé sur la ressemblance histologique avec les GIST humaines et sur l'expression de KIT. Mais cela n'a pas toujours été le cas. Dans les premières études effectuées chez les primates non humains en 1991³, puis chez le chien en 1997⁵², le terme de GIST a d'abord été utilisé pour regrouper toutes les tumeurs digestives d'origine mésenchymateuse, y compris les tumeurs musculaires lisses.

L'immunomarquage KIT a été appliqué pour la première fois en 2001 chez les équidés^{13,34}, puis chez le chien en 2003³⁰. Mais les scientifiques ne tiennent pas toujours compte des résultats de l'immunomarquage KIT dans la classification et toutes les tumeurs mésenchymateuses gastro-intestinales sont considérées comme des GIST. Dans deux autres études effectuées chez le chien en 2003^{5,50}, les tumeurs mésenchymateuses sont reclassées en GIST en tenant compte cette fois-ci de la positivité KIT.

L'immunomarquage KIT est désormais systématiquement appliqué dans le diagnostic des GIST animales et a conduit chez le chien à réexaminer très récemment un certain nombre de tumeurs digestives, anciennement classées comme léiomyomes ou léiomyosarcomes^{64,93}. Les tumeurs sont classées comme GIST si elles expriment la protéine KIT.

Ainsi, dans l'étude de Maas *et al.* en 2007, 58% (42/72) des tumeurs digestives canines ont ainsi été reclassées en GIST. Les tumeurs présentant des similitudes histologiques avec les GIST mais n'exprimant pas KIT sont considérées comme des « tumeurs apparentées aux GIST » ou « GIST-like »⁶⁴.

Dans une autre étude effectuée par Russell *et al.* en 2007 sur 42 tumeurs digestives canines⁹³, 28 tumeurs positives pour KIT ont ainsi été reclassées en GIST. Seules 10 tumeurs négatives pour KIT sont classées comme léiomyosarcomes gastro-intestinaux (GILMS).

Enfin, 4 tumeurs positives pour la vimentine, mais n'exprimant aucun autre marqueur immunohistochimique ont été classées en sarcomes indifférenciés.

2. Apport de la biologie moléculaire dans la classification des GIST

La biologie moléculaire a confirmé l'intérêt de l'étude de la protéine KIT pour la compréhension des mécanismes moléculaires responsables de l'émergence des GIST. La découverte dans les GIST humaines de mutations sur le gène *Kit* en 1998 est d'une importance cruciale dans la genèse et la classification de ces tumeurs⁴¹. Il s'agit le plus souvent de mutations « gain de fonction », qui se traduisent par l'activation constitutionnelle de la protéine correspondante, entraînant une induction permanente de la prolifération cellulaire. Il a été montré par la suite que des anomalies d'un second gène, *Pdgfra*, codant pour la chaîne alpha du récepteur du PDGF (pour Platelet Derived Growth Factor), pouvaient être impliquées dans un petit nombre de cas de GIST authentiques³⁸. Ces découvertes conduiront au développement d'une thérapeutique ciblée d'un point de vue moléculaire dans les GIST humaines.

L'application de la biologie moléculaire est plus tardive dans les GIST animales. En 2003, après avoir séquencé le gène *Kit* dans 4 GIST canines, Frost *et al.* identifient des mutations de *Kit* pour deux d'entre elles³⁰. Ces mutations sont identiques à celles observées chez l'homme ; nous y reviendrons.

En 2005, Saturday *et al.* séquentent les gènes *Kit* et *Pdgfra* d'une GIST gastrique chez un chimpanzé mais aucune mutation n'est mise en évidence³⁰.

↳ Les GIST constituent donc à ce jour une entité tumorale à part entière grâce à l'application des techniques d'immunohistochimie et de biologie moléculaire.

3. Synthèse : définition actuelle des GIST

Les GIST sont définies comme des tumeurs mésenchymateuses du tube digestif présentant des caractéristiques histologiques évocatrices (prolifération de cellules le plus souvent fusiformes, parfois épithélioïdes, rarement pléiomorphes) et exprimant

habituellement, mais non constamment KIT ou PDGFRA (le récepteur alpha du PDGF), à un niveau suffisant pour permettre sa détection par une technique immunohistochimique⁹.

La définition actuelle des GIST exclut spécifiquement les tumeurs musculaires lisses (lémomes et lémomyosarcomes), les schwannomes et les neurofibromes, ainsi que d'autres tumeurs mésenchymateuses, plus rares, qui sont identifiées sur la base de leurs caractéristiques histologiques et immunohistochimiques propres et de l'absence de l'expression de KIT ou PDGFRA. Le caractère volontairement restreint de cette définition n'est pas parfois sans poser de problème, notamment devant des tumeurs de phénotype morphologique et/ou immunohistochimique atypique ou complexe⁹.

En l'état actuel des connaissances, il est donc difficile de proposer une définition à la fois simple, complète, univoque et parfaitement satisfaisante des GIST. Cette difficulté illustre bien le fait que le diagnostic des GIST repose sur la confrontation des données histologiques et immunohistochimiques, éventuellement appuyées par des arguments cliniques et moléculaires⁹.

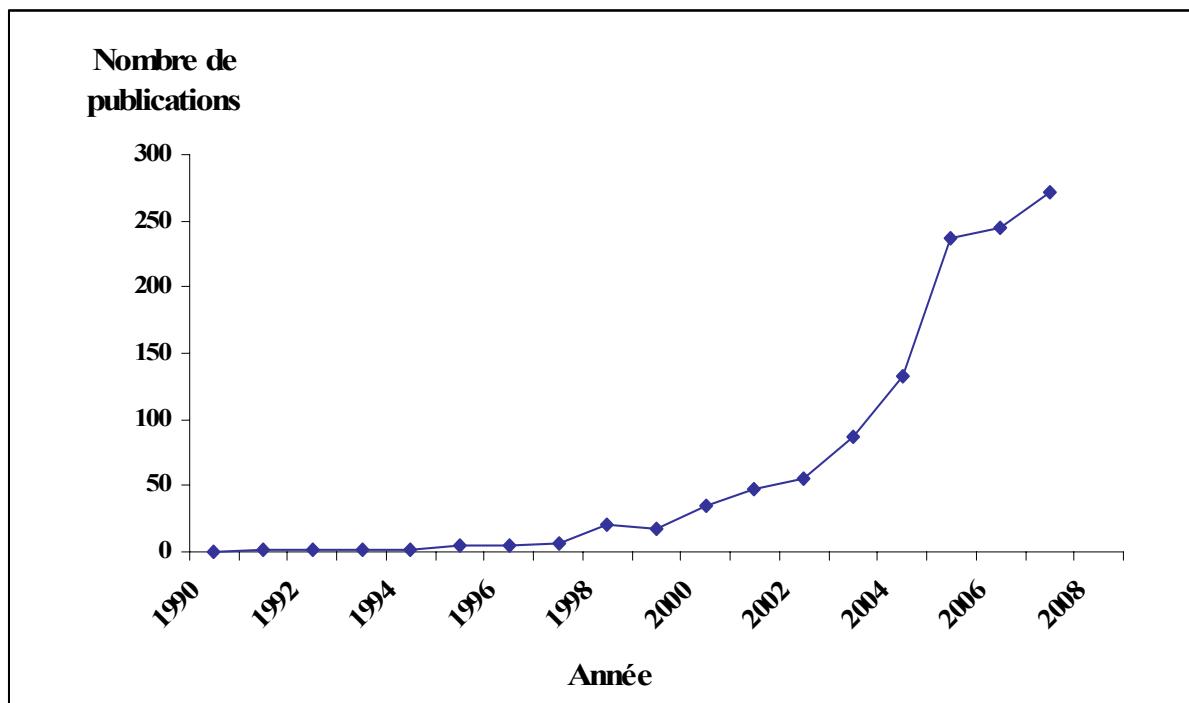
4. Epidémiologie actuelle des GIST chez l'homme et l'animal

a) Nombre de publications sur les GIST

Les GIST ont fait l'objet de nombreuses publications depuis leur découverte en 1983. En effet, de plus en plus de cas sont découverts. Mais bien qu'elles soient connues depuis près de vingt ans, les GIST ne sont diagnostiquées avec précision que depuis la fin des années 1990. Cela s'explique d'une part par la prise de conscience de l'existence de ces tumeurs et d'autre part par l'application des techniques d'immunohistochimie, notamment KIT, dans le diagnostic des tumeurs digestives.

Depuis 1990, le nombre de publications sur les GIST a considérablement augmenté, comme on peut le voir sur la figure 1.

Figure 1 : Nombre de publications sur les GIST de 1990 à 2007.



Recherche effectuée sur Pubmed en janvier 2008 avec les termes « gastrointestinal stromal tumor », « gastrointestinal stromal tumour » ou « GIST », et élimination des résultats non pertinents.

Moins d'une vingtaine de publications ont été répertoriées en médecine vétérinaire. La rareté des études sur les GIST animales peut en partie s'expliquer par l'utilisation tardive de la protéine KIT dans le diagnostic immunohistochimique des tumeurs digestives animales.

Chez l'homme, comme la majorité des tumeurs mésenchymateuses du tube digestif sont des GIST, on peut considérer que les anciennes publications concernant les tumeurs musculaires lisses digestives reflètent largement les GIST^{2,26}.

b) Epidémiologie des GIST chez l'homme

Chez l'homme, les GIST sont les tumeurs mésenchymateuses les plus fréquentes du tube digestif⁶⁷ : elles représentent près de 80 % des tumeurs mésenchymateuses digestives. Néanmoins, elles sont très rares : elles ne représentent que 1 à 3 % des tumeurs malignes gastro-intestinales⁸².

L'épidémiologie des GIST humaines n'est encore que partiellement connue. Elle ne peut se baser que sur des études rétrospectives avec reclassification des tumeurs

« mésenchymateuses digestives » au sens large. En effet, les critères actuellement utilisés pour le diagnostic des GIST, notamment la démonstration de l'expression de KIT, sont récents, ce qui nécessite une reclassification des tumeurs après immunodétection de KIT⁹.

Dans la population finlandaise, Miettinen et Lasota estiment l'incidence annuelle des GIST à environ 10 à 20 cas/million, parmi lesquels 20 à 30 % seraient des tumeurs malignes⁶⁷. Une étude récente en 2005 portant sur la population des Pays-Bas, qui compte près de 16 millions d'habitants, a permis de calculer plus précisément l'incidence des GIST et des autres tumeurs mésenchymateuses digestives en 1995 et entre 1998 et 2003, avant et après reclassification des tumeurs après immunomarquage de KIT³². L'incidence annuelle totale de l'ensemble des tumeurs mésenchymateuses digestives augmente de 20,8 par million d'habitants en 1995 à 25,4 par million d'habitants en 2003. En même temps, **l'incidence annuelle des GIST passe de 2,1 à 12,7 par million d'habitants**, tandis que l'incidence annuelle des autres tumeurs mésenchymateuses digestives, principalement des léiomyomes et léiomyosarcomes, passe de 18,7 à 12,7 par million d'habitants en 2003.

L'augmentation de l'incidence des GIST entre 1995 et 2003 s'explique par une meilleure compréhension de la pathogénie de ces tumeurs, mais aussi par l'utilisation de la protéine KIT dans le diagnostic immunohistochimique des GIST, permettant ainsi de mieux les caractériser.

L'incidence réelle des GIST est probablement légèrement plus élevée, car seules les GIST symptomatiques, qui ont fait l'objet d'une biopsie ou d'une chirurgie sont prises en compte dans l'étude.

L'incidence annuelle des GIST aux Pays-Bas est comparable à celle évaluée dans une province suédoise, portant sur une population de 1,3 à 1,6 millions d'habitants⁸¹. Toutes les tumeurs mésenchymateuses digestives, diagnostiquées entre 1983 et 2000 dans cette région, ont été revues et reclassées. **L'incidence annuelle des GIST a été estimée à 14,5 par million d'habitants (95% IC, 12,8-16,4 par million)** ; cette incidence paraît stable sur la période étudiée. La prévalence des GIST a été estimée à 129 par million.

En ce qui concerne la France, une enquête effectuée auprès des pathologistes français et portant sur les données recueillies au cours de l'année 2000 évaluait l'incidence globale des GIST en France à 7,8 par million : ce chiffre est très inférieur aux résultats suédois. Selon la même enquête, l'incidence des formes malignes pouvait être évaluée à 3,9 ; un chiffre encore

inférieur aux données de la littérature : ceci laisse penser que les GIST sont alors sous-diagnostiquées en France⁹. Ces résultats justifient donc l'enquête prospective PROGIST qui vise à recenser en France les cas incidents sur une période d'un an, de décembre 2004 à décembre 2005 : 535 nouveaux cas de GIST ont ainsi été répertoriés ; **l'incidence annuelle** a été estimée à **12 cas par million d'habitants**⁷⁷. Ce résultat se rapproche plus de ceux récemment obtenus dans les autres pays européens.

c) Epidémiologie des GIST chez l'animal

La prévalence des tumeurs gastro-intestinales chez le chien est faible et représente seulement 3 % de toutes les tumeurs animales⁹³. Les adénocarcinomes et les lymphomes restent parmi les tumeurs primitives digestives les plus fréquentes chez le chien. Les tumeurs mésenchymateuses digestives non lymphoïdes ont généralement été diagnostiquées comme des léiomyomes ou léiomyosarcomes en microscopie optique⁵. Les léiomyosarcomes canins sont ainsi considérées comme les sarcomes les plus fréquents de l'intestin et représentent 10 à 30 % de toutes les tumeurs intestinales⁹³.

Les GIST sont aussi rares chez les équidés¹³. Les lipomes, les lymphomes, les léiomyosarcomes et les adénocarcinomes restent parmi les tumeurs digestives les plus fréquentes dans cette espèce³⁴.

L'épidémiologie des GIST animales demeure à l'heure actuelle peu investiguée. Des études impliquant un plus grand nombre de cas sont nécessaires afin de déterminer précisément la fréquence de ces tumeurs, et de mieux comprendre leur comportement biologique.

La découverte de KIT dans les GIST humaines et animales nous a déjà permis d'en savoir plus quant à l'origine de ces tumeurs.

5. Origine cellulaire des GIST

L'origine et la différentiation des GIST en médecine humaine ont fait l'objet de nombreuses spéculations et controverses. Les scientifiques ont longtemps pensé que ces tumeurs dérivait des cellules musculaires lisses ou nerveuses. Les récentes études utilisant la microscopie électronique et les marqueurs immunohistochimiques montrent qu'en fait ces tumeurs dériveraient d'un autre type cellulaire : les cellules interstitielles de Cajal ou ICC.

a) *Origine des GIST : les cellules interstitielles de Cajal (ICC)*

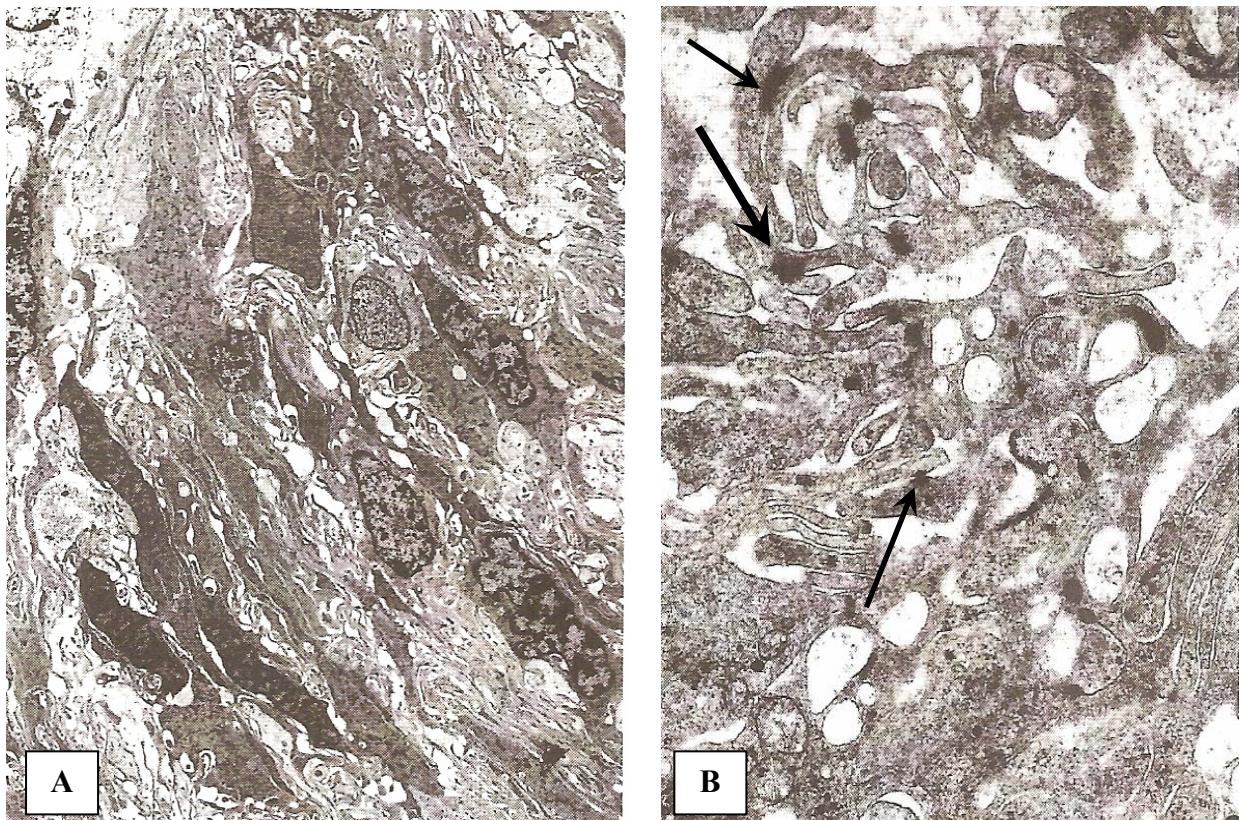
Les ICC sont les cellules pace-maker de la paroi gastro-intestinale. Localisées dans la muscleuse, elles génèrent une activité électrique qui, transmise aux muscles lisses, va induire leur contraction^{12,102}.

(1) Ressemblance GIST/ICC en microscopie électronique

Les **ICC** possèdent un corps cellulaire allongé, fusiforme, avec plusieurs fins prolongements cytoplasmiques. Ces cellules sont en contact étroit avec les cellules musculaires lisses et les cellules nerveuses par l'intermédiaire de jonctions gap. A fort grossissement, elles sont caractérisées par la présence de cavéoles sous la membrane plasmique, de filaments fins, de nombreux filaments intermédiaires, de nombreuses mitochondries allongées et d'un réticulum endoplasmique abondant^{12,102}.

Les **cellules tumorales des GIST humaines** présentent également un corps cellulaire allongé avec de fins prolongements cytoplasmiques, étroitement liés entre eux par des jonctions gap type desmosome (voir figure 2).

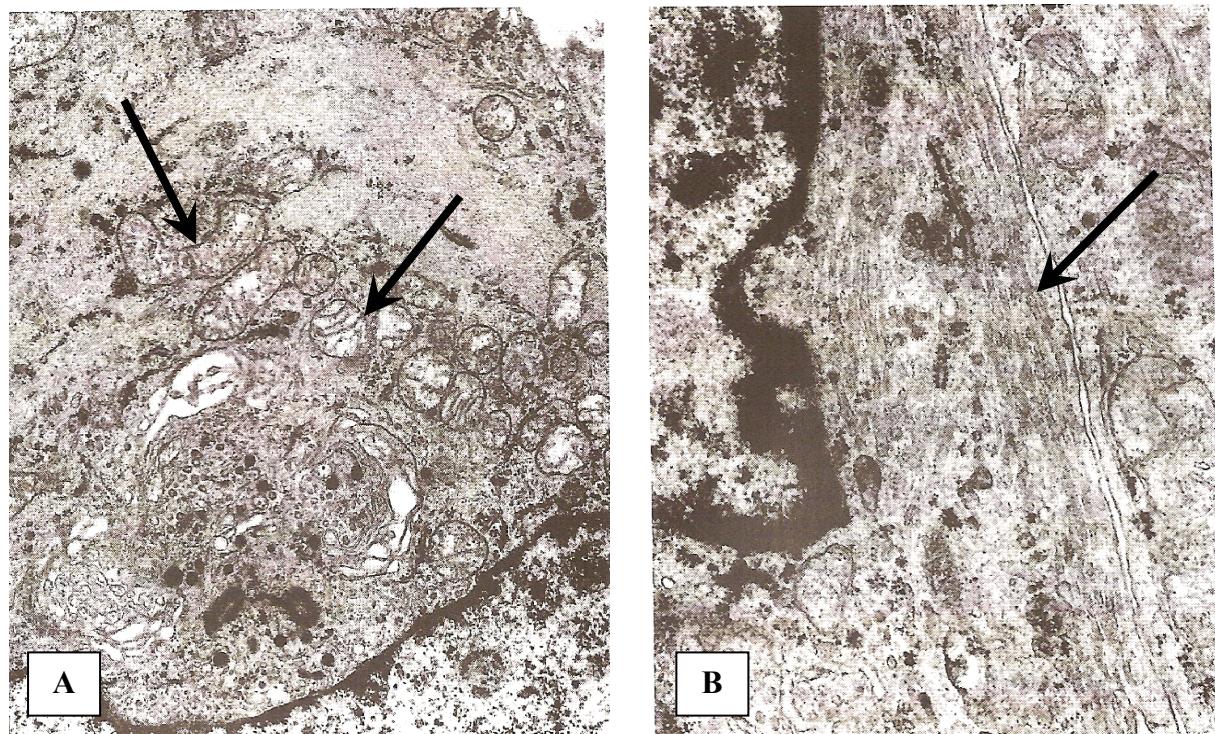
Figure 2 : Photographie d'une GIST humaine en microscopie électronique à transmission⁴⁸.



- (A) *Les cellules tumorales présentent un corps allongé et de fins prolongements cytoplasmiques, qui s'invaginent dans les replis cytoplasmiques des cellules tumorales voisines (agrandissement x 2300) ;*
- (B) *Les prolongements cytoplasmiques sont connectés entre eux par des jonctions gap type desmosome (flèches noires) (agrandissement x 16000).*

Les principales caractéristiques cytoplasmiques observées dans les cellules tumorales des GIST sont : des faisceaux de filaments intermédiaires et de microtubules, de nombreuses mitochondries volumineuses, un réseau abondant de citernes de réticulum endoplasmique lisse (REL), un volumineux appareil de Golgi (voir figure 3).

Figure 3 : Principales caractéristiques cytoplasmiques ultrastructurales des cellules tumorales dans les GIST humaines⁴⁸.



- (A) Noter la présence de multiples mitochondries (flèches noires) et d'un volumineux appareil de Golgi péri-nucléaire en bas à droite (grossissement x 15000);
- (B) Détail de deux cellules tumorales : celle de gauche présente un REL abondant, organisé en citernes tubulaires parallèles (flèche noire), en position sous-membranaire (grossissement x 30000).

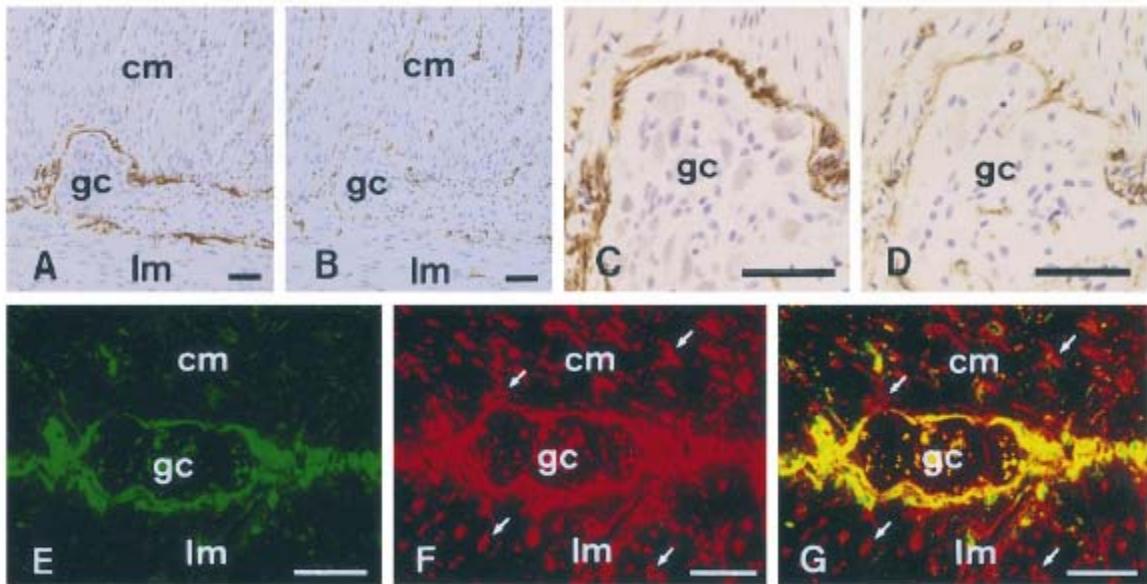
↳ Les cellules tumorales des GIST présentent donc des similitudes ultrastructurales avec les ICC.

(2) Ressemblance GIST/ICC en immunohistochimie

Les ICC se localisent dans la paroi musculaire digestive. Un type particulier d'ICC se situe entre les couches circulaires et longitudinales de la *muscularis propria*, en étroite relation avec le plexus nerveux myentérique, encore appelé plexus d'Auerbach^{12,102}.

Hirota *et al.* ont étudié les caractéristiques immunohistochimiques des ICC situées autour du plexus myentérique d'Auerbach, et constatent que ces cellules sont doublement positives pour KIT et CD34 (voir figure 4)⁴¹.

Figure 4 : Co-expression de KIT et CD34 dans les ICC, localisées autour du plexus myentérique dans l'intestin grêle normal chez l'homme⁴¹.



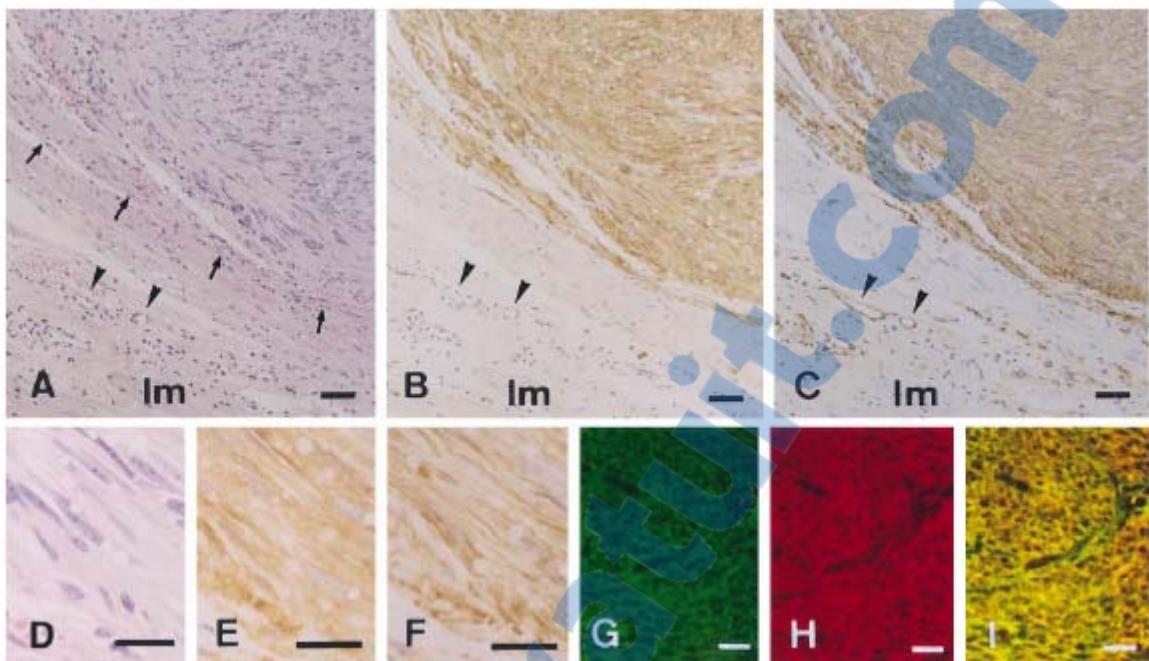
A et B : Coupes séquentielles d'intestin grêle normal. **C et D :** Agrandissements respectifs de A et B. Les coupes A et C sont marquées avec un anticorps dirigé contre la protéine KIT (Ac anti-KIT) ; les coupes B et D sont marquées avec un anticorps dirigé contre la protéine CD34 (Ac anti-CD34). La localisation des cellules doublement positives pour KIT et CD34 est compatible avec celle des ICC, qui sont présentes entre la couche musculaire circulaire (cm) et la couche musculaire longitudinale (lm), et autour du plexus myentérique (gc).

E à G : Examen des ICC en microscopie confocale à balayage laser. **E :** les ICC se lient aux Ac anti-KIT de lapin (vert). **F :** les ICC se lient aux Ac anti-CD34 de souris (rouge) ; **G** représente l'image fusionnée de E et F et montre que les ICC expriment à la fois KIT et CD34 (jaune). Les flèches blanches en F et G montrent les cellules endothéliales et les cellules apparentées aux fibroblastes qui expriment CD34, mais pas KIT. Echelle = 50 µm.

Dans le tube digestif, deux types cellulaires expriment la protéine KIT : les ICC et les mastocytes. Mais les ICC sont les seules cellules digestives à exprimer simultanément KIT et CD34^{41,102}.

Hirota *et al.* ont ensuite comparé les caractéristiques immunohistochimiques des ICC à celles des cellules tumorales issues de GIST humaines. Il constate que la majorité des cellules tumorales co-expresent les protéines KIT et CD34 (voir figure 5) : plus de 90 % des GIST expriment fortement la protéine KIT, 82 % expriment CD34 et 78 % expriment simultanément KIT et CD34⁴¹.

Figure 5 : Co-expression de KIT et CD34 dans les GIST humaines⁴¹.



A à C : Coupes séquentielles d'une tumeur se développant dans les couches musculaires de l'estomac. Les images **D à F** correspondent à des agrandissements de **A à C**. **A** et **D** sont colorées à l'hématoxyline-éosine. Les limites de la tumeur sont indiquées par des flèches noires en **A**.

B et E sont marquées avec anti-KIT, **C et F** avec anti-CD34. Les têtes de flèche dans **A** et **C** montrent que les cellules endothéliales des vaisseaux expriment CD34, mais n'expriment pas KIT. Légende : *lm* ; couche musculaire longitudinale.

G à I : Co-expression de KIT et CD34 dans d'autres GIST gastriques par microscopie confocale à balayage laser. En **G**, mise en évidence de KIT (vert) dans les cellules tumorales par la technique d'immunofluorescence ; en **H**, mise en évidence de CD34 (rouge) dans les cellules tumorales ; l'image **I** correspond à la fusion de **G** et **H** et révèle ainsi la co-expression de KIT et CD34 (jaune) dans les cellules tumorales.

Echelle : de **A à C** = 50 µm ; de **D à I** = 100 µm.

↳ Les cellules tumorales des **GIST** présentent donc des **similitudes immunohistochimiques** avec les **ICC**.

(3) Conclusion

Ces analogies ultrastructurales et immunohistochimiques suggèrent fortement que les GIST dérivent des ICC. Kindblom *et al.* ont donc proposé de remplacer le terme de GIST par celui de « GIPACT » (pour Gastrointestinal Pacemaker Cell Tumor) ou « tumeurs des cellules pace-maker gastro-intestinales » pour caractériser ces nouvelles tumeurs⁴⁸. Sircar *et al.* ont choisi de les appeler les « ICCT » (pour ICC Tumors) ou « tumeurs des ICC »¹⁰².

b) Origine des GIST : une cellule précurseur des ICC

Une autre possibilité est que les cellules tumorales des GIST dérivent d'une cellule précurseur, qui est capable de se différencier en ICC et en cellule musculaire lisse. Les expériences d'hybridation sur des oiseaux⁵⁷ et des souris¹⁰⁹ ont en effet montré que les ICC et les cellules musculaires lisses dérivent d'un précurseur commun mésodermique, qui exprime la protéine KIT. Sakurai *et al.* ont ensuite découvert que les ICC et les cellules tumorales des GIST, qui expriment la protéine KIT, expriment également la myosine embryonnaire⁹⁴, suggérant ainsi l'idée que les cellules tumorales des GIST et les ICC dérivent d'un même précurseur mésodermique.

La théorie selon laquelle les GIST dérivaient d'une cellule précurseur des ICC est actuellement la plus attractive : elle permettrait en effet d'expliquer l'expression simultanée de KIT et des marqueurs des muscles lisses dans les cellules tumorales des GIST⁴⁸, et de comprendre pourquoi ces tumeurs se développent dans des zones ne comportant pas d'ICC, comme l'omentum et le mésentère⁶⁹.

↳ **Les GIST dérivent donc des ICC ou de leurs précurseurs, qui expriment la protéine KIT.**

Bien que la protéine KIT soit indispensable au développement normal et à la prolifération des ICC, sa fonction dans la transformation des ICC en cellules tumorales et son rôle dans la prolifération et la progression des GIST doivent être précisés.

B. Pathogénie des GIST : rôle central de la protéine KIT

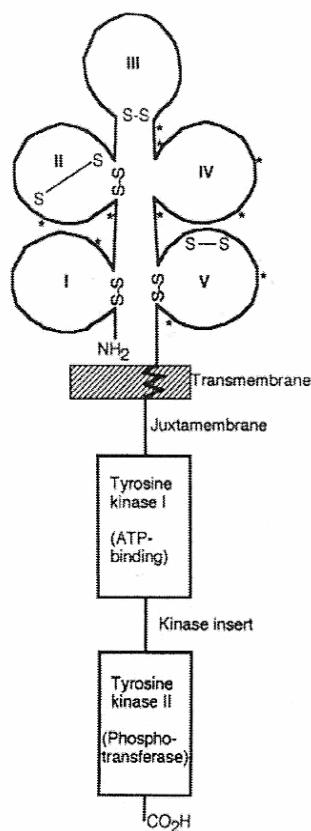
1. Le récepteur KIT : structure et fonctionnement normal

Le récepteur KIT, produit du gène *Kit*, est une glycoprotéine transmembranaire de 145 kDa dont le ligand spécifique est une cytokine plus connue sous le nom de Stem Cell Factor (SCF). Il appartient à la famille des récepteurs de type III à activité tyrosine kinase, dans laquelle on retrouve également le récepteur pour le Macrophage Colony Stimulating Factor (M-CSF) et les PDGFR de type A et B^{35,49,82}.

Le récepteur KIT est constitué d'un **domaine extracellulaire** avec cinq boucles de type immunoglobuline (Ig) (voir figure 6). Les trois boucles Ig amino-terminales déterminent la spécificité du ligand SCF, la quatrième boucle facilite la dimérisation du récepteur. La fonction de la dernière boucle Ig n'est pas entièrement connue. Le domaine extracellulaire est suivi d'un court **domaine juxtamembranaire** (JM) et d'un **domaine kinase**, divisé en deux parties :

- un domaine de fixation de l'ATP, appelé tyrosine kinase 1 (TK1) ;
 - et un domaine catalytique à activité tyrosine kinase, nommé tyrosine kinase 2 (TK2) permettant le transfert d'un groupement phosphate d'une molécule d'ATP au substrat.
- Les domaines TK1 et TK2 sont séparés par un insert pour la kinase de longueur variable^{63,98}.

Figure 6 : Structure du récepteur KIT canin⁶³.



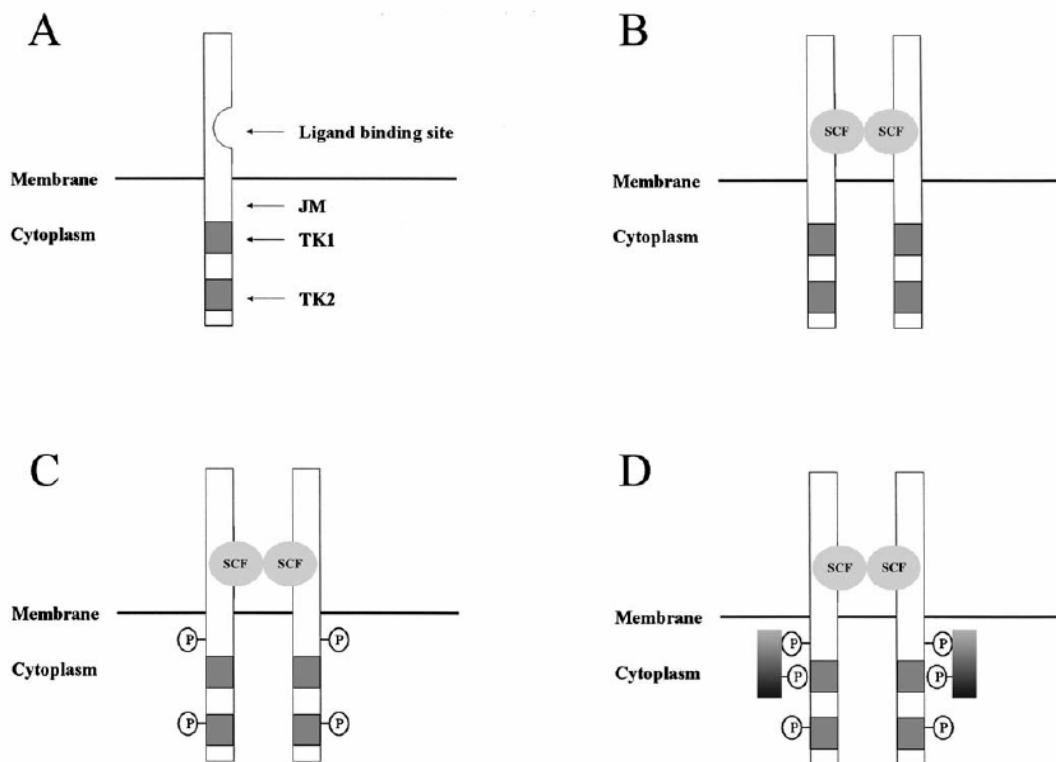
Les astérisques (*) au niveau des boucles Ig correspondent aux sites potentiels de glycosylation.

La structure et la séquence en acides aminés de la protéine KIT (surtout au niveau de JM) sont hautement conservées dans les différentes espèces⁴⁹ et montrent 100 % d'homologie entre l'homme et le chien³⁰.

L'expression de la protéine KIT dans l'organisme n'est pas restreinte aux ICC : KIT est en effet détectable dans les mastocytes, les cellules souches hématopoïétiques, les cellules germinales, les mélanocytes et certaines cellules épithéliales^{82,102}.

KIT est un monomère enzymatiquement inactif lié à la membrane plasmique. SCF soluble se présente majoritairement sous la forme d'un dimère bivalent⁸². L'interaction de KIT avec son ligand SCF entraîne la dimérisation du récepteur, ce qui à son tour entraîne la phosphorylation et l'activation de la fonction tyrosine kinase de son domaine intracellulaire. L'activation de cette fonction permet à la protéine KIT de phosphoryler à son tour des protéines intracellulaires effectrices qui assurent la transmission du signal jusqu'au noyau (voir figure 7). Les principales conséquences de l'activation de la protéine KIT sont : induction et régulation de la croissance et de la prolifération cellulaire, et contrôle de la différentiation cellulaire^{39,49,102}.

Figure 7 : Fonctionnement normal du récepteur KIT³⁹.



- (A) Le récepteur KIT se présente sous la forme d'un monomère inactif à la surface de la membrane plasmique.
- (B) L'interaction de KIT avec son ligand SCF entraîne la dimérisation du récepteur.
- (C) Phosphorylation et activation des domaines TK1 et TK2.
- (D) Les phosphotyrosines servent de site de liaison pour différentes protéines intracellulaires effectrices, qui assurent la transduction d'un signal jusqu'au noyau.

Bien que son expression soit restreinte à un petit nombre de types cellulaires, la protéine KIT joue néanmoins un rôle oncogénique majeur dans les tumeurs correspondantes, notamment dans les GIST.

2. Mutations dans les gènes *Kit* et *Pdgfra* et induction de la cancérogenèse des GIST

Les GIST sont caractérisées par la présence d'anomalies moléculaires dans deux gènes cibles, *Kit* et *Pdgfra*, qui codent respectivement pour les récepteurs KIT et PDGFRA. Ces anomalies moléculaires jouent un rôle fondamental dans l'induction du processus de cancérogenèse.

Le **gène *Kit*** est exprimé dans presque toutes les GIST⁷¹. Ce gène est un **proto-oncogène** : en effet, certaines mutations peuvent conduire à une activation permanente du récepteur KIT, ce qui peut provoquer une prolifération de type tumoral.

Le proto-oncogène *Kit* est l'homologue cellulaire de l'oncogène *v-Kit* du virus du sarcome félin Hardy-Zuckerman (HZ4-FeSV)^{46,49}.

Chez l'homme, le gène *Kit* est localisé sur le bras long (q) du chromosome 4 (4q11-q12) à proximité du gène *Pdgfra*⁹⁸.

En 1998, le séquençage complet du gène *Kit* dans 6 GIST humaines a permis de mettre en évidence pour la première fois des mutations somatiques sur **l'exon 11** du gène *Kit*, qui codent pour le domaine JM du récepteur KIT⁴¹. Cinq GIST présentent la mutation, et pour chacune des tumeurs, un seul des deux allèles du gène *Kit* est muté. Ces mutations conduisent à l'auto-phosphorylation du récepteur, indépendamment de sa liaison avec SCF ; nous y reviendrons.

Les mutations du gène *Kit* s'observent principalement dans la partie proximale de l'exon 11 entre les codons 550 et 562, sous forme de substitution ou de délétion sans décalage du cadre de lecture⁴¹.

En 1999, une nouvelle mutation dans la partie distale de l'exon 11 (délétion du codon 579) a été répertoriée sur le gène *Kit* dans les GIST humaines⁸⁰. Cette mutation est également à l'origine d'une activation constitutive de KIT. La région responsable de l'activation constitutive de KIT s'étend donc du codon 550 à 580 sur l'exon 11 du gène *Kit*.

En 2003, Frost *et al.* séquencent le gène *Kit* de 4 GIST canines et découvrent également des mutations sur l'exon 11 pour deux d'entre elles (voir figure 8).

Figure 8 : Mise en évidence de mutations sur l'exon 11 du gène *Kit* dans les GIST canines³⁰.

Case 12

	554	555	556	557	558
	V	Q	W	K	V
Wild-type KIT	G T A C A G T G G A A G G T T				
	V	Q	Q	□	V
Mutant KIT	(2) C A G G T T				
					(1)

Case 18

	573	574	575	576	577
	T	Q	L	P	Y
Wild-type KIT	A C A C A G C T T C C T T A C				
	T	Q	P	P	Y
Mutant KIT	A C A C A G C C T C C T T A C				
					(3)

Cas 12 : la mutation par délétion (1) de *Trp*⁵⁵⁶ (*h* 557)-*Lys*⁵⁵⁷ (*h* 558) coexiste avec la mutation par insertion/duplication (2) de *Gln*⁵⁵⁵ (*h* 556) ;

Cas 18 : mutation par substitution (3) de *T* par *C* sur le codon 575, entraînant la substitution de *Leu*⁵⁷⁵ (*h* 576) par *Pro*.

Les mutations du gène *Kit* identifiées dans les GIST canines sont identiques à celles répertoriées chez l'homme³⁰. La délétion des codons 557 (TGG) et 558 (AAG) codant respectivement pour le tryptophane (Trp) et la lysine (Lys) est fréquente dans les GIST humaines. La substitution de *T* par *C*, à l'origine de la substitution de la leucine (Leu) par la proline (Pro) a également été décrite dans quelques GIST humaines.

L'étude de Frost *et al.* est la première étude prouvant l'existence de mutations de *Kit* dans les GIST animales et montre que les GIST animales et humaines suivent le même mécanisme pathogénique³⁰.

L'absence de mutation de *Kit* dans les tumeurs musculaires lisses chez l'homme et l'animal suppose l'existence d'un mécanisme pathogénique différent des GIST^{30,53} : la

présence de mutations sur le gène *Kit* constitue donc un véritable marqueur diagnostique des GIST.

La très grande majorité des GIST ($> 80\%$) résulte d'une mutation somatique de *Kit*^{42,61}. Quelques cas de GIST familiales associés à des mutations germinales de *Kit* ont été identifiés^{4,45,83}. Ces mutations sont présentes à l'état hétérozygote et l'allèle sauvage est conservé. Il s'agit de la même mutation germinale, que la tumeur soit bénigne ou maligne, ce qui montre que la mutation dans *Kit* intervient très tôt dans le processus de cancérogenèse⁸³.

Les mutations de *Kit* les plus fréquentes sont localisées sur l'exon 11 : 57 % (71/124) des GIST dans l'étude de Taniguchi *et al.*¹⁰⁴, 52 % (103/200) dans celle de Lasota *et al.*⁵⁴, enfin 71 % (34/48) des GIST dans l'étude de Rubin *et al.*⁹¹.

Cependant, près de 90 % des GIST présentent une activation de la protéine KIT. Ces mutations ne sont donc pas le seul mécanisme impliqué dans la cancérogenèse des GIST.

Les mutations de *Kit* peuvent également être présentes au sein des **exons 9, 13 et 17**, qui codent respectivement pour le domaine extracellulaire, les domaines TK1 et TK2 du récepteur KIT.

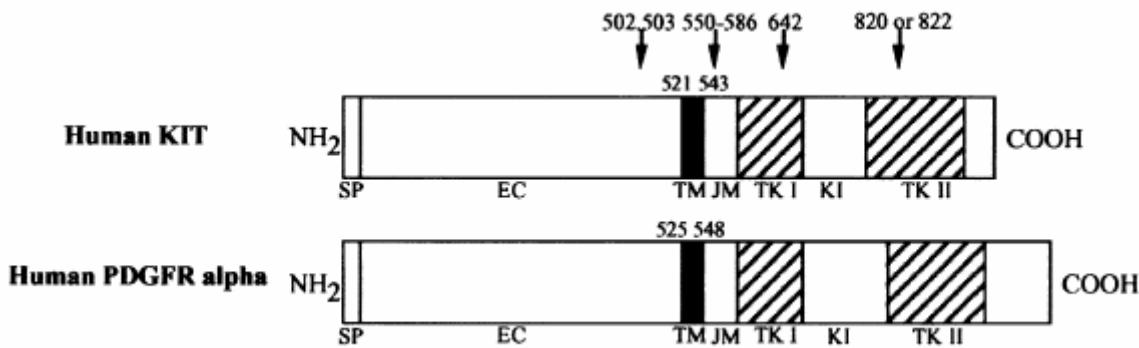
Quelques GIST possèdent des mutations sur les **exons 9 et 13** : une duplication de six nucléotides, codant pour Ala⁵⁰²-Tyr⁵⁰³ sur l'exon 9, et une mutation par substitution sur l'exon 13, à l'origine du remplacement de Lys⁶⁴² par Glu. Ces mutations sont rares et concernent moins de 10 % des GIST qui ne possèdent pas la mutation sur l'exon 11^{42,54,61,91}.

Si les mutations de *Kit* sur **l'exon 17** sont caractéristiques des tumeurs des mastocytes³¹, des leucémies myéloïdes chroniques (LMC) et des tumeurs des cellules germinales^{61,91}, elles restent rares dans les GIST (< 5 %).

La majorité des GIST (environ 85 %) présentent des mutations sur le gène *Kit*. Cependant un certain nombre de ces tumeurs conserve le gène *Kit* de « type sauvage ». Une petite proportion (5 %) est en effet associée à des mutations du gène *Pdgfra*, qui code pour PDGFRA, récepteur à activité tyrosine kinase homologue de KIT³⁸.

Chez l'homme, le **gène *Pdgfra*** est situé à côté du gène *Kit* sur le chromosome 4. Les séquences des gènes *Kit* et *Pdgfra* sont très proches (voir figure 9) ; il en résulte une grande ressemblance dans la structure des récepteurs correspondants⁴³.

Figure 9 : Séquences schématisées des gènes *Kit* et *Pdgfra* chez l'homme⁴³.



Légende : *SP*, peptide signal ; *EC*, domaine extracellulaire ; *TM*, domaine transmembranaire ; *JM*, domaine juxtamembranaire ; *KI*, insert pour la kinase.

Les séquences des gènes *Kit* et *Pdgfra* présentent une grande homologie entre l'homme et le chimpanzé. Aucune mutation n'a été identifiée dans les GIST chez les primates⁹⁹.

Les mutations de *Pdgfra* détectées dans les GIST sont essentiellement localisées sur les **exons 12 et 18**, qui codent respectivement pour les domaines JM et TK2 de PDGFRA. Il s'agit le plus souvent de mutations par substitution, qui touchent le codon 561 pour l'exon 12 et le codon 842 pour l'exon 18. Comme dans le gène *Kit*, un seul allèle est touché par la mutation. Ces mutations jouent également un rôle important dans le développement des GIST^{38,43}.

Environ 10 % des GIST chez l'adulte ne possèdent pas de mutation dans *Kit* et *Pdgfra*. Malgré cela, la majorité de ces tumeurs expriment fortement la protéine KIT et montrent une activation de KIT⁹¹.

3. Autres anomalies génétiques intervenant dans la pathogénie des GIST

S'il est certain que les anomalies sur les gènes *Kit* et *Pdgfra* sont nécessaires pour induire le processus de cancérogenèse dans les GIST, elles ne suffisent pas à elles seules à expliquer la progression tumorale et l'évolution variable de ces tumeurs.

L'hybridation génomique comparative (CGH) est un outil performant utilisé dans l'étude cytogénétique et moléculaire des tumeurs. Elle permet en effet de mettre en évidence toutes les séquences génomiques gagnées ou perdues par une tumeur.

La CGH montre une perte fréquente des chromosomes 14q et 22q dans les GIST bénignes (75 %) et malignes (62 %). Cette observation suggère que les altérations sur les chromosomes 14 et 22 interviennent précocement dans la cancérogenèse des GIST. De telles modifications génomiques n'existent pas dans les tumeurs des muscles lisses²³.

Des pertes chromosomiques en 1p (p pour le bras court du chromosome 1) et 9p et des gains chromosomiques en 5p, 20q, 8q et 17q ont également été décrites dans les GIST. Ces modifications, plus tardives, seraient impliquées dans la transformation des GIST bénignes en GIST malignes²².

Ces anomalies chromosomiques interviennent secondairement dans la cancérogenèse des GIST ; elles jouent donc un rôle dans la progression tumorale.

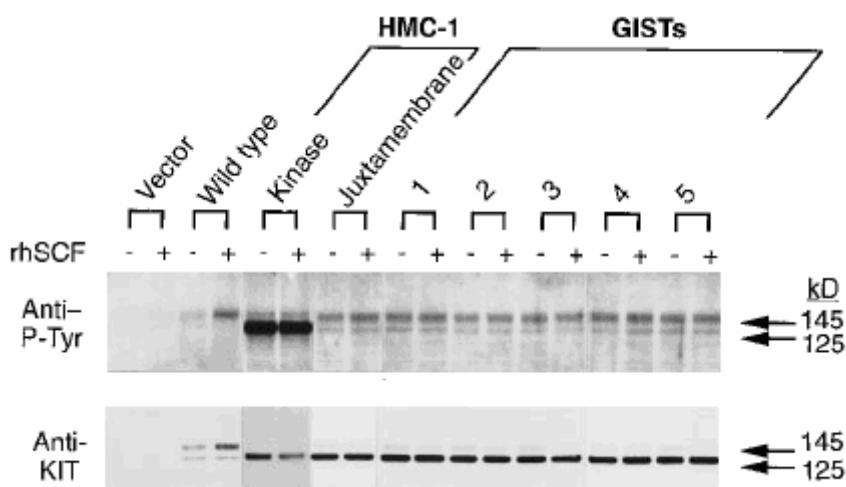
4. Conséquences des anomalies génétiques : activation constitutive du récepteur KIT et développement des GIST

Les mutations dites « gain de fonction » sont responsables de l'expression d'un récepteur KIT dont l'activation est constitutive, c'est-à-dire indépendante de la liaison à son ligand spécifique, le SCF.

Chez l'homme, Hirota *et al.* ont examiné si les mutations de *Kit* sont à l'origine d'une activation constitutive du récepteur correspondant, par introduction passagère de l'ADN complémentaire (ADNc) muté sur le gène *Kit* dans les cellules embryonnaires rénales humaines, également connues sous le nom de cellules HEK (pour Human Embryonic Kidney), ou cellules HEK 293T⁴¹. La protéine KIT de type sauvage est uniquement phosphorylée en présence de son ligand SCF (témoin négatif) (voir figure 10). Par opposition,

les récepteurs KIT mutés dans les cellules à complexe majeur d'histocompatibilité de type 1 (CMH-1) sont phosphorylés sans addition du SCF humain recombinant (rhSCF) ; ces récepteurs serviront de témoins positifs. La phosphorylation constitutive sur la tyrosine est plus importante pour le récepteur muté sur le domaine TK que celui muté sur le domaine JM. Les récepteurs KIT mutés dans les GIST montrent aussi une phosphorylation constitutive de la tyrosine kinase dans les cellules HEK 293T en absence de rhSCF (voir figure 10). La phosphorylation constitutive de la tyrosine kinase des mutants JM issus des GIST est d'intensité similaire au mutant JM issu des cellules CMH-1 (voir figure 10).

Figure 10 : Mise en évidence dans les GIST humaines de l'activation constitutive de la protéine KIT par la technique Western Blot⁴¹.



Les ADNc mutés sur le gène *Kit* dans 5 GIST sont transférés dans les cellules HEK 293T. La protéine KIT humaine de type sauvage sert de témoin négatif. Les protéines KIT mutées sur les domaines TK et JM dans les cellules CMH-1 servent de témoin positif. La phosphorylation de la tyrosine kinase est observée en présence ou en absence de rhSCF.

Les mutations *Kit* sur l'exon 11 entraînent donc l'activation de KIT indépendamment de sa liaison au SCF. La mutation K642E, localisée sur l'exon 13, qui code pour le domaine TK1 de KIT permet également une activation constitutive du récepteur, bien que la dimérisation du récepteur muté n'ait pas été rapportée^{45,61}.

Plus récemment, Sommer *et al.* ont créé des modèles de souris GIST par insertion ciblée de mutations de *Kit* sur l'exon 11, identiques à celles observées dans les GIST humaines sporadiques¹⁰³. Ces souris transgéniques qui expriment les formes mutées de KIT

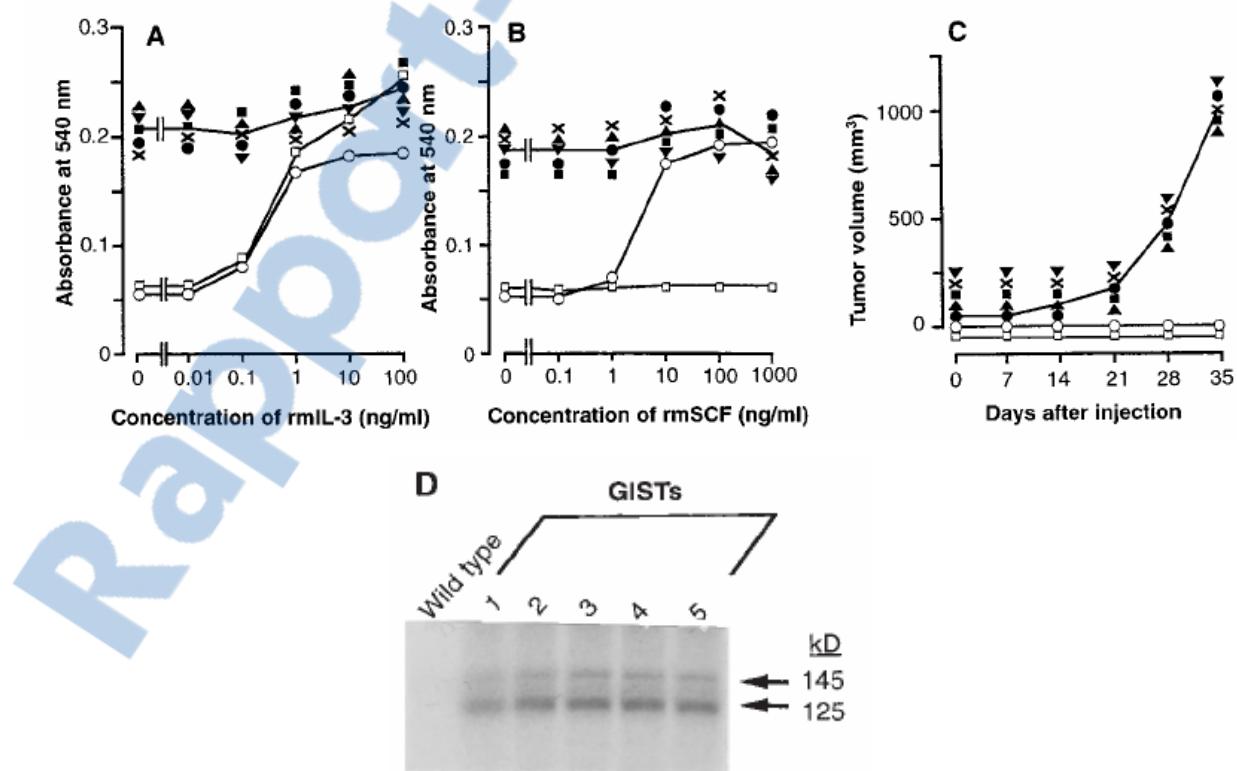
développent des GIST focales. Ces observations montrent que l'activation constitutive du récepteur KIT muté est suffisante pour induire le processus de cancérogenèse.

Ces modèles de souris reproduisent les GIST familiales humaines, et permettent ainsi de mieux comprendre le rôle de la protéine KIT dans le processus de cancérogenèse des GIST.

Conséquences biologiques de l'activation de KIT dans les GIST

Afin d'examiner les conséquences biologiques du gène *Kit* muté dans les GIST humaines, Hirota *et al.* ont introduit le gène *Kit* muté des GIST dans l'ADNc de lignées cellulaires murines lymphoïdes Ba/F3 dépendantes à l'interleukine 3 (IL-3) ⁴¹. Les cellules Ba/F3 transfectées par le mutant *Kit* de type sauvage servent de contrôle interne. La prolifération des cellules Ba/F3 est estimée par dosage colorimétrique au MTT (bromure de méthyltétrazolium) en présence des ligands IL-3 et SCF recombinants de souris (rmIL-3 et rmSCF) (voir figure 11).

Figure 11 : Effet *in vitro* et *in vivo* chez les souris « nude » de la transfection stable du gène *Kit* muté dans cellules lymphoïdes murines Ba/F3 ⁴¹.



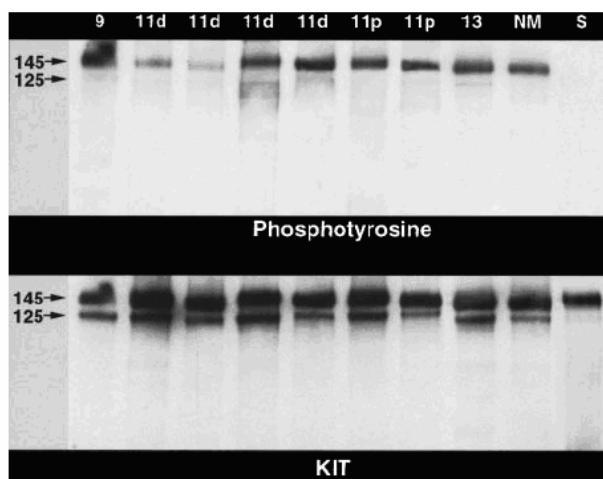
Légende : cellules Ba/F3 normales (□), cellules Ba/F3 transfectées avec le gène *Kit* de type sauvage (○), et cellules Ba/F3 transfectées avec le gène *Kit* muté à l'origine des GIST 1 (▲), GIST 2 (●), GIST 3 (▼), GIST 4 (■), et GIST 5 (x). Les courbes sont réalisées en faisant la moyenne des 5 GIST.

Les cellules Ba/F3 transfectées avec le gène *Kit* normal prolifèrent en présence de rmIL-3 et rmSCF. Les cellules Ba/F3 transfectées avec *Kit* muté prolifèrent en absence de rmIL-3 et rmSCF (voir figure 11A et 11B). Après injection dans les souris « nude », les cellules Ba/F3 avec *Kit* muté prolifèrent de façon autonome et sont à l'origine des GIST (voir figure 11C). Après injection, les cellules Ba/F3 normales et celles contenant le gène *Kit* de type sauvage ne forment pas de tumeurs. L'activation constitutive de la fonction tyrosine kinase des mutants KIT dans les 5 GIST est confirmée dans les cellules Ba/F3 par immunoprécipitation (voir figure 11D) ⁴¹.

↳ **Les mutations du gène *Kit* conduisent à l'activation de KIT, et contribuent ainsi au développement des GIST.**

Rubin *et al.* ont également montré que les mutations du gène *Kit* sont à l'origine d'une activation constitutive de KIT ⁹¹. L'analyse Western Blot montre une expression de la protéine KIT et une phosphorylation de la fonction tyrosine de KIT dans les GIST (voir figure 12).

Figure 12 : Mise en évidence de la phosphorylation de KIT dans les GIST humaines par la technique Western Blot ⁹¹.



Les cellules issues des GIST sont immunoprécipitées avec l'anticorps polyclonal anti-KIT, marquées par la phosphotyrosine (en haut), marquées par KIT (en bas). Les colonnes 9, 11d, 11p, 13 correspondent aux GIST mutées sur les exons 9, 11 et 13, et la colonne NM correspond aux GIST ne présentant aucune mutation détectable. La colonne S sert de témoin négatif : il s'agit d'un séminome qui exprime KIT non phosphorylée. La ligne 125 kDa correspond à la forme immature de KIT et la ligne 145 kDa correspond à la forme mature de KIT complètement glycosylée. Seule la forme mature est essentiellement phosphorylée.

KIT est hautement phosphorylée même dans les GIST qui ne possèdent pas de mutation sur le gène *Kit* (voir figure 12). D'autres mécanismes moléculaires sont donc responsables de l'activation de KIT dans les GIST dépourvues de mutations *Kit*. Une possibilité est l'existence d'autres mutations dans le génome, comme *Pdgfra*. Une autre possibilité est la sur-expression de KIT causée par exemple par une sur-régulation transcriptionnelle ou le traitement d'une protéine défective. Cette dernière hypothèse est improbable car ni les coupes immunohistochimiques, ni l'analyse Western Blot de la tumeur ne montrent une expression plus importante de KIT dans les GIST négatives pour la mutation *Kit* en comparaison avec les autres GIST mutées sur *Kit* ou *Pdgfra*⁹¹.

La phosphorylation constitutive de KIT conduisant à son activation est un phénomène universel dans la pathogénie des GIST, indépendamment de la présence ou non de mutation sur le gène *Kit*⁹¹ : Rubin *et al.* observent une activation du récepteur KIT de type sauvage dans les GIST dépourvues de mutations *Kit*.

Les mutations « gain de fonction » sur le gène *Pdgfra* peuvent aussi être à l'origine des GIST. Leur rôle dans la pathogénie des GIST s'expliquent par au moins 2 mécanismes⁴³ :

- les voies de transduction du signal de PDGFRA sont comparables à celles de KIT, c'est pourquoi les mutations de *Pdgfra* peuvent causer à elles seules la transformation tumorale des ICC ;
- PDGFRA muté reconnaît et active le récepteur KIT de type sauvage *in vitro*. Dans les GIST, il transforme les ICC par activation du récepteur KIT de type sauvage.

La majorité des GIST possèdent des mutations sur le gène *Kit* ou *Pdgfra*. Ces mutations « gain de fonction » participent à la cancérogenèse des GIST : elles consistent en l'activation constitutive de KIT indépendamment de sa liaison avec SCF, entraînant une autophosphorylation du récepteur, une stimulation des voies de signalisation en aval et une prolifération cellulaire incontrôlée⁴⁷.

↳ La protéine KIT joue donc un rôle central dans la pathogénie des GIST. L'activation oncogénique de KIT n'est pas seulement un phénomène fréquent dans ces tumeurs mais est aussi suffisant pour induire le processus de cancérogenèse. KIT est nécessaire pour la différentiation et la prolifération des ICC, donc nécessaire pour la survie des cellules tumorales dans les GIST. Tous ces éléments font de la protéine KIT une cible thérapeutique idéale.

Récemment, les scientifiques ont créé de nouvelles molécules dirigées contre les récepteurs à activité tyrosine kinase, dont KIT : les inhibiteurs de tyrosine kinase ou ITK. La découverte de ce nouveau traitement spécifique ciblé sur la pathogénie moléculaire des GIST montre qu'il est important de reconnaître spécifiquement ces tumeurs et de les distinguer des autres tumeurs mésenchymateuses digestives.

II. Diagnostic des GIST chez l'homme et l'animal

Les récentes découvertes sur l'origine et la pathogénie des GIST ont permis de redéfinir les critères diagnostiques de ces tumeurs, et ont conduit au développement de nouvelles molécules thérapeutiques cibles : les ITK.

A. Caractéristiques cliniques des GIST

1. Critères épidémiologiques

a) Chez l'homme

Les GIST touchent préférentiellement des **individus âgés**. La moyenne d'âge se situe autour de 60 ans^{46,67}. Les GIST sont rares avant l'âge de 40 ans⁷¹. Ces tumeurs ont également été décrites chez l'enfant mais restent exceptionnelles^{19,51}.

Les GIST survenant chez de jeunes individus peuvent parfois être associées à la **neurofibromatose de type I** (maladie de Recklinghausen)⁶⁷ ou à la **triade de Carney**⁷. Cette dernière représente l'association rare d'une GIST, localisée généralement dans l'estomac, d'un chondrome pulmonaire et d'un paragangliome extra-adrénalien qui peut se révéler malin. Elle touche principalement les femmes âgées de moins de 35 ans et sa mortalité globale est de 20 % : il faut donc l'évoquer en présence d'un des éléments chez une jeune femme⁷.

Il existe une **prédisposition génétique** dans les GIST humaines. En effet, des formes familiales de GIST ont été décrites chez l'homme et peuvent être associées à des anomalies pigmentaires^{4,83}. Chez ces malades, les GIST sont généralement multiples.

Il n'existe pas de prédisposition sexuelle nette chez l'adulte, bien que certaines études montrent une très légère prédominance masculine^{8,14,67}.

b) Chez l'animal

Comme chez l'homme, les GIST animales touchent principalement des **sujets âgés** : la moyenne d'âge d'apparition des GIST se situe entre 10 et 11 ans chez le chien^{5,30,52} ; entre 13 et 20 ans chez les équidés¹³.

Il n'existe **pas de prédisposition sexuelle** chez le chien³⁰. Chez les équidés, Del Piero *et al.* observent que sur dix chevaux atteints de GIST, sept sont des femelles¹³. Cependant, d'autres études portant sur un plus grand nombre d'animaux sont nécessaires pour déterminer s'il existe réellement une prédisposition sexuelle chez les équidés.

Il n'existe **pas de prédisposition raciale** chez les équidés¹³, ni chez le chien⁵², bien qu'une étude récente portant sur une vingtaine de GIST canines ait montré que le berger malinois et le berger allemand étaient les plus atteints³⁰. Là encore, on ne peut pas conclure en raison d'un échantillon de petite taille et d'une sur-représentation de ces deux races dans l'étude.

2. Symptômes

Les GIST sont généralement asymptomatiques en raison d'une petite taille et d'une localisation profonde. Leur découverte est le plus souvent fortuite lors d'une intervention chirurgicale, d'un examen radiographique ou endoscopique⁸⁵, ou lors d'une autopsie^{30,34}.

Dans le cas contraire, la symptomatologie est fonction de la taille de la tumeur et de sa localisation anatomique.

Les patients atteints de GIST œsophagiennes présentent une dysphagie⁷². Les principaux symptômes observés chez les patients atteints de GIST gastriques et intestinales sont : des douleurs abdominales (50 à 70 % des cas), des hémorragies digestives (20 à 50 %). Les tumeurs très volumineuses sont facilement palpables à l'examen clinique^{71,85}.

Chez le chien, les signes cliniques sont rares (24 %) et se manifestent par de l'abattement, de l'amaigrissement, des vomissements, une douleur abdominale, une distension abdominale et une masse palpable³⁰.

3. Localisation anatomique des GIST

a) Localisation des GIST primitives

Les GIST peuvent se développer dans tout le tractus digestif, avec toutefois certains segments privilégiés.

(1) Chez l'homme

Dans toutes les publications en médecine humaine, l'estomac constitue le principal site de développement des GIST primitives (60 à 70 % des cas) ; les autres localisations sont, par ordre de fréquence décroissante, l'intestin grêle (20 à 30 % des cas). Un très faible pourcentage de GIST concerne le colon et rectum (5 %) et l'œsophage (moins de 5 % des cas)⁶⁷.

Quelques GIST primitives peuvent également survenir hors du tube digestif *sensu stricto*. En 2000, Ortiz-Hidalgo *et al.* découvrent pour la première fois un cas de GIST dans la paroi de la vésicule biliaire⁸⁴. Cela n'a rien de surprenant, dans la mesure où la vésicule biliaire est une annexe du tube digestif, possède une origine embryologique commune avec ce dernier et a une paroi musculaire lisse. Néanmoins, cette localisation reste exceptionnelle. Un petit nombre de GIST (moins de 5 % des cas) peut se former primitivement dans l'omentum et le mésentère⁶⁹, dans la cavité abdominale et le rétropéritoine⁸.

Il est important de noter que les GIST intra-abdominales sont souvent volumineuses, et qu'il est parfois difficile d'identifier avec certitude leur point de départ (digestif ou extra-digestif)⁶⁷.

(2) Chez l'animal

Les GIST primaires sont fréquentes dans le **cæcum** chez les **équidés**³⁴. Chez le **chien**, les **GIST** se localisent préférentiellement dans le **colon** et **l'intestin grêle** (76 %), puis l'estomac (19 %) et enfin le mésentère (moins de 5 % des cas)³⁰.

b) Localisation des métastases de GIST

Les GIST métastasent de façon prédominante par la voie hématogène ; la voie lymphatique est rarement empruntée⁸².

Les **GIST canines** malignes métastasent préférentiellement dans le **foie**. On peut également observer des métastases dans la rate, le mésentère et les nœuds lymphatiques³⁰.

Les **GIST humaines** malignes métastasent préférentiellement dans le **foie** et le **péritoine**^{15,78}. Les métastases ganglionnaires, pulmonaires et osseuses existent dans les GIST mais restent exceptionnelles (inférieure à 10 % des cas).

4. Imagerie des GIST

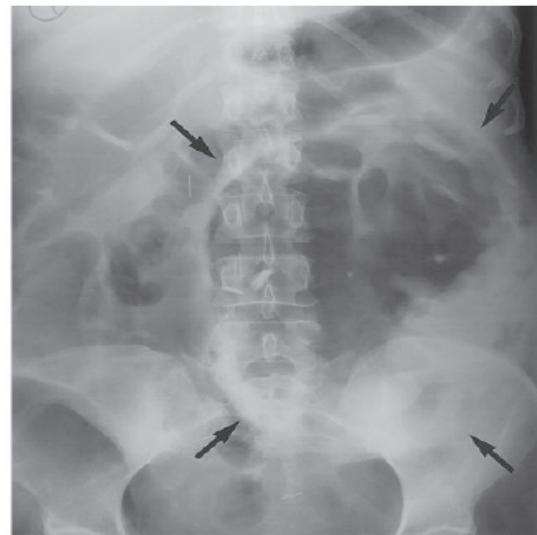
Les examens d'imagerie sont souvent mis œuvre après une suspicion clinique, de manière à mieux localiser et caractériser la tumeur. Mais surtout, l'imagerie se révèle être un outil indispensable lors du suivi des patients GIST après traitement. Nous aborderons ce dernier point dans la troisième partie.

a) Radiographie conventionnelle

(1) Sans préparation

La radiographie sans préparation permet de mettre en évidence quelques cas de GIST, par un effet de masse significatif entraînant la séparation des anses digestives et le déplacement d'autres organes (voir figure 13). La radiographie permet aussi de visualiser des foyers de calcifications à l'intérieur d'une tumeur. Enfin, elle peut mettre en évidence des complications secondaires, telle qu'une obstruction intestinale, bien que cela reste rare.

Figure 13 : Mise en évidence chez l'homme d'une GIST intestinale à l'examen radiographique sans préparation⁵⁹.



La radiographie abdominale de face révèle une masse de densité tissulaire (flèches noires), remplie d'air, dans l'abdomen moyen gauche.

(2) Avec préparation

La radiographie après **transit baryté** permet de mettre en évidence des lésions digestives ; la muqueuse est soit intacte, soit ulcérée (voir figure 14). Mais l'utilisation du transit baryté reste limitée en cas de masses extra-digestives^{55,59}.

Figure 14 : Aspect radiographique d'une GIST gastrique après transit baryté chez l'homme⁵⁹.



Le transit baryté met en évidence une masse homogène bien circonscrite (flèches blanches) dans le corps de l'estomac.

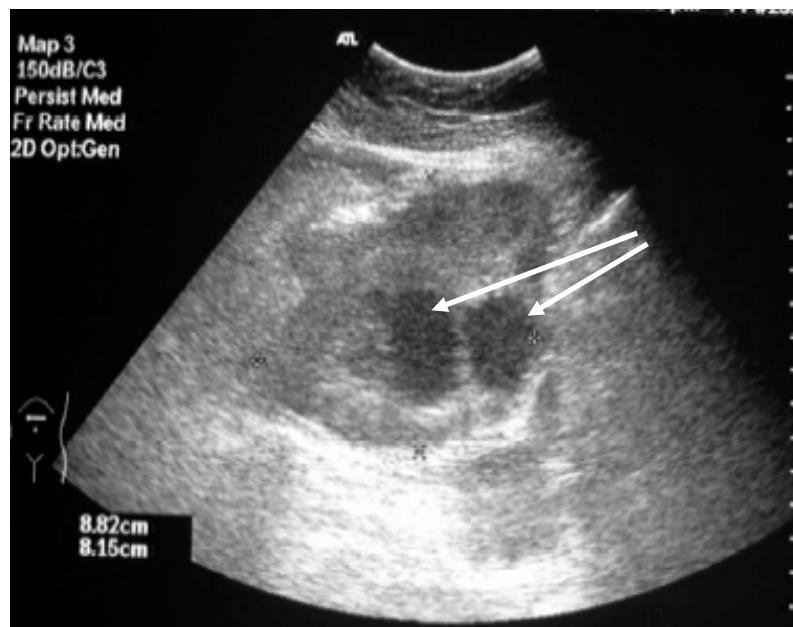
b) Endoscopie digestive

L'endoscopie digestive permet de mettre en évidence une **lésion digestive** dans la **sous-muqueuse**, parfois ulcérée. Cette technique permet également de pratiquer des **biopsies** lésionnelles et en périphérie, mais la sensibilité des biopsies dans le diagnostic des GIST est peu fiable car les prélèvements sont souvent trop superficiels. Par ailleurs, ce geste augmente le risque de dissémination de cellules tumorales⁴⁶.

c) Echographie abdominale

L'échographie abdominale permet d'apprécier la structure interne des GIST primitives ou métastatiques. Les **GIST primitives** apparaissent habituellement comme des **masses homogènes hypoéchogènes** en étroite relation avec le tube digestif. Les tumeurs plus volumineuses apparaissent plus hétérogènes avec des zones nécrotiques, kystiques et hémorragiques (voir figure 15). Les métastases des GIST apparaissent hypoéchogènes dans le parenchyme hépatique⁵⁵.

Figure 15 : Aspect échographique d'une GIST humaine⁵⁵.

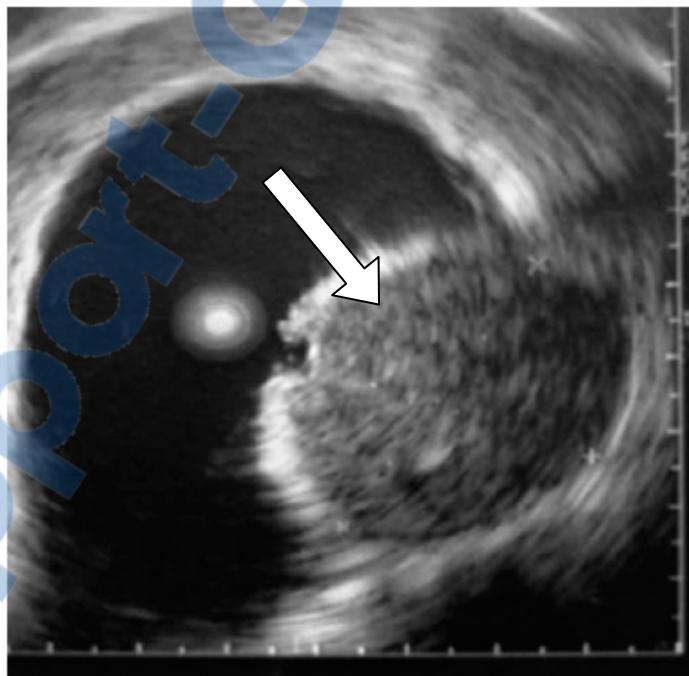


Une coupe transversale de l'abdomen au niveau de l'estomac met en évidence une volumineuse masse hétérogène extra-digestive, dérivant de la grande courbure de l'estomac, et contenant des cavités anéchogènes (flèches blanches), compatibles avec des kystes. Il s'agit d'une GIST gastrique exophytique.

d) Echo-endoscopie

L'écho-endoscopie ou EUS (pour Endoscopic Ultrasonography) est un examen qui combine l'endoscopie à l'échographie. Une sonde échographique miniaturisée, fixée à l'extrémité d'un endoscope souple, est introduite dans la lumière digestive et positionnée au voisinage de l'organe à étudier, permettant ainsi de rechercher ou d'explorer des lésions du tube digestif ou des organes de voisinage. L'EUS est actuellement l'examen le plus performant pour étudier la paroi de l'œsophage, de l'estomac ou du duodénum. Elle permet ainsi une caractérisation plus précise des lésions des différentes couches digestives (voir figure 16), elle visualise les zones de nécrose, les zones kystiques intra-tumorales et les nœuds lymphatiques satellites, et fait la distinction entre les lésions extramurales, les compressions extrinsèques, les lésions vasculaires et les tumeurs solides. Enfin, elle permet de réaliser des biopsies plus profondes⁵⁵.

Figure 16 : GIST gastrique de petite taille observée par EUS⁵⁵.



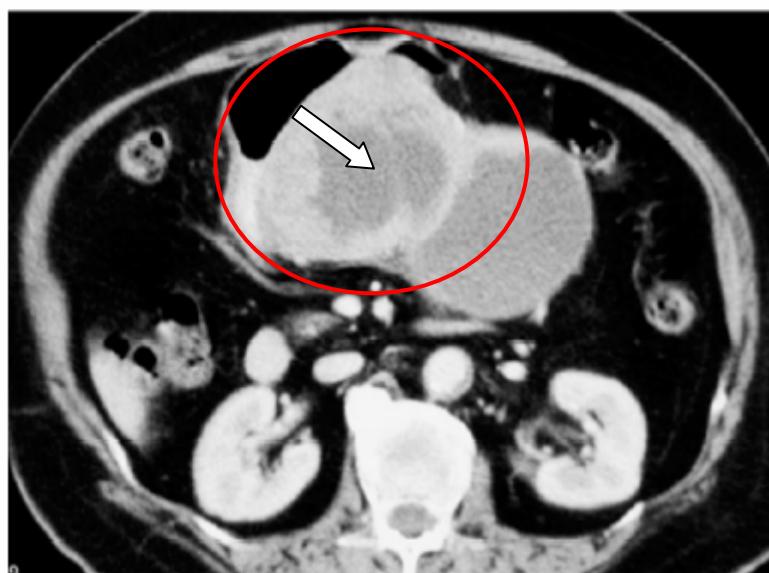
On identifie une masse pariétale (flèche blanche) faisant protrusion dans la lumière digestive. Cette masse est homogène, de même échogénicité que les structures voisines, et se développe à partir de la musculeuse. La structure en couches est conservée.

e) Tomodensitométrie ou scanner

Le scanner est un bon outil pour mettre en évidence les GIST volumineuses. Il permet de visualiser les différentes composantes tumorales. En effet, ces lésions sont composées de zones kystiques et de zones tissulaires rehaussées par le contraste, parfois nécrosées en leur centre. Le scanner permet également de mieux préciser les limites de la tumeur⁵⁵.

Le scanner est capable de caractériser et de décrire des masses volumineuses exophytiques, de faire un bilan d'extension local et général, de même que guider une biopsie tissulaire. Les tumeurs de petite taille apparaissent typiquement comme des masses tissulaires homogènes à marges nettes avec augmentation modérée du contraste. Les tumeurs volumineuses ont tendance à apparaître sous la forme de masses plutôt hétérogènes avec des ulcérations de la muqueuse, une zone de nécrose centrale et cavitaire (voir figure 17).

Figure 17 : Scanner (coupe axiale, fenêtre étroite) correspondant à l'échographie précédente d'une GIST humaine sur la figure 15⁵⁵.

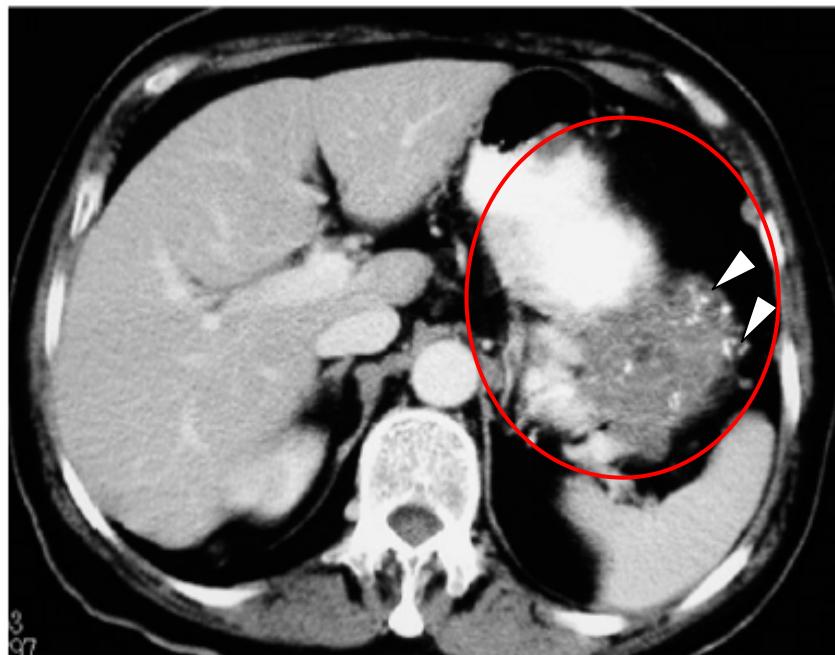


L'examen montre une masse extra-digestive (ellipse rouge) issue de la grande courbure de l'estomac, contenant une zone de nécrose centrale irrégulière (flèche blanche) et une augmentation modérée du contraste en périphérie de la partie solide.

L'augmentation de contraste périphérique évoque une tumeur viable, tandis qu'une atténuation basse centrale correspond à un changement kystique, une nécrose ou une hémorragie. Les calcifications sont inhabituelles dans les GIST. Au scanner, elles

apparaissent sous la forme de petites taches blanches dispersées dans la tumeur (voir figure 18).

Figure 18 : Mise en évidence d'une GIST humaine au scanner (coupe axiale, fenêtre étroite)⁵⁵.

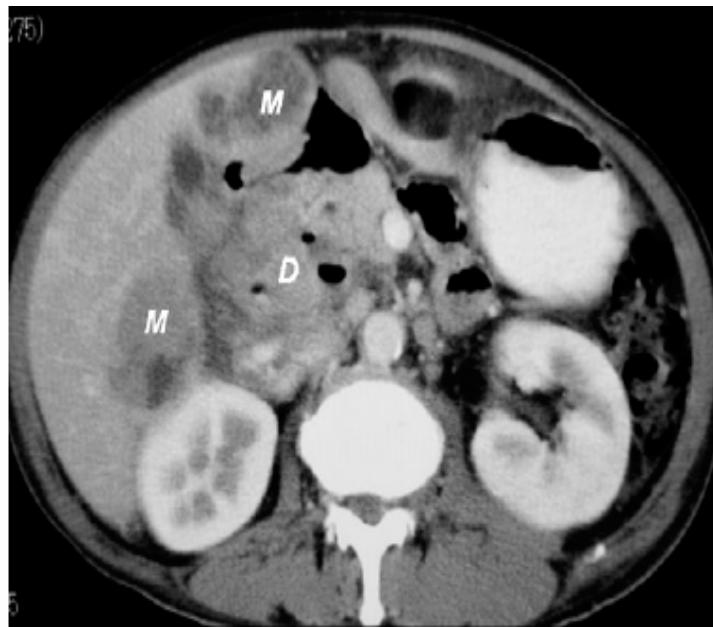


L'examen confirme la présence d'une masse intra-abdominale d'origine gastrique (ellipse rouge), hétérogène, très contrastée, contenant de petites taches blanches, correspondant à des foyers de calcifications (têtes de flèche blanche).

L'utilité du scanner pour les GIST varie selon leur localisation : cet examen est particulièrement utile pour les GIST de l'intestin grêle ou de l'omentum, où l'endoscopie n'est pas accessible.

Même si les métastases ganglionnaires sont exceptionnelles dans les GIST, elles doivent être systématiquement recherchées. En présence d'une volumineuse tumeur avec hypertrophie des nœuds lymphatiques, on pensera plutôt en première intention à un adénocarcinome ou à un lymphome. Le scanner est une technique sensible pour détecter les métastases du foie, de l'omentum, de la cavité péritonéale et de la paroi abdominale. Les métastases hépatiques apparaissent habituellement hypodenses ou isodenses, comme on peut le voir sur la figure 19.

Figure 19 : Scanner (coupe axiale, fenêtre étroite) chez l'homme, mettant en évidence une volumineuse GIST duodénale (D) avec des métastases hépatiques multifocales (M)⁵⁵.



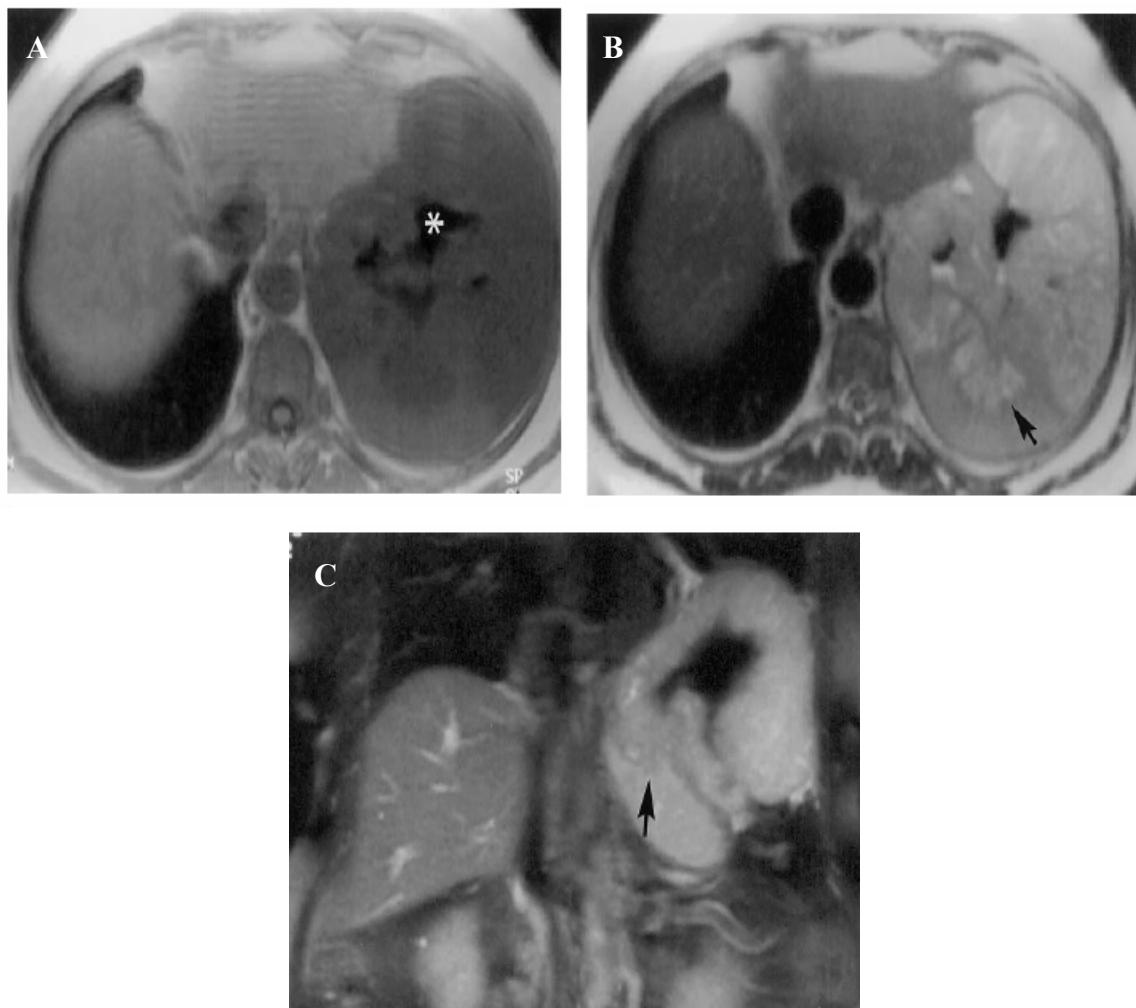
f) Imagerie à résonance magnétique (IRM)

Comparé au scanner, l'imagerie à résonance magnétique ou IRM offre une information supplémentaire sur la caractérisation tissulaire des GIST. En général, un tissu lésé présente à l'IRM un signal modifié par rapport au tissu sain correspondant. C'est ce qui fait tout l'intérêt de cette technique en médecine, tant humaine que vétérinaire.

Les parties solides de la tumeur présentent typiquement un signal d'intensité basse ou intermédiaire sur la coupe T1, un signal de forte intensité sur la coupe T2. L'administration de gadolinium permet le renforcement du contraste dans les tissus tumoraux et aide à mieux décrire les zones de nécrose. Les zones d'hémorragie dans la tumeur varient d'un signal de forte intensité à un signal de faible intensité, à la fois sur les coupes T1 et T2, en fonction de l'ancienneté de l'hémorragie⁵⁹.

L'IRM offre une meilleure résolution en contraste que le scanner, et une image multiplanaire directe, qui aide à localiser la tumeur et décrire ses liens avec les organes adjacents et les vaisseaux (voir figure 20). Cet examen présente un grand intérêt pour les GIST volumineuses exophytiques et celles localisées au niveau de l'anorectum^{55,59}.

Figure 20 : Mise en évidence à l'IRM d'une GIST gastrique chez une femme de 66 ans présentant une douleur abdominale crâniale gauche⁵⁹.



- (A) Coupe axiale pondérée en T1 mettant en évidence une masse sous-diaphragmatique hypodense et cavitaire (*) dans l'abdomen crânial gauche ;
- (B) Sur la coupe axiale pondérée en T2, l'augmentation de l'intensité du signal permet de visualiser dans la masse des zones d'hémorragie focales (flèche noire) ;
- (C) La coupe coronale pondérée en T2 montre que la masse est origininaire du fundus gastrique (flèche noire).

Le scanner et l'IRM sont donc essentiels pour détecter et délimiter les lésions tumorales primitives et métastatiques.

g) Tomographie à émission de positons ou Pet-scan

La tomographie à émission de positons ou Pet-scan est une technique d'imagerie médicale nucléaire non invasive qui permet de mesurer en 3 dimensions l'activité

métabolique d'un organe après injection intraveineuse d'un traceur, le plus souvent le ¹⁸fluoro-déoxy-glucose ou ¹⁸FDG, marqué par un atome radioactif⁵⁵.

Le Pet-scan est un examen d'imagerie complémentaire du scanner et de l'IRM en cas de doute sur une lésion métastatique. Il est également très utile dans le suivi des effets thérapeutiques de l'imatinib (*voir III*). L'image obtenue permet ainsi de différencier une tumeur active d'un tissu nécrotique ou d'un tissu cicatriciel⁵⁵.

L'imagerie nous offre ainsi de précieux renseignements en permettant de distinguer les tumeurs d'origine mésenchymateuse des autres tumeurs digestives (lymphome, tumeurs épithéliales). En contre partie, elle ne permet pas de différencier les tumeurs mésenchymateuses entre elles. Il faut alors recourir aux examens macroscopiques, histologiques et immunohistochimiques pour affiner le diagnostic des GIST.

B. Caractéristiques macroscopiques et histologiques des GIST

Les GIST, humaines et animales, ont des caractéristiques morphologiques et histologiques très variées.

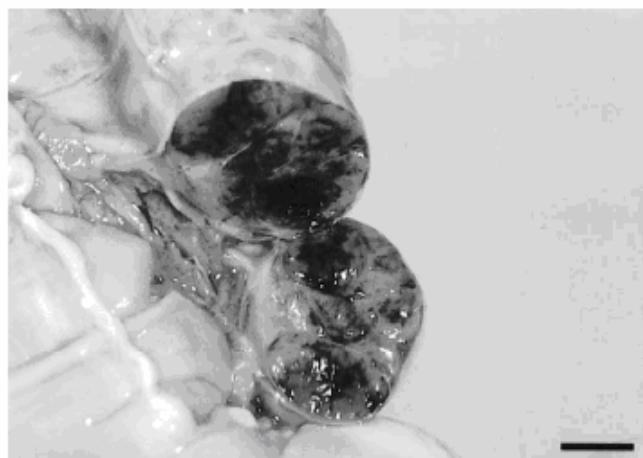
1. Caractéristiques macroscopiques

Le tube digestif est constitué de quatre couches concentriques qui sont, en partant de la lumière : la muqueuse, la sous-muqueuse, la couche musculaire encore appelée *muscularis propria*, et la séreuse¹².

Les GIST se développent à partir de la *muscularis propria*, et peuvent s'étendre jusqu'à la sous-muqueuse, ou la séreuse lorsqu'elles sont volumineuses^{9,13,99}.

Les GIST primitives humaines et animales se présentent le plus souvent sous la forme de tumeurs isolées (*voir figure 21*)^{13,34,82}.

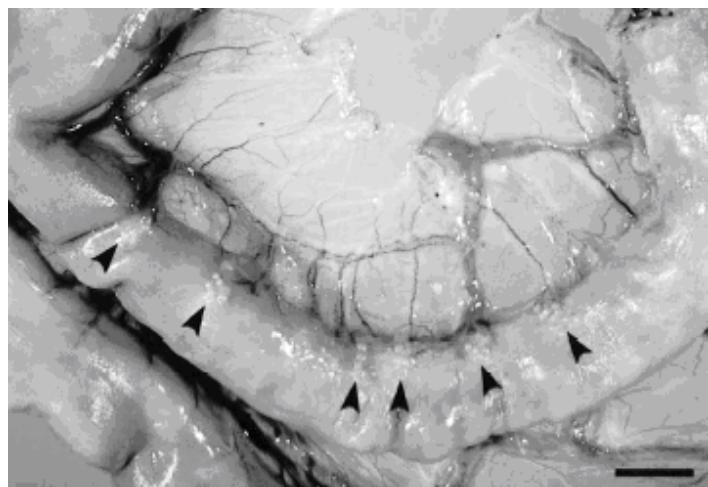
Figure 21 : Vue macroscopique d'une GIST unique cœcale chez un poney¹³.



Masse encapsulée sessile, pluriloblée. Un réseau mésenchymateux sépare les lobules d'un tissu gélatineux. Echelle = 1 cm.

Parfois, les GIST se présentent sous la forme de tumeurs multiples chez l'homme (< 5% des cas)⁸². Des GIST multiples ont également été décrites chez le cheval (voir figure 22)¹³.

Figure 22 : Vue macroscopique de GIST multiples localisées dans l'iléon, chez un équidé¹³.



On observe de nombreux nodules blanchâtres (têtes de flèche noires) répartis sur la séreuse. Echelle = 2,5 cm.

Leur **taille** est extrêmement variable, allant de la minuscule tumeur de quelques millimètres de diamètre à la volumineuse masse de plusieurs centimètres de diamètre^{50,85}.

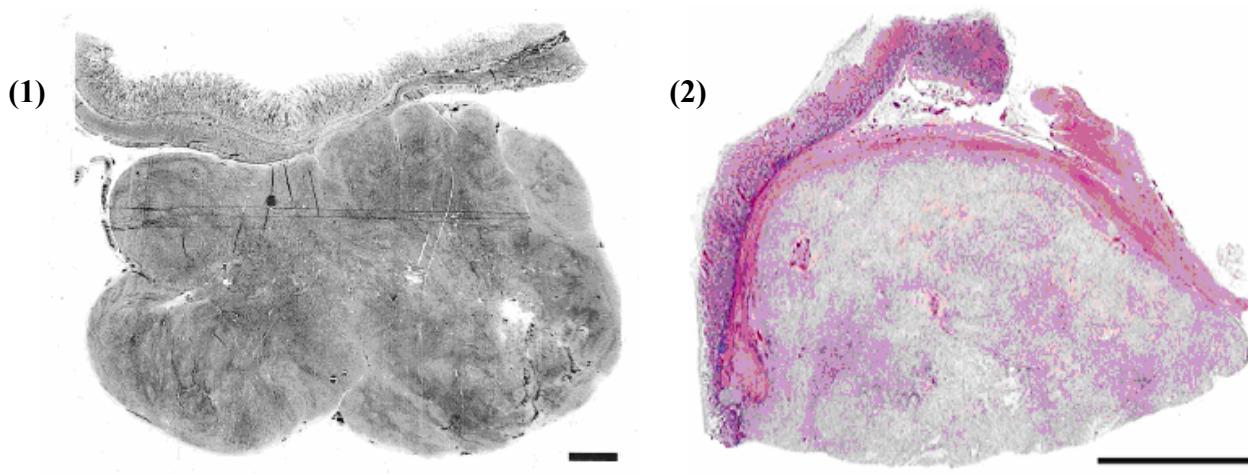
En coupe, les tumeurs sont grossièrement arrondies, bien délimitées, pseudo-encapsulées, de consistance plus ou moins ferme et de couleur blanchâtre^{13,85}. Les lésions de petite taille sont habituellement homogènes. Les lésions plus volumineuses présentent souvent des remaniements nécrotiques ou hémorragiques, voire pseudo-kystiques⁷¹.

2. Caractéristiques histologiques

L'examen histologique des GIST s'effectue sur des coupes de tissus fixées et colorées. La coloration utilisée en routine dans les laboratoires est l'**Hématoxylène-Eosine (HE)**. L'hématoxylène colore les noyaux en bleu noir et l'éosine colore en rose plus ou moins intense le cytoplasme des cellules et les structures extracellulaires, qui sont dits «éosinophiles».

Les **GIST animales et humaines** présentent des **similitudes histologiques**. En coupe, à faible grossissement, on observe que ces tumeurs se développent à partir de la muscleuse et sont bien délimitées (voir figure 23)^{30,99}.

Figure 23 : Aspect histologique de GIST animales à faible grossissement (coloration HE)^{30,99}.

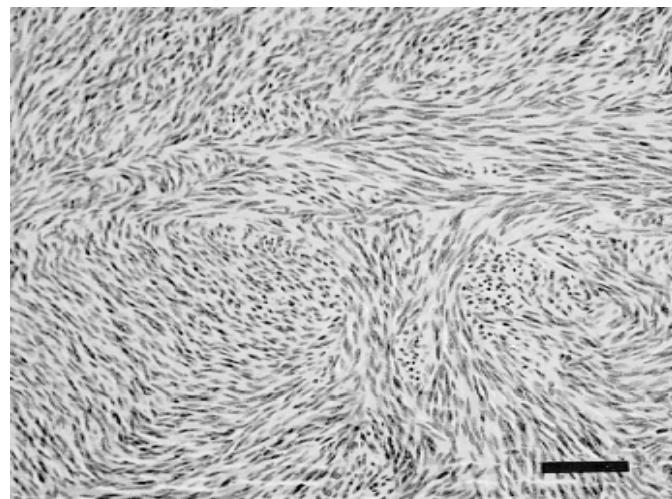


- (1) *GIST duodénale canine : masse exophytique dérivant de la tunique musculaire ; la muqueuse intestinale reste intacte. Echelle = 0.2 cm*³⁰;
- (2) *GIST gastrique chez un chimpanzé : la tumeur bien délimitée, non encapsulée, provenant de la couche musculaire et s'étendant jusqu'à la sous-muqueuse ; la muqueuse est préservée. Echelle = 1 cm*⁹⁹.

a) Type fusiforme

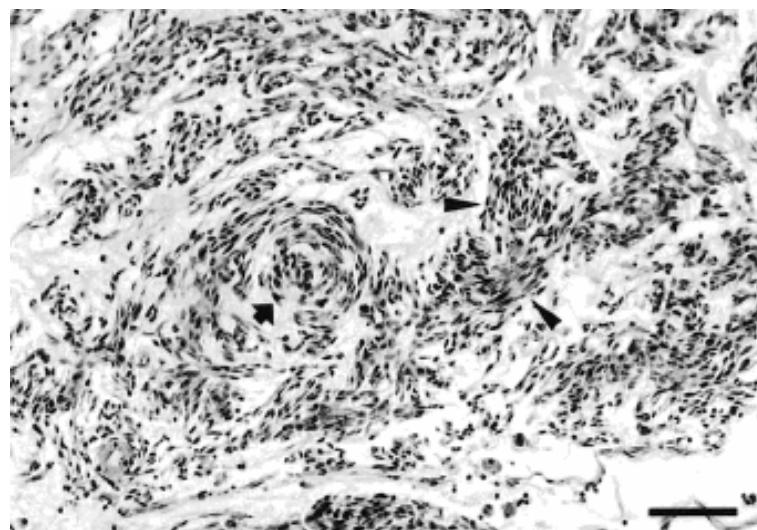
L'aspect microscopique le plus typique des GIST est le type fusiforme, observé dans environ **70 %** des cas. Il est caractérisé par une prolifération relativement dense de **cellules fusiformes** formant des **faisceaux entrelacés** (voir figure 24), pouvant parfois adopter une disposition pseudo-palissadique (voir figure 25). Les cellules tumorales sont caractérisées par un **cytoplasme peu abondant, non éosinophile** (basophile), et par un noyau régulier, à chromatine relativement dense (voir figure 26). Le cytoplasme peut contenir une vacuole juxta-nucléaire (5 % des cas). Le stroma est habituellement peu abondant, typiquement collagénique. Les GIST étant très vascularisées, les vaisseaux intra-tumoraux sont nombreux^{9,13,30,59}.

Figure 24 : Aspect histologique d'une GIST canine jéjunale de type fusiforme³⁰.



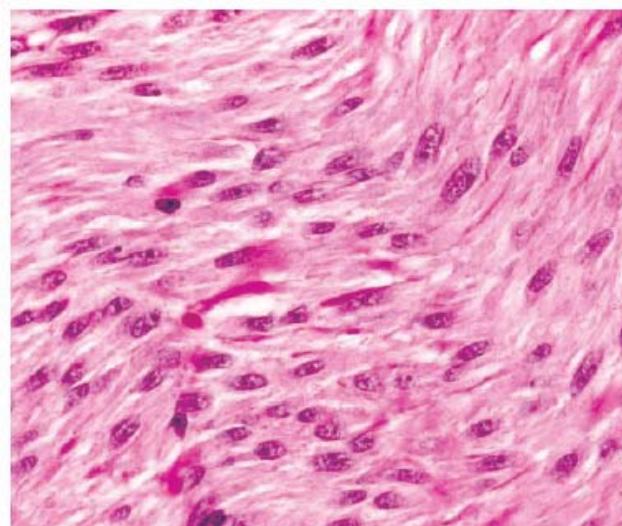
Tumeur riche en cellules fusiformes, organisées en flux ou faisceaux entrelacés (coloration HE, échelle = 50μm).

Figure 25 : Aspect histologique d'une GIST gastrique de type fusiforme chez un équidé¹³.



Faisceaux lâches de cellules fusiformes organisés en volute (flèche noire) ou en palissades (têtes de flèche noire) ; coloration HE, échelle = 190 µm.

Figure 26 : Aspect histologique d'une GIST humaine de type fusiforme⁵⁹.



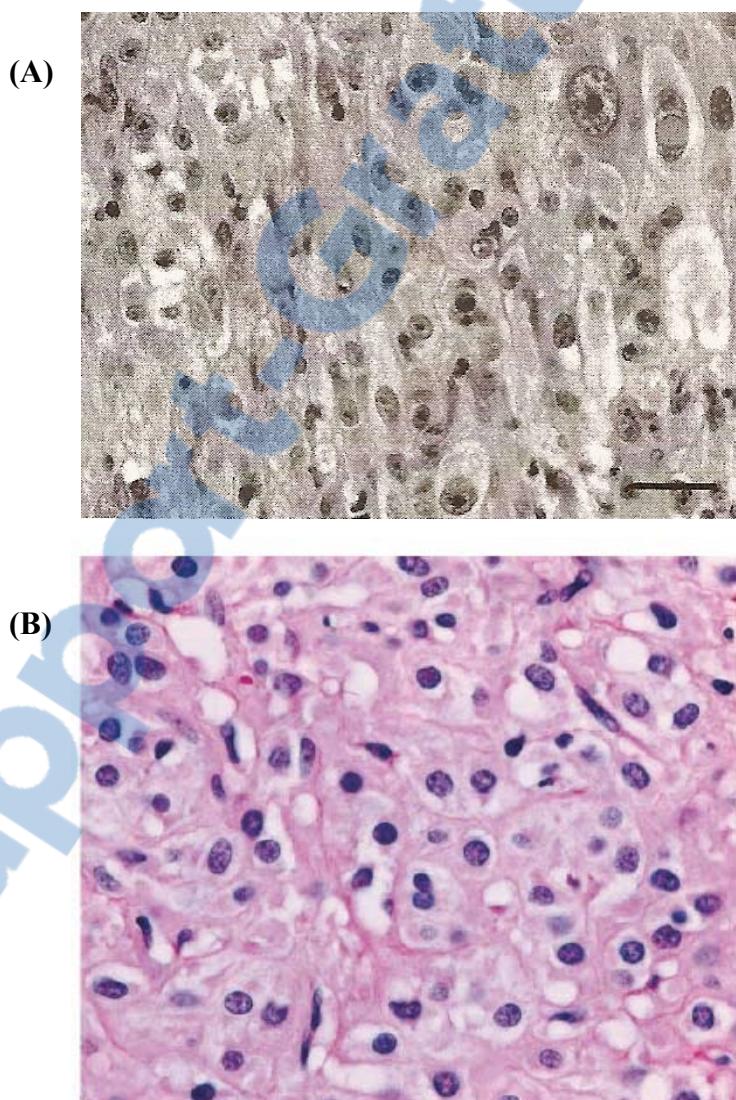
Chaque cellule tumorale fusiforme se caractérise par un cytoplasme peu abondant et un volumineux noyau allongé (coloration HE, grossissement x 40).

b) Type épithélioïde

Le deuxième aspect microscopique typique des GIST est l'aspect épithélioïde, observé dans environ **20 % des cas**. Les tumeurs sont constituées de **cellules rondes à polygonales**, organisées en massifs relativement volumineux. Les cellules tumorales sont de taille moyenne et sont caractérisées par un cytoplasme abondant, parfois vacuolisé, souvent clair, un noyau en position centrale à chromatine relativement dense (voir figure 27)^{50,59}.

L'aspect épithélioïde est parfois associé à des zones d'aspect fusiforme : ces formes dites mixtes représentent environ 5 % des cas⁹.

Figure 27 : Aspect histologique des GIST de type épithélioïde^{50,59}.



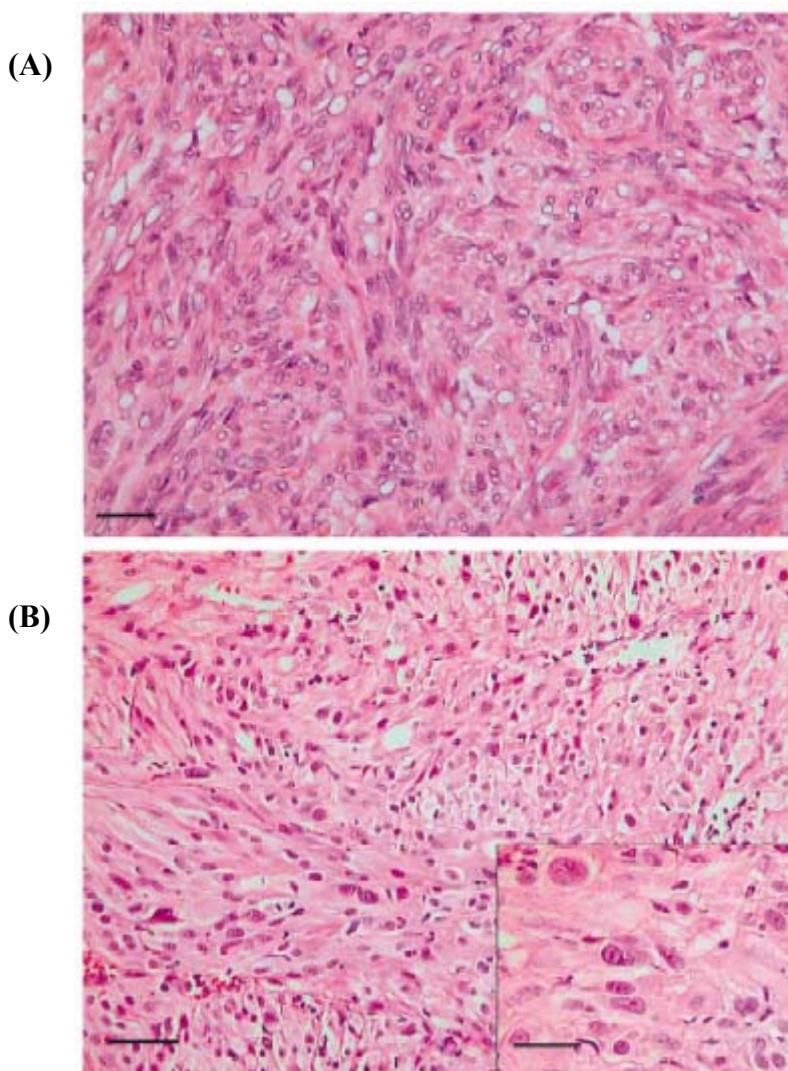
- (A) *GIST canine : les cellules tumorales sont polygonales, caractérisées par une anisocaryose et un cytoplasme abondant éosinophile, parfois vacuolisé (coloration HE, échelle = 25 µm)*⁵⁰ ;
(B) *GIST humaine : les cellules tumorales sont rondes et présentent un cytoplasme clair et un noyau en position centrale (coloration HE, grossissement x 40)*⁵⁹.

c) Cas particuliers

Des variantes histologiques rares existent et sont parfois trompeuses.

La **forme pléiomorphe** est caractérisée par la présence de cellules tumorales de grande taille, à noyau très volumineux, de forme irrégulière, à chromatine nucléolée (voir figure 28); certaines cellules peuvent être multinucléées ; le stroma est abondant et souvent remanié. Un aspect pléiomorphe s'observe souvent de manière focale, à proximité d'une zone remaniée. La présence d'un tel aspect de façon diffuse est inhabituelle et doit amener, avant de conclure au diagnostic de GIST pléiomorphe, à éliminer formellement un léiomyosarcome.

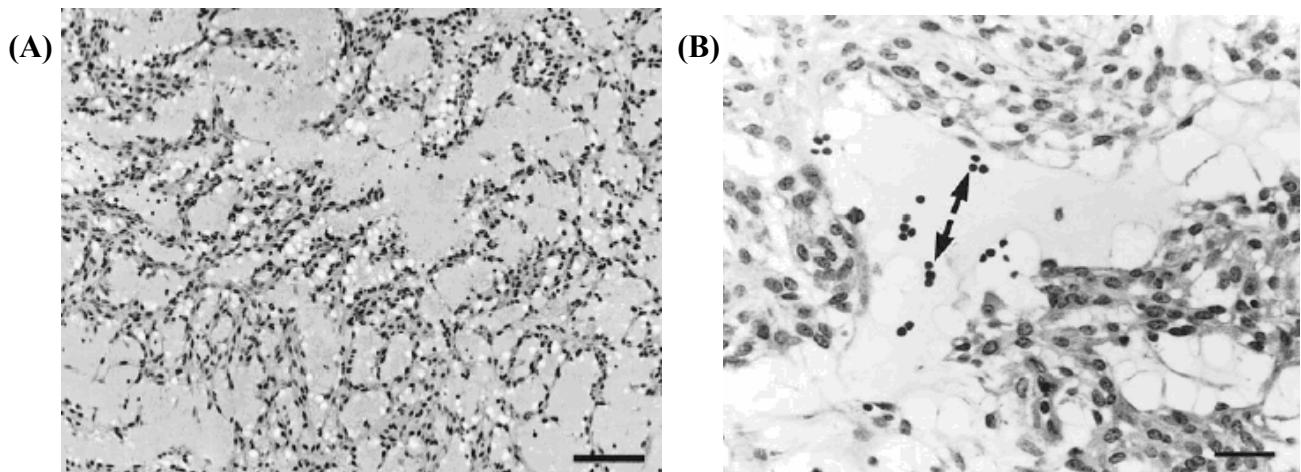
Figure 28 : Aspect histologique de GIST canines de type pléiomorphe (coloration HE)⁵.



- (A) *GIST duodénale composée de cellules fusiformes pléiomorphes, sous forme de faisceaux tressés (aspect « storiforme »), échelle = 30 µm ;*
(B) *GIST intestinale composée de cellules épithélioïdes pléiomorphes, échelle = 50 µm. Encart : détail de cellules épithélioïdes, échelle = 20 µm.*

La **forme à stroma myxoïde** est caractérisée par un stroma, riche en mucine, où sont dispersés des faisceaux de cellules fusiformes⁹. Cette forme est la plus fréquente dans les GIST équines (voir figure 29)^{13,34}.

Figure 29 : Aspect histologique de GIST cœcales d'aspect myxoïde chez des équidés^{13,34}.



- (A) Faisceaux de cellules fusiformes dispersés dans un stroma riche en mucine, échelle = 190 µm¹³ ;
- (B) Les espaces entre les faisceaux sont largement comblés par un fluide mucinique, contenant des erythrocytes (flèches noires), échelle = 30 µm³⁴.

Min découvre en 1992 que des tumeurs stromales localisées dans l'intestin grêle, les SIST (pour Small Intestinal Stromal Tumors), contiennent un matériel extracellulaire particulier, correspondant à des **globules de collagène**⁷⁶. Ces globules, plus connus sous le nom de **fibres skénoïdes**, ont par ailleurs été observés dans des GANT et des schwannomes, suggérant ainsi une possible origine nerveuse des SIST.

Sur le plan histologique, les fibres skénoïdes s'organisent en globules extracellulaires très **éosinophiles** autour des cellules tumorales fusiformes (voir figure 30) et sont fortement positifs pour l'acide périodique de Schiff.

d) *Variations histologiques en fonction de la localisation anatomique*

L'aspect histologique peut varier avec le siège de la tumeur. Les tumeurs œsophagiennes, coliques et rectales sont habituellement de type fusiforme. Les tumeurs gastriques ont un aspect histologique plus variable, le plus souvent fusiforme, parfois pseudo-palissadique, assez fréquemment épithélioïde⁷¹. Les tumeurs stromales de l'intestin grêle (SIST) contiennent parfois des fibres skénoïdes (voir paragraphe précédent)⁷⁶.

Mais si l'examen histologique permet de mieux caractériser ces tumeurs, il ne suffit pas à poser le diagnostic définitif de GIST. Il faut alors recourir aux examens immunohistochimiques.

C. Caractéristiques immunohistochimiques des GIST

L'immunohistochimie a joué, comme nous l'avons vu, un rôle essentiel dans l'émergence et la validation du concept de GIST : elle conserve actuellement une importante fonction diagnostique.

L'immunohistochimie consiste à rechercher et à identifier des protéines fabriquées par les cellules tumorales au moyen d'anticorps. Dans les GIST, la technique de détection du complexe antigène-anticorps fait généralement appel au « complexe avidine-biotine-peroxydase » (ABC/PO) ^{30,64,96}.

Nous étudierons successivement les marqueurs caractéristiques des GIST, KIT (CD117), CD34 et PDGFRA ; les nouveaux marqueurs potentiels des GIST (protéine DOG1 et protéine kinase C) ; et les autres marqueurs immunohistochimiques susceptibles de compléter la caractérisation phénotypique des GIST.

1. La protéine KIT (CD117)

La protéine KIT est actuellement le marqueur diagnostique fondamental des GIST, car il est extrêmement sensible et spécifique ⁹⁶. Les GIST sont généralement fortement positives pour la protéine KIT ⁴⁶. Cependant, l'immunodétection de cette protéine pose quelques problèmes pratiques, dans sa réalisation et son interprétation.

a) Immunodétection de KIT : aspects techniques

Le premier problème pratique est le choix de l'anticorps. Plusieurs anticorps dirigés contre la protéine KIT sont en effet actuellement commercialisés mais les études comparatives, permettant d'évaluer objectivement leur sensibilité et leur spécificité sont rares. Les deux anticorps les plus fréquemment utilisés sont l'anticorps polyclonal A4502 (Dako, Glostrup, Danemark) et l'anticorps monoclonal SC168 ou C-19 (Santa Cruz, USA). D'autres

anticorps sont commercialisés : anticorps 566 (MBL), NCL-CD117 (Novocastra), SC13508, SC1494 et SC168 (Santa Cruz), MS271 (Neomarkers)⁹.

Beaucoup de variations dans les spectres de marquage de ces différents anticorps ont été observées. Selon Miettinen *et al.*, les meilleurs anticorps sont les anticorps polyclonaux chez l'homme. Les anticorps monoclonaux réagissent de manière inconstante avec les tissus et n'identifient de ce fait qu'un petit nombre de GIST⁶⁸. Plus qu'à des différences réelles de spécificité ou de sensibilité des anticorps, ces différences sont sans doute largement secondaires à des différences dans les techniques d'immunodétection utilisées, incluant l'utilisation de dilutions différentes, des temps de fixation différents, et l'emploi, ou non, de techniques de restauration antigénique⁹.

Le recours, ou non, à une technique de restauration antigénique est le second problème majeur posé par l'immunodétection de KIT. Le recours à cette technique a été prôné pour assurer une sensibilité satisfaisante. Plusieurs auteurs ont fortement contesté cette pratique, comme susceptible d'être responsable de faux positifs si la dilution primaire de l'anticorps n'est pas adaptée. Le consensus international de 2002 n'a pas donné de recommandation précise sur ce point technique. Le consensus de l'ESMO (pour European Society for Medical Oncology) a recommandé de ne pas utiliser de technique de restauration antigénique⁹. Le consensus francophone pour la prise en charge des GIST a adopté une position plus précise : conformément aux données de la seule étude comparative actuellement disponible, il propose d'utiliser, dans les tissus paraffinés, l'anticorps A4502 (Dako), soit à la dilution de 1/300 après restauration antigénique (en l'occurrence, en tampon citrate pH = 6), soit à la dilution de 1/50 sans restauration antigénique¹⁰⁸.

La standardisation de l'immunodétection de KIT reste toujours un point crucial et sujet à polémique. Les variations inter-laboratoires dépendent autant de conditions pré-analytiques (comme la fixation et la technique histologique) que de la technique immunohistochimique elle-même (incluant la technique éventuelle de restauration antigénique, le choix de l'anticorps et la technique de révélation). S'il est bien entendu nécessaire de tendre à une standardisation des outils utilisés, il est aussi important que chaque laboratoire travaille au mieux dans son propre environnement en prenant soin d'avoir des contrôles positifs et négatifs^{9,68}.

Il faut enfin préciser que les anticorps disponibles ne permettent pas de distinguer, sur coupe tissulaire, entre la forme quiescente et la forme active phosphorylée de la protéine KIT. Seules les techniques plus sophistiquées d'immuno-empreinte (Western blot) peuvent permettre de répondre à cette question, dans le cadre de protocoles expérimentaux⁹.

b) Immunodétection de KIT : interprétation

Avant toute analyse d'immunomarquage, il est important de vérifier la positivité des contrôles internes. Les plus utilisés sont les mastocytes, toujours présents dans le tissu péritumoral, notamment dans le chorion de la muqueuse digestive, et souvent présents au sein de la tumeur elle-même ; en raison de leur distribution, les mastocytes peuvent servir de contrôles internes dans tous les types de prélèvement, y compris les biopsies endoscopiques. Un deuxième contrôle interne, utilisable uniquement sur pièce d'exérèse chirurgicale, est constitué par les ICC, principalement localisées autour du plexus myentérique d'Auerbach⁹.

L'interprétation de l'immunomarquage peut présenter des difficultés liées à trois facteurs principaux : la localisation cellulaire du marquage, l'intensité apparente du marquage, et enfin le nombre de cellules positives.

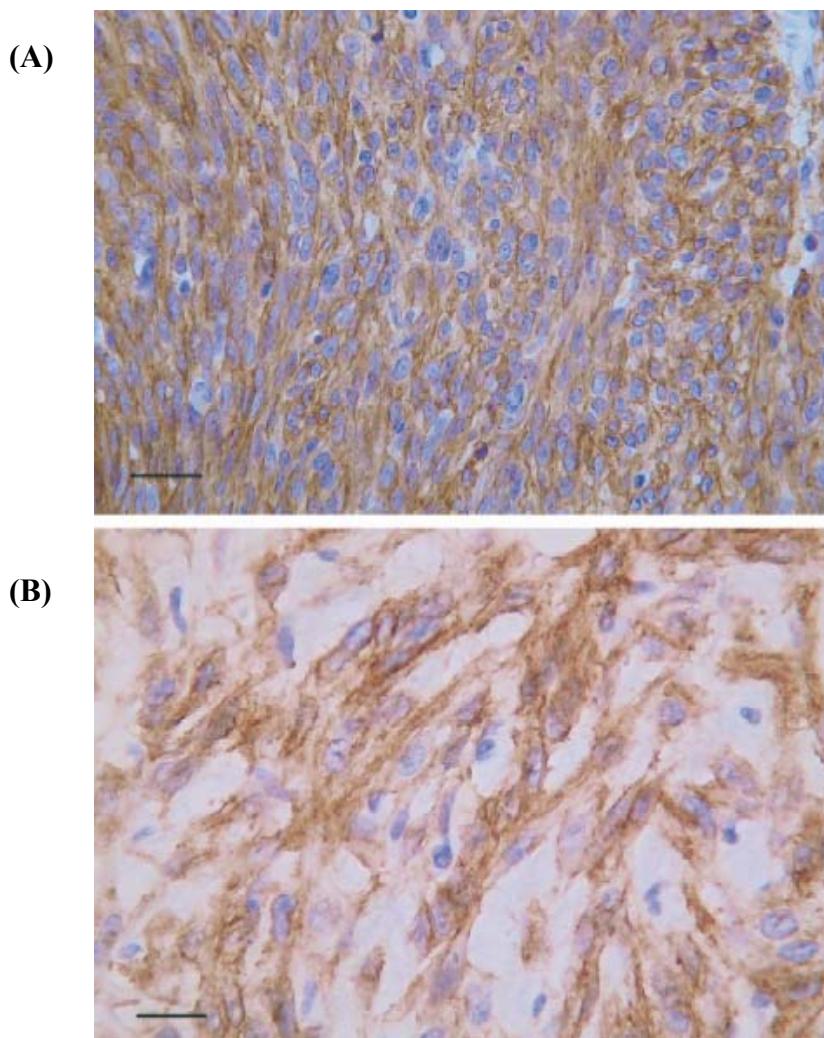
La **localisation cellulaire** typique du marquage pour la protéine KIT dans les GIST est cytoplasmique avec un renforcement membranaire habituellement bien marqué (voir figure 30A). Il est également possible d'observer un marquage cytoplasmique en grains périnucléaires, de type golgien (aspect en dots) (voir figure 30B) ; ce marquage en grains peut être isolé ou associé à un marquage cytoplasmique diffus. Les deux types de marquage peuvent s'associer dans la même tumeur^{5,27,30,74}.

L'**intensité du marquage** pour KIT dans les GIST est variable. Le plus souvent, il est intense et homogène (voir figure 30A)^{5,27}. Les GIST de type épithélioïde présentent une positivité KIT plus faible que les GIST de type fusiforme^{67,95}, sans qu'aucune signification particulière, notamment pronostique, ne puisse en être tirée.

Le **pourcentage de cellules tumorales positives pour KIT** est également variable. La plupart des GIST présente une positivité diffuse et homogène de la totalité ou de la quasi-totalité des cellules tumorales (90 %). Dans certains cas, seule une minorité de cellules

tumorales, de 10 à 20 % sont KIT positives. Il n'y a pas d'indication claire sur la limite inférieure du pourcentage de cellules positives nécessaire pour retenir le diagnostic de GIST, et de quelle façon ces cellules doivent être positives pour que le résultat soit significatif. Il faudra cependant faire particulièrement attention à l'interprétation d'une positivité très focale (moins de 10 % des cellules tumorales), restreinte à de rares cellules isolées ou à des groupes de cellules dispersées. Il convient notamment de les différencier des mastocytes et des ICC, qui servent de témoins internes²⁷.

Figure 30 : Exemples d'immunomarquage des GIST canines avec CD117 (Méthode Streptavidine-peroxydase, coloration HE)⁵.



- (A) *GIST duodénale : cellules fusiformes avec une immunoréactivité cytoplasmique forte et homogène pour la protéine KIT. Echelle = 50 µm ;*
(B) *GIST cœcale : cellules épithélioïdes présentant une immunoréactivité cytoplasmique granulaire pour la protéine KIT « marquage en zone péri-golgienne ». Echelle = 20 µm.*

c) Le cas particulier des GIST KIT négatives

Si le terme de GIST doit être en théorie réservé aux seules tumeurs KIT positives, il existe cependant de rares exceptions de GIST authentiques où la protéine KIT n'est pas détectable par immunohistochimie. Les GIST KIT négatives représentent au maximum 5 % des cas de GIST^{9,27}.

Avant de proposer le diagnostic de GIST KIT négatives, des précautions doivent être prises pour éliminer l'hypothèse d'un faux négatif. Plusieurs possibilités doivent être recherchées :

- des lésions inertes en immunohistochimie (problèmes de fixation, lames blanches trop longtemps stockées, ...);
- des erreurs techniques, comme par exemple une mauvaise dilution de l'anticorps primaire ;
- un problème d'échantillonnage dans une lésion présentant une expression hétérogène de KIT : c'est le cas notamment lors d'un diagnostic à partir d'une biopsie endoscopique ou de la micro-biopsie d'une masse abdominale⁹.

Il faut également connaître deux cas particuliers :

- le cas des GIST ayant perdu, partiellement ou complètement, l'expression de KIT, souvent observées à la suite d'un traitement par l'imatinib, mais parfois aussi observées dans les lésions métastatiques ;
- le cas des GIST congénitales, qui n'expriment habituellement pas KIT, ni d'ailleurs CD34⁹.

Une fois que les faux négatifs ou les cas particuliers ont été éliminés, il reste une très faible proportion de GIST authentiques, habituellement typiques du point de vue morphologique, effectivement KIT négatives^{27,95}. Ces tumeurs peuvent être appelées GIST KIT négatives ou, de manière plus prudente, « tumeurs stromales à cellules fusiformes ou épithélioïdes compatibles avec une GIST ».

d) Spécificité de l'immunomarquage

Il est important de rappeler que l'expression de KIT n'est pas hautement spécifique des GIST, car d'autres tumeurs comme les mélanome, angiosarcome, carcinome pulmonaire à petites cellules, sarcome d'Ewing, mastocytome, et séminome, peuvent aussi exprimer la

protéine KIT^{46,67,74}. Cette faible spécificité peut être responsable de problèmes de diagnostic différentiel, notamment si l'interprétation du résultat immunohistochimique se fait sans tenir compte des données histologiques. Heureusement, ces tumeurs, rarement incluses dans le diagnostic différentiel, peuvent facilement être différenciées des GIST selon les critères histologiques.

Retenons donc que l'immunoréactivité de KIT ne doit jamais être interprétée isolément mais toujours en tenant compte des critères cliniques, macroscopiques des GIST et surtout de leur aspect histologique, qui reste un élément d'orientation primaire déterminant dans le diagnostic^{9,68}.

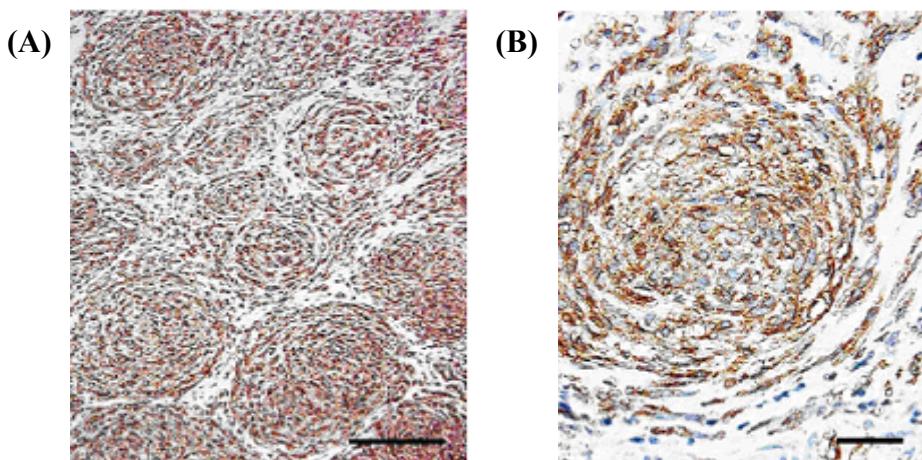
KIT constitue donc un marqueur essentiel dans le diagnostic des GIST. Il existe un autre marqueur immunohistochimique fréquemment utilisé par les pathologistes dans le diagnostic des GIST : la protéine CD34.

2. La protéine CD34

CD34 est une glycoprotéine de surface de 115 kDa exprimée à l'état normal par les ICC, les cellules souches hématopoïétiques, les cellules endothéliales, les cellules souches mésenchymateuses, et certains fibroblastes. A l'état pathologique, on la retrouve dans de nombreuses tumeurs mésenchymateuses^{75,102}.

CD34 est un marqueur très utile au diagnostic immunohistochimique des GIST mais dont la sensibilité est inférieure à celle de KIT : seulement 60 à 70 % des GIST expriment CD34, contre 95 % pour KIT^{67,75}. Une forte positivité des cellules tumorales pour CD34 a été observée dans une GIST chez un chimpanzé (voir figure 31)⁹⁹.

Figure 31 : Immunomarquage CD34 d'une GIST chez un chimpanzé⁹⁹.



Coloration HE ; (A) échelle = 150μm ; (B) échelle = 60μm.

La fréquence de la positivité CD34 varie de façon significative suivant la localisation anatomique. Selon une étude effectuée sur 300 GIST humaines⁷⁴, la positivité pour CD34 est particulièrement fréquente pour les tumeurs œsophagiennes et colorectales (plus de 90 %). Elle est beaucoup plus rare dans les SIST (50 %).

3. PDGFRA

Dans le tube digestif normal, PDGFRA est exprimée dans les cellules ganglionnaires matures et les cellules nerveuses issues du plexus myentérique et sous-muqueux⁹⁰.

Sur le plan pathologique, PDGFRA est exclusivement exprimée dans les GIST KIT négatives. Dans ces tumeurs, l'immunomarquage est majoritairement cytoplasmique avec un renforcement membranaire bien marqué, comme celui observé pour les GIST qui expriment la protéine KIT. Il est également possible d'observer un marquage cytoplasmique en grains périnucléaires, de type golgien (aspect en dots). Ainsi, l'étude de Rossi *et al.* est la première étude à avoir démontré l'intérêt des anticorps anti-PDGFR α dans le diagnostic immunohistochimique des GIST KIT négatives⁹⁰.

4. Les nouveaux marqueurs potentiels des GIST : les protéines DOG1 et PKC Θ

Deux nouveaux marqueurs des GIST ont été récemment proposés : la protéine DOG1 et la protéine kinase C (PKC Θ).

La **protéine DOG1**, isolée lors d'un travail d'analyse différentielle, est proposée comme un marqueur sensible et spécifique des GIST. Ce marqueur paraît avoir un intérêt particulier dans le diagnostic des GIST associées à une mutation du gène *Pdgfra*, où la protéine KIT est indétectable dans plus de 60 % des cas, alors que DOG1 y semble constamment exprimée. Il est cependant nécessaire de disposer d'études plus approfondies pour évaluer correctement l'intérêt diagnostique de ce nouveau marqueur⁹.

La **protéine PKC Θ** est une protéine de signalisation intracellulaire impliquée dans la transmission des signaux induits par l'activation de KIT et PDGFRA. Des travaux récents ont montré que cette protéine était surexprimée dans les GIST, y compris dans les GIST KIT négatives et dans les GIST associées à des mutations du gène *Pdgfra*⁹.

D'autres marqueurs peuvent être utilisés pour compléter l'évaluation immunophénotypique d'une GIST, même s'ils ne sont pas essentiels au diagnostic.

5. Autres marqueurs immunohistochimiques des GIST

a) Actine musculaire lisse (SMA)

L'actine musculaire lisse (SMA) est exprimée par la cellule musculaire lisse, la cellule myoépithéliale et le myofibroblaste⁷⁴. Son isotype α (SMAα) est un marqueur spécifique de la différentiation des muscles lisses, et peut distinguer les tumeurs atteignant les muscles lisses des autres tumeurs qui concernent le muscle strié squelettique et cardiaque^{10,29}.

20 à 40 % des GIST humaines sont positives pour SMA (SMA+), avec une positivité souvent focale^{61,71}. Les GIST animales peuvent également exprimer SMA^{5,13,30,34}. Dans l'étude de Russell *et al.*, on observe que 40% des GIST canines sont SMA+⁹³.

Chez l'homme, la positivité pour SMA varie suivant la localisation anatomique : elle est fréquente dans les SIST, rare dans les GIST œsophagiennes et rectales⁷⁴. L'expression de SMA, focale ou globale, est corrélée à l'expression de CD34 : les tumeurs SMA+ sont souvent CD34 négatives, et inversement. Dans certains cas, il est parfois difficile de

distinguer les cellules tumorales SMA+ des autres cellules musculaires lisses normales de la muscleuse digestive, elles aussi SMA+. Mais étant donné que SMA n'est pas spécifique des GIST, de telles variations ont donc un intérêt limité en pratique²⁷.

b) Desmine

La desmine est un filament intermédiaire spécifique du muscle, exprimé par les cellules musculaires (lisses ou striées) et les cellules myocardiques⁶⁷. Les GIST humaines qui présentent une positivité avec l'anticorps anti-desmine sont extrêmement rares (moins de 5 % des cas dans la plupart des séries)^{62,74}, et cette positivité est toujours focale⁶⁷. Les GIST animales sont toutes négatives pour la desmine^{3,30,34}.

Il convient de reconsidérer soigneusement un diagnostic de GIST si la desmine est fortement exprimée par les cellules tumorales⁹.

c) Protéine S100 (pS100)

La protéine pS100 est un marqueur exprimé par les cellules d'origine neuroectodermique dont la cellule de Schwann⁶⁵.

Bien que les GIST n'expriment généralement pas pS100, quelques unes de ces tumeurs (5 à 10 % des cas) présentent une positivité pour l'anticorps anti-pS100 ; cette positivité est le plus souvent focale et peut être cytoplasmique ou nucléaire^{29,67,74}. Mais si pS100 est fortement exprimée, il faut penser à un autre type de tumeur, notamment un **schwannome** (dans le cas où KIT est négative), ou un **mélanome malin**⁹.

d) Calponine et h-caldesmone

Calponine (CALP) et h-caldesmone (HCD), sont deux protéines associées à l'actine, qui sont présentes dans les cellules des muscles lisses et dans les cellules myoépithéliales. Peu de GIST expriment **CALP** (environ 25 %). L'expression de CALP est souvent corrélée à celle de SMAα : la grande majorité des GIST CALP+ sont aussi SMAα+. **HCD** est typiquement exprimée dans les GIST (dans plus de 80 % des cas). Elle est également fortement exprimée par les tumeurs musculaires lisses (léiomyomes et léiomyosarcomes). Sa présence dans les GIST suggère donc une différenciation musculaire lisse⁷⁰.

e) Autres marqueurs

La **vimentine** est un filament intermédiaire exprimé par la plupart des cellules tumorales d'origine mésenchymateuse, et parfois par des cellules de tumeurs épithéliales peu différenciées¹⁰. Les GIST expriment la vimentine^{13,29,67} : l'utilisation de ce marqueur est parfois utile pour préciser les rapports de la tumeur avec la musculeuse digestive ou avec la musculaire muqueuse, car les cellules musculaires lisses digestives normales n'expriment pas la vimentine^{44,102}. Dans l'étude de Larock *et al.*, l'expression de la vimentine dans les GIST canines a été corrélée à un diagnostic de malignité⁵².

Les GIST n'expriment pas les **neurofilaments**, ni la **protéine gliale fibrillaire acide (GFAP)**^{9,13}.

En général, les GIST n'expriment pas la **cytokératine**⁷².

Nous avons donc vu que la très grande majorité des GIST expriment de façon constante et intense la protéine KIT, et peuvent également exprimer d'autres marqueurs tels que CD34, SMA ou la desmine, même s'ils ne sont pas indispensables au diagnostic.

Mais il est aussi important de rappeler que l'expression de KIT n'est pas suffisante pour poser un diagnostic de GIST, en raison d'un manque de spécificité de ce marqueur dans les GIST. L'expression de KIT n'est pas non plus nécessaire au diagnostic des GIST : il est maintenant largement admis, tant en médecine humaine que vétérinaire, que de rares cas de GIST authentiques, présentant un aspect histologique typique, n'expriment pas la protéine KIT^{30,64,67}. Pour ces cas-là, il est alors recommandé de recourir à d'autres techniques, comme la biologie moléculaire, pour confirmer ou infirmer le diagnostic de GIST.

D. Caractéristiques moléculaires des GIST

Il est bien démontré aujourd'hui que la très grande majorité des GIST s'associent à des anomalies moléculaires dans deux gènes cibles : *Kit* et *Pdgfra*. Cependant, la recherche de ces anomalies n'est pas actuellement considérée comme nécessaire pour le diagnostic, sauf dans le cas particulier des GIST KIT négatives évoquées ci-dessus, et ne peut être réalisée que dans des laboratoires spécialisés. D'autre part, les gènes *Kit* et *Pdgfra* sont impliqués dans d'autres pathologies : ce qui est spécifique des GIST n'est donc pas la nature du gène impliqué mais le type et le siège des anomalies moléculaires⁹.

1. Indications de la recherche d'altérations des gènes *Kit* et *Pdgfra*

Les indications de recherche de mutations des gènes *Kit* et *Pdgfra* dans les GIST restent encore très restreintes en dehors des protocoles de recherche clinique⁹. En effet, la seule indication en routine concerne actuellement les GIST KIT négatives (environ 5 % des cas) ou dont l'histologie est atypique. Notons que les mutations de *Kit* sur les exons 11 et 9 sont pratiquement pathognomoniques des GIST ; leur mise en évidence permet donc de confirmer un diagnostic histologique difficile.

A l'avenir, la recherche des mutations pourrait se généraliser à l'ensemble des patients car de nombreuses études tendent à démontrer que le statut mutationnel de *Kit* pourrait avoir une incidence tant sur l'évaluation du pronostic vital que sur le choix du traitement (voir plus loin).

2. Techniques de détection des altérations des gènes *Kit* et *Pdgfra*

La détection des mutations de *Kit* et *Pdgfra* peut se faire à partir de tissu tumoral congelé ou fixé. La détection est plus fiable sur tissu congelé, lorsque celui-ci est disponible, car l'ADN extrait est de meilleure qualité. Un contrôle histologique du fragment analysé est toujours nécessaire, pour évaluer la cellularité ainsi que les pourcentages de nécrose et de contamination par des cellules non tumorales. Ces recherches d'altérations de l'ADN tumoral doivent être faites dans des centres expérimentés. Les mutations des exons sur *Kit* et *Pdgfra* sont généralement détectées par des techniques de screening, puis les mutations sont identifiées par séquençage⁹.

Bien que quelques GIST familiales présentent des mutations constitutionnelles *Kit* et *Pdgfra*, la fréquence de ces mutations transmissibles est inférieure à 1 %⁸³. Il n'y a donc pas d'indication à rechercher de mutation germinale.

3. Recherche d'autres altérations génétiques dans les GIST

Des anomalies chromosomiques récurrentes ont été décrites aussi bien dans les formes bénignes que dans les formes malignes des GIST, notamment les pertes en 14q et 22q. La comparaison du matériel génomique entre tumeurs bénignes et tumeurs malignes par la technique de CGH a montré que des pertes, notamment en 9p, et des gains de matériel

chromosomique étaient fréquents dans les formes malignes et pourraient avoir une valeur pronostique^{22,23}.

Cependant aucune de ces anomalies chromosomiques n'est spécifique des GIST. C'est pour cela que l'analyse cytogénétique est moins importante que les analyses histologiques et immunohistochimiques dans le diagnostic des GIST.

En conclusion, des altérations de gènes codant pour KIT et PDGFRA sont présentes dans plus de 80 % des GIST. Ces altérations génétiques sont responsables d'une activation constitutionnelle de ces récepteurs. La détection des mutations dans l'ADN des cellules tumorales est indiquée pour confirmer un diagnostic difficile, notamment en cas de suspicion de GIST KIT négatives⁹.

E. Diagnostic différentiel des GIST

Avant la mise en place de la détection de KIT par immunohistochimie, les GIST ont été sous-diagnostiquées car un certain nombre d'entre elles étaient classées comme léiomyome, léiomyosarcome, ou bien encore comme schwannome. La généralisation de la détection immunohistochimique de KIT et la pression des cliniciens permettent aujourd'hui de mieux diagnostiquer ces nouvelles tumeurs⁹.

Les GIST peuvent être confondues avec des tumeurs conjonctives bénignes, certaines tumeurs épithéliales malignes et quelques sarcomes. Pour chaque catégorie, seules les principales tumeurs digestives intervenant dans le diagnostic différentiel seront abordées.

Le tableau 1 récapitule les caractéristiques immunohistochimiques des GIST et des tumeurs les plus fréquentes intervenant dans leur diagnostic différentiel.

Tableau 1 : Diagnostic différentiel des GIST selon les critères immunohistochimiques^{27,46,90}.

	KIT (CD117)	PDGFRA	CD34	SMA	Desmine	pS100
GIST	+	+(5%)	+(60-70%)	+(30-40%)	+(1-2%)	+(5%)
Tumeurs des muscles lisses (léiomyome, léiomyosarcome)	-	-	+(10-15%)	+	+	-(rare)
Schwannome	-	-	+	-	-	+

1. Tumeurs conjonctives bénignes

Il est important de ne pas confondre une GIST avec une tumeur conjonctive bénigne, étant donné que l'exérèse de cette dernière conduit habituellement à la guérison du patient.

a) Léiomyomes

Bien qu'ils soient rares dans le tube digestif, les léiomyomes sont très fréquents au niveau de l'**œsophage** chez l'homme⁷², très rares dans l'estomac et dans l'intestin grêle⁶⁷. Les léiomyomes digestifs sont très fréquents chez le chien, particulièrement dans l'estomac. Ils sont beaucoup plus rares dans les autres espèces^{10,30}.

Chez l'homme, ces tumeurs affectent principalement de jeunes individus, contrairement aux GIST, avec une moyenne d'âge de **30-40 ans**⁷². Chez le chien, les léiomyomes surviennent plutôt chez des sujets âgés : la moyenne d'âge est de 11 ans^{5,30}.

Sur le plan macroscopique, ces tumeurs sont souvent **intramurales**, localisées dans la tunique musculaire à proximité de la muqueuse normale (voir figure 32) ; elles mesurent habituellement de 1 à 3 cm, mais peuvent dépasser 10 cm. En coupe, les léiomyomes sont bien délimités, non encapsulés^{5,30,72}.

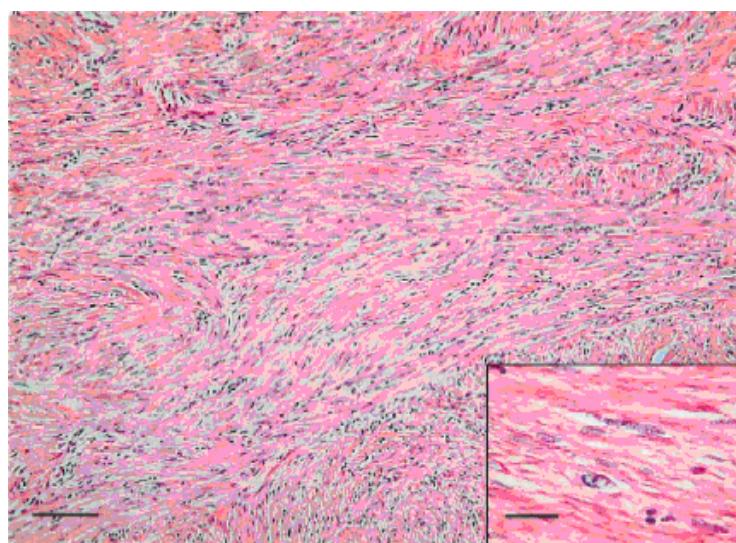
Figure 32 : Aspect histologique à faible grossissement d'un léiomyome gastrique chez un chien³⁰.



La tumeur envahit la tunique musculaire, la muqueuse gastrique reste intacte ; coloration HE, échelle = 0,2 cm.

Sur le plan histologique, il s'agit de tumeurs **pauci-cellulaires**, constituées de **cellules fusiformes**, à **cytoplasme abondant**, très **éosinophile** (voir figure 33). Les figures de mitose sont très rares, voire absentes ; quelques atypies nucléaires focales et foyers de calcification sont parfois possibles. L'immunohistochimie montre une **forte positivité diffuse pour les anticorps anti-desmine et anti-SMA α** , justifiant ainsi leur différentiation musculaire lisse, alors que les anticorps anti-KIT, PDGFR et CD34 sont négatifs^{5,62,72,74,90}.

Figure 33 : Aspect histologique à fort grossissement d'un léiomyome intestinal bien différencié chez un chien (coloration HE, échelle = 250 μ m)⁵.



Encart : A plus fort grossissement, cellules éparsillées semblent avoir un noyau vésiculaire et des nucléoles proéminents (échelle = 30 μ m).

b) Schwannomes

Ils sont **très rares** (5 %), et facilement confondus avec des GIST, mais sont parfaitement bénins. Dans le tractus digestif, ils siègent surtout au niveau de l'**estomac**, et sont plus rares au niveau de l'intestin grêle et de l'œsophage.

Sur le plan macroscopique, ils se localisent principalement dans la sous-muqueuse et la musculeuse de la paroi digestive ; la taille médiane se situe autour de 3 cm. Sur le plan histologique, les schwannomes sont constitués de **cellules fusiformes**, souvent associés à un **infiltrat lymphoïde périphérique**. La présence de ces lymphocytes peut être très utile dans le diagnostic différentiel, car ils n'existent pas dans les GIST.

L'immunohistochimie permet d'établir un diagnostic de manière formelle en montrant une **forte positivité pour pS100**, alors que les anticorps anti-KIT, anti-PDGFRα et anti-CD34 sont négatifs. Les schwannomes sont également négatifs pour la desmine et l'actine musculaire^{9,74,90,97}.

c) Polype fibroïde inflammatoire

Cette tumeur siège principalement au niveau de l'estomac ou de l'intestin grêle. Quelques rares cas ont été décrits dans l'œsophage. Il s'agit d'une tumeur polypoïde, le plus souvent de petite taille. Histologiquement, la lésion a souvent un aspect granulomateux ou est constituée de cellules fusiformes disposées autour de nombreux vaisseaux ; il existe un infiltrat formé de cellules éosinophiles, de lymphocytes et plasmocytes. L'immunomarquage montre souvent une positivité des cellules fusiformes pour le CD34, alors que KIT est négatif^{72,74}.

2. Tumeurs malignes non conjonctives

Devant une tumeur manifestement maligne, à cellules fusiformes ou épithélioïdes, peu différenciée, siégeant au niveau du tube digestif ou du péritoine, il convient d'éliminer par principe d'autres tumeurs malignes que les GIST : mélanome, carcinome ou lymphome⁹. Les meilleurs arguments pour arriver au diagnostic sont représentés par la connaissance d'un éventuel antécédent de tumeur maligne ou par l'immunohistochimie.

Certaines tumeurs malignes non GIST peuvent exprimer la protéine KIT. Il s'agit principalement du **mélanome**. En effet, les métastases péritonéales ou au niveau de l'intestin grêle d'un mélanome ne sont pas exceptionnelles, l'aspect histologique peut être proche d'une GIST de type fusiforme ou épithélioïde, et la protéine KIT est exprimée dans un tiers des mélanomes⁹⁶. Dans ce cas, c'est la forte positivité diffuse pour anti-pS100 qui doit alerter le clinicien et faire demander les autres marqueurs mélanocytaires. Certains **carcinomes** peuvent également mimer une GIST et exprimer la protéine KIT.

3. Sarcomes

a) *Léiomyosarcomes*

Les léiomyosarcomes gastro-intestinaux (GILMS) sont **très rares chez l'homme** et concernent principalement des individus âgés (60 ans en moyenne)⁶⁷. Ces tumeurs sont **très fréquentes chez le chien âgé** (≥ 10 ans), beaucoup plus rares dans les autres espèces animales¹⁰.

Les GILMS surviennent principalement dans l'intestin grêle chez le chien¹⁰ et dans le colon chez l'homme⁷³, et se présentent généralement sous la forme de **polypes intraluminaux** (voir figure 34), dérivant de la tunique musculaire de la paroi digestive. Des zones nécrotiques et hémorragiques sont très souvent visibles.

Figure 34 : Aspect macroscopique d'un léiomyosarcome intestinal canin¹⁰.

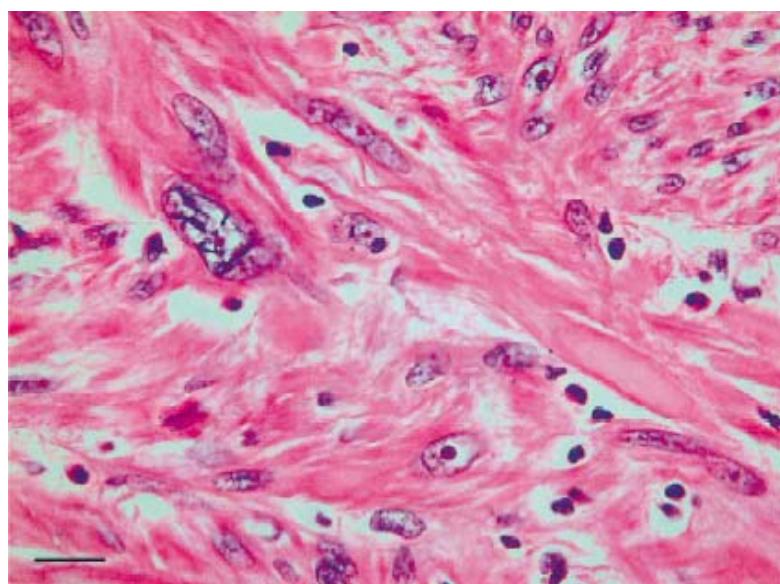


La tumeur se présente sous la forme de polypes intraluminaux, qui déforment la paroi de l'intestin grêle.

Les **métastases** sont **fréquentes** dans les GILMS canins (jusqu'à 50 % des cas), et surviennent principalement dans les nœuds lymphatiques mésentériques, le foie et la rate, mais aucune étude n'a véritablement déterminé la localisation préférentielle de ces métastases chez le chien¹⁰. Chez l'homme, les léiomyosarcomes métastasent préférentiellement dans les poumons^{8,86}.

Histologiquement, il s'agit le plus souvent de **tumeurs bien différenciées**, riches en **cellules fusiformes** à cytoplasme abondant éosinophile, avec un haut grade de malignité (activité mitotique élevée, pléiomorphisme nucléaire) (voir figure 35)^{5,10,73}.

Figure 35 : Aspect histologique d'un léiomyosarcome intestinal chez un chien⁵.



Noter le pléiomorphisme nucléaire marqué (coloration HE, échelle = 30 µm).

L'immunohistochimie montre que ces tumeurs sont **fortement et diffusément positives** pour l'**actine musculaire lisse** et souvent la **desmine**⁷⁴, alors que **KIT, PDGFRA et CD34** sont **négatifs**^{5,72,90}.

b) *Liposarcome indifférencié*

En général attachés au rétropéritoine, les liposarcomes indifférenciés peuvent envahir la paroi digestive et simuler une GIST. Ces tumeurs sont le plus souvent extramurales avec une composante lipomateuse. Mais si cette dernière n'est pas comprise dans le prélèvement, on peut facilement confondre ces tumeurs avec des GIST. Les liposarcomes sont généralement négatifs pour la protéine KIT⁶⁷.

Il est donc important de différencier les GIST, qui représentent environ 80 % des tumeurs mésenchymateuses, des autres tumeurs digestives moins fréquentes, comme le léiomyome et léiomyosarcome (10 à 15 % des tumeurs mésenchymateuses), les schwannomes (5 %), et d'autres tumeurs malignes comme le mélanome, car la décision thérapeutique en dépend^{46,82}.

D'autre part, le diagnostic exact des GIST est fondamental d'un point de vue clinique car ces tumeurs présentent un risque élevé de malignité.

F. Evolution des GIST et facteurs pronostiques

Le comportement biologique des GIST est difficile à prévoir. En effet, il est souvent difficile de préciser formellement le caractère bénin ou malin de ces tumeurs selon les critères histologiques conventionnels, et de les corrélérer à la clinique. Le problème récurrent était que beaucoup de tumeurs histologiquement bénignes étaient malignes d'un point de vue clinique, et inversement. De plus, certaines tumeurs présentaient à la fois des critères de bénignité et de malignité²⁸.

Une série de critères morphologiques et de marqueurs cytogénétiques ont été proposés pour évaluer le potentiel malin des GIST. Mais ces critères ne permettent pas toujours de faire la différence entre tumeurs bénignes et tumeurs malignes. Prédire la malignité des GIST représente donc un véritable challenge pour les pathologistes. En dehors de la présence d'un envahissement loco-régional ou de métastases qui constituent une preuve formelle de malignité, le pronostic des GIST est souvent difficile à établir.

1. Facteurs anatomo-pathologiques

La présence de métastases hépatiques ou péritonéales au moment du diagnostic confirme la malignité de la tumeur et constitue donc un facteur de mauvais pronostic^{15,66}. Parmi les autres critères morphologiques, la localisation anatomique, la taille de la tumeur et l'index mitotique ont été utilisés pour prédire le comportement biologique des GIST.

a) Localisation anatomique

Certains auteurs montrent que les GIST ont un comportement différent suivant leur localisation anatomique.

Chez l'homme, une étude suggère que la localisation anatomique est un facteur pronostique indépendant de la taille de la tumeur, du taux de mitose et de l'âge du patient²⁴. Dans cette même étude, Emory *et al.* observent que les SIST ont généralement le plus mauvais pronostic. D'autres études plus récentes montrent que la grande majorité des tumeurs gastriques sont d'évolution bénigne, alors que la plupart des tumeurs coliques et œsophagiennes se comportent comme des tumeurs malignes^{67,72}.

Chez le chien, les GIST malignes sont plus fréquentes dans l'intestin grêle et le cæcum ; les GIST bénignes sont retrouvées principalement dans l'estomac^{10,30,52}.

Il est cependant difficile de déterminer si ces différences de comportement tumoral traduisent des différences biologiques réelles entre des tumeurs de siège différent, comme le suggèrent certaines données, ou si elles sont dues à des biais dans les circonstances de diagnostic, en particulier à un diagnostic plus précoce dans certaines localisations.

Compte tenu des divergences d'auteurs, le site anatomique n'est donc pas considéré comme un bon facteur pronostique.

b) Taille de la tumeur et activité mitotique

La taille tumorale et le taux de mitoses sont les critères les plus fréquemment utilisés par les pathologistes pour évaluer le comportement biologique des GIST.

La **taille tumorale** est un facteur pronostique important et la difficulté est d'établir un seuil de malignité. Les tumeurs de petite taille ont généralement un comportement bénin^{27,66}, et celles de plus de 5 cm de diamètre sont généralement considérées comme malignes^{24,28}. La taille tumorale est également une variable pronostique importante dans les GIST canines⁶⁴. Cependant des tumeurs plus petites (< 2 cm de diamètre) ont pu se révéler métastatiques. Donc la taille seule n'est pas un critère fiable pour prédire le comportement biologique des GIST⁶⁷.

L'**index mitotique** est l'un des facteurs pronostiques les plus fiables permettant d'apprécier le comportement biologique des GIST. Il correspond au pourcentage de cellules

cancéreuses en train de se diviser, en phase de mitose. Cet index permet donc d'évaluer grossièrement la vitesse de prolifération tumorale, en général corrélée à l'agressivité du cancer. Pour un microscope optique à large champ, un champ (HPF) équivaut à environ 0,2 mm². Les tumeurs qui montrent un taux mitotique faible (< ou = à 5/50 HPF) ont généralement un comportement bénin. Mais, il existe un nombre non négligeable de GIST « inactives » qui métastasent secondairement, ce qui montre que même un taux mitotique faible ne peut exclure avec certitude un comportement malin⁶⁶.

Un petit nombre de GIST métastasent malgré une apparence histologique bénigne. C'est pourquoi certains auteurs préfèrent classer les GIST en termes de risque de malignité (très faible, faible, intermédiaire, et haut risque) plutôt que de les séparer en tumeurs bénignes et malignes^{27,28}. En 2002, Fletcher *et al.* élaborent une classification histo-pronostique des GIST basée sur l'évaluation du risque de malignité en fonction de la taille tumorale et de l'index mitotique (voir tableau 2)²⁷.

Tableau 2 : Evaluation du risque de malignité d'une GIST en fonction de sa taille et de son index mitotique²⁷.

	Taille*	Index mitotique
Très bas risque	< 2 cm	< 5/50 HPF**
Bas risque	2-5 cm	< 5/50 HPF
Risque intermédiaire	< 5 cm	6-10/50 HPF
	5-10 cm	< 5/50 HPF
Haut risque	> 5 cm	> 5/50 HPF
	> 10 cm	Indifférent
	Toute taille	> 10/50 HPF

*La plus grande dimension

**HPF = high-power field : nombre de mitoses par champ à fort grossissement

Une tumeur associant donc un index mitotique faible et une grande taille oriente généralement vers un comportement malin. De même qu'un faible taux mitotique (<5/50 HPF) et une petite taille (< 5 cm) caractérisent une GIST avec un faible risque de malignité²⁷.

Cependant, à taille et activité mitotique égales, les SIST semblent être plus agressives que les GIST de l'estomac²⁴. La taille tumorale et l'index mitotique seraient donc dépendants

de la localisation anatomique. Une autre classification histo-pronostique des GIST a ainsi été proposée en tenant compte de la taille tumorale, de l'index mitotique et de la localisation anatomique (voir tableau 3).

Tableau 3 : Evaluation histologique du potentiel de malignité d'une GIST en fonction de sa taille, de son index mitotique et de sa localisation anatomique⁶⁶.

	Tumeurs gastriques	Tumeurs intestinales
Probablement bénigne	Taille < 5 cm* et Index mitotique** < 5/50 HPF	Taille < 2 cm et Index mitotique < 5/50 HPF
Maligne	Taille > 10 cm ou Index mitotique > 5/50 HPF	Taille > 5 cm ou Index mitotique > 5/50 HPF
Malignité incertaine ou lente	Taille 5-10 cm et Index mitotique < 5/50 HPF	Taille 2-5 cm et Index mitotique < 5/50 HPF

*Diamètre maximal

**HPF = High-power field (nombre de mitoses par champ à fort grossissement)

La recherche d'autres facteurs pronostiques a été effectuée par souci d'affiner l'évaluation du risque évolutif des GIST. Il est maintenant démontré que certains paramètres morphologiques n'ont pas de valeur pronostique. C'est le cas du type histologique (fusiforme ou épithélioïde), même s'il a été suggéré que les formes pléiomorphes ou hypercellulaires sont de plus mauvais pronostic. Ainsi que nous l'avons déjà indiqué, le profil d'expression de KIT (intensité du marquage, pourcentage de cellules positives) n'a pas non plus de valeur pronostique²⁷.

Certains auteurs ont tenté de définir des paramètres plus objectifs, tels que l'index de prolifération cellulaire.

c) Index de prolifération cellulaire

Rudolph *et al.* ont évalué l'intérêt de l'index de prolifération cellulaire Ki67 dans le pronostic de GIST à l'aide d'un anticorps anti-Ki67 (comme MIB-1). Selon eux, les tumeurs présentant un index élevé, supérieur à 10 %, seraient malignes⁹². Cependant, aucune valeur seuil n'a encore été validée dans les GIST.

2. Facteurs génétiques

De nouveaux paramètres prometteurs, issus des études génétiques, peuvent aider à l'évaluation pronostique.

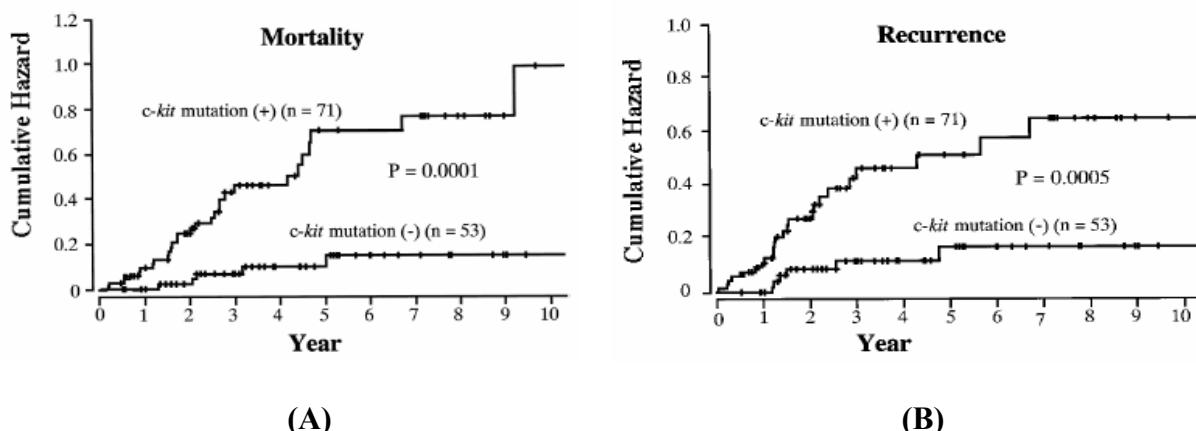
a) Présence de mutations sur le gène *Kit*

La présence de mutations de *Kit* dans les cellules tumorales a été corrélée au pronostic des patients atteints de GIST.

Lasota *et al.* observent que les mutations *Kit* sur l'exon 11 surviennent préférentiellement dans les GIST malignes (62 %)⁵³.

Dans une autre étude, Taniguchi *et al.*¹⁰⁴ montrent que 57 % des GIST présentent la même mutation *Kit*; le gain de fonction qui en découle rendrait les tumeurs porteuses de cette mutation plus agressives. On observe effectivement un taux de récidive et un taux de mortalité plus élevés pour les patients GIST porteurs de la mutation *Kit* sur l'exon 11 par rapport à ceux qui ne possèdent pas la mutation (voir figure 36).

Figure 36 : Estimation du risque cumulé de récidive (A) et de mortalité (B) après chirurgie selon la méthode Kaplan-Meier pour les patients GIST possédant la mutation *Kit* (+) et les patients GIST dépourvues de mutation *Kit* (-)¹⁰⁴.



On en conclut de cette étude que la présence de la mutation *Kit* sur l'exon 11 est un facteur de mauvais pronostic. Cette anomalie devrait donc être systématiquement recherchée pour prédire l'issue clinique des patients atteints de GIST.

Cependant, la valeur pronostique de ces mutations est très discutée. Une étude suggère que les mutations *Kit* sur l'exon 9 et 13 sont associées à un mauvais pronostic⁵⁴. Dans une

autre étude, Hirota *et al.* ne montrent aucune différence pronostique entre les GIST mutées sur l'exon 11 du gène *Kit* et celles mutées sur l'exon 9⁴². Il faut souligner que, même si l'intérêt pronostique de certaines de ces anomalies était vérifié, il serait limité en pratique, car la recherche de mutation n'est pas réalisée en routine.

Toutes ces études concernaient le pronostic des patients avant la découverte en 2001 de l'imatinib, un inhibiteur spécifique de KIT et PDGFRA. Il existerait en effet une corrélation entre la présence de mutations et l'efficacité de la réponse à l'imatinib chez les patients atteints de GIST. Nous reviendrons sur ce point dans la troisième partie.

b) Anomalies chromosomiques

La CGH montre une corrélation entre la présence de certaines anomalies chromosomiques et le comportement biologique des GIST. Dans une étude portant sur 95 GIST, El-Rifai *et al.* observent que les GIST bénignes contiennent de façon significative moins d'anomalies chromosomiques que les GIST primitives malignes ou métastatiques. En effet, le nombre moyen d'anomalies chromosomiques était de 2,6 dans les GIST bénignes, 7,5 dans les GIST malignes primaires, et 9 dans les GIST métastatiques²².

D'une manière générale, ces modifications (pertes en 9p, 13q, 15q, 19q et gains en 5p, 8q, 17q, 20q) sont plus souvent observées dans les GIST malignes et métastatiques que dans les GIST bénignes. D'autre part, l'absence de gains chromosomiques dans les GIST bénignes a été associée à un pronostic favorable²².

Ces anomalies chromosomiques pourraient donc être utilisées pour évaluer le pronostic des GIST et ainsi différencier les tumeurs bénignes des tumeurs malignes. Mais leur recherche est encore limitée à l'heure actuelle.

« **Toute GIST doit donc être considérée comme potentiellement maligne et l'évolution doit être décrite en termes de risque de malignité plutôt que de distinguer le caractère bénin ou malin de la tumeur. En raison du caractère imprévisible des GIST et de la difficulté à établir des facteurs pronostiques fiables, il est fortement recommandé que tous les patients atteints bénéficient d'un suivi attentif pendant une période de durée indéterminée.**

III. Actualités thérapeutiques et perspectives de traitement dans les GIST humaines et animales

Les nouvelles connaissances sur la biologie des GIST ont permis de faire des progrès considérables en médecine humaine dans le traitement de ces tumeurs.

A. *Treatment chirurgical*

Avant la découverte de l'imatinib, la chirurgie était le seul traitement potentiellement curatif des GIST. Malheureusement, les rechutes sont fréquentes.

1. Chirurgie des GIST non métastasées

Lorsque l'intervention est réalisable, l'exérèse complète de la tumeur doit être privilégiée en première intention car elle demeure à ce jour le traitement de référence pour les **GIST non métastasées** et constitue un facteur de bon pronostic pour le patient. Le geste chirurgical est adapté au bilan d'extension effectué au préalable.

a) *Tumeurs localisées*

Comme pour les autres sarcomes des tissus mous, il n'existe pas de véritable capsule dans les GIST, et la tumeur doit donc être retirée en bloc avec sa pseudo-capsule, si possible en marges saines pour prévenir toute récidive⁴⁶. Il n'existe pas de consensus sur la largeur optimale des marges chirurgicales : une marge de 2 cm est considérée comme raisonnable. D'autre part, une exérèse plus large n'a pas montré de bénéfice supplémentaire¹⁴.

La rupture tumorale pré ou per-opératoire est un facteur de mauvais pronostic. Il convient donc de manipuler la tumeur avec précaution lors de la chirurgie afin d'éviter toute dissémination de cellules tumorales dans l'organisme⁴⁶.

Contrairement à d'autres types de tumeurs digestives comme l'adénocarcinome, le curage ganglionnaire n'est pas nécessaire, dans la mesure où les GIST métastasent très rarement dans les nœuds lymphatiques^{15,46}. Il convient tout de même de rester vigilant et de retirer tout ganglion qui pourrait sembler suspect.

Le geste chirurgical dépend du siège de la tumeur. On réalisera une gastrectomie partielle pour les tumeurs gastriques, une entérectomie plus ou moins étendue pour les tumeurs intestinales⁴⁶.

b) Tumeurs localement avancées

Les tumeurs localement évoluées correspondent souvent à des tumeurs volumineuses de plus de 10 cm de diamètre, et qui s'étendent aux organes voisins. La chirurgie complète n'est possible que si l'on réalise l'exérèse d'un ou plusieurs viscères adjacents. Ces exérèses larges sont parfois mutilantes et sont à moduler en fonction des organes concernés¹⁴. Cette approche « classique » est actuellement remise en cause depuis la découverte de l'imatinib. L'utilisation de cette nouvelle molécule dans le traitement des GIST permettrait en effet de limiter le geste chirurgical initial et d'augmenter secondairement les chances d'exérèse complète.

c) Résultats de la chirurgie

L'évaluation des résultats de la chirurgie des GIST est difficile, car les études comprennent souvent peu de patients, couvrent de longues périodes, ou incluent des groupes de patients hétérogènes et pour lesquels les facteurs de risque n'ont pas pu être séparés. De plus, certaines études combinent les résultats des patients atteints de GIST primitives et récurrentes¹⁴. Les résultats doivent donc être interprétés avec précaution.

Environ 80 % des patients atteints d'une tumeur primitive non métastatique peuvent bénéficier d'une exérèse complète initiale^{14,15}.

Mais l'étude de DeMatteo *et al.* effectuée au centre anti-cancéreux « Memorial Sloan-Kettering Cancer Center » (MSKCC) démontre que le taux de survie globale à cinq ans n'est que de 45 % malgré une exérèse complète¹⁵. Les récidives locales ou à distance ne sont pas exceptionnelles, surtout si la lésion primitive présentaient des facteurs de mauvais pronostic.

La majorité des récidives postopératoires surviennent dans les 5 ans⁴⁶. Le risque est maximal dans les 2 premières années, mais des rechutes tardives, plus de 10 ans après la chirurgie, ont été rapportées⁶⁵.

Le risque de récidive est principalement corrélé à deux paramètres : la taille et l'index mitotique de ces tumeurs. Les autres facteurs de risque de récidive sont la localisation anatomique de la tumeur, les tumeurs de l'intestin grêle ayant un potentiel de récidive plus important que les tumeurs gastriques, et l'existence d'une perforation tumorale pré ou per-

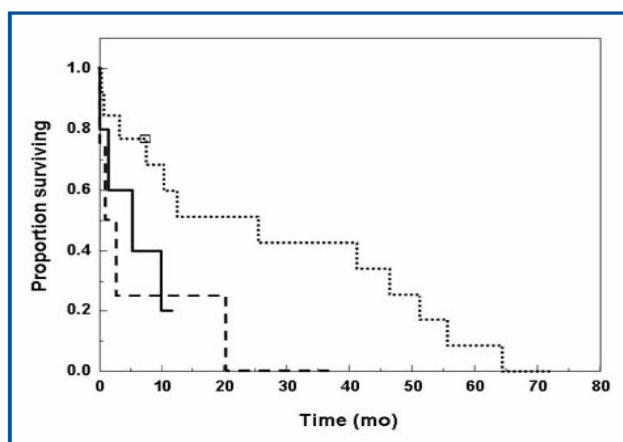
opératoire^{27,66}. Les récidives sont principalement intra-abdominales, péritonéales et hépatique. La survie à 5 ans est d'environ 20 % pour les tumeurs de plus de 10 cm de diamètre, 40 % pour les tumeurs de 5 à 10 cm de diamètre, et 60 % pour les tumeurs de moins de 5 cm de diamètre¹⁵.

Dans l'étude d'Aparicio *et al.*¹, le taux de survie à 5 ans est de 54 % après une première exérèse, le taux de survie global moyen est de 67 mois. Le taux de survie sans progression de la maladie est de 38 % à 2 ans et 15 % à 5 ans ($p<0,05$). Ce taux est considérablement meilleur après une exérèse large qu'après une exérèse péri-tumorale. Mais après une récidive, il n'y a aucune différence entre les deux.

Chez l'animal, les données concernant la chirurgie des GIST restent encore très limitées. Russell *et al.* ont comparé les durées de survie après chirurgie des GIST et des autres sarcomes digestifs (GILMS et autres sarcomes indifférenciés). L'exérèse complète des tumeurs a été réalisée en marges saines sur 27 chiens⁹³. Le temps de survie a d'abord été calculé pour 26 chiens, en tenant compte des 4 chiens GIST morts pendant l'opération : le temps de survie médian est de 11,6 mois pour les GIST, 7,8 mois pour les GILMS et 2,9 pour les sarcomes indifférenciés, mais la différence n'est pas significative ($p=0,50$).

Le temps de survie a ensuite été calculé pour les 22 chiens qui ont survécu après la chirurgie. Le temps de survie médian est de **37,4 mois** pour les **GIST**, 7,8 mois pour les GILMS et 2,9 mois pour les sarcomes indifférenciés. Les chiens atteints de GIST semblent donc survivre plus longtemps que ceux atteints de GILMS ou sarcomes indifférenciés, comme on peut le voir sur la figure 37, mais la différence n'est pas significative ($p=0,08$).

Figure 37 : Temps de survie calculés selon la méthode Kaplan-Meier pour 22 chiens après une chirurgie de GIST (n=13, pointillés), GILMS (n=5, trait plein), et sarcomes indifférenciés (n=4, tirets)⁹³.



Les limites de l'étude sont le faible nombre de cas, le manque d'informations sur le suivi de certains chiens et enfin l'absence de données nécropsiques ou des causes de la mort.

Il en ressort tout de même de cette étude que les GIST canines sont plus agressives localement que les GILMS et sont susceptibles d'aboutir à une mort per-opératoire suite à une perforation de la paroi digestive et une septicémie. Cependant, les chiens atteints de GIST dont l'exérèse a été effectuée en marges saines auraient une survie plus longue⁹³. Afin de confirmer ces hypothèses, des études comportant un plus grand nombre de cas sont donc nécessaires.

2. Chirurgie des GIST métastasées

Les métastases se localisent préférentiellement au niveau du péritoine et du foie⁴⁶. Le bénéfice de l'exérèse complète des GIST lors de dissémination péritonéale ou de métastases hépatiques n'a pas été clairement établi, même si elle a permis d'améliorer la survie de certains patients. Il existe peu de données sur l'intérêt de la chirurgie lors de récidives locales ou de métastases abdominales.

a) Exérèse de la tumeur primitive

L'exérèse de la tumeur primitive n'est en général pas recommandée lors de GIST métastasée, sauf si cette dernière est associée à une occlusion ou une hémorragie digestive⁴⁶.

Une étude a montré que les patients atteints de SIST métastasées qui ont subi une exérèse complète de la tumeur avaient une meilleure survie globale (50 mois) que ceux ayant subi une chirurgie incomplète (20 mois)¹¹.

Plaat *et al.* ont montré que 66 % des GIST malignes récidivaient ou développaient des métastases 2 ans après une première chirurgie⁸⁶.

Dans l'étude de DeMatteo *et al.*, la médiane de survie lors de GIST métastatiques est d'environ 20 mois, et pour les patients présentant une récidive locale de 9 à 12 mois¹⁵.

b) Exérèse de récidives isolées

Les récidives locales de GIST peuvent parfois être traitées chirurgicalement. Elles se situent principalement sur l'intestin, le mésentère, l'omentum, ou sous la paroi abdominale, à proximité ou à distance de la tumeur primitive. L'exérèse est généralement limitée et les patients rechutent inévitablement¹⁴. Après exérèse d'une GIST récidivante, la médiane de survie n'est que de 15 mois⁷⁸.

c) Exérèse de métastases hépatiques

L'exérèse des métastases hépatiques est rarement effectuée du fait de leur caractère diffus ou de la présence de lésions extra-hépatiques associées. Néanmoins, dans une étude de 131 malades atteints de GIST ou de léiomyosarcomes avec métastases hépatiques¹⁶, 34 patients ont pu bénéficier d'une exérèse macroscopiquement complète. Le taux de survie à 3 ans est d'environ 60 %. Un délai supérieur de 2 ans entre l'exérèse de la tumeur primitive et l'apparition de métastases hépatiques était un facteur associé à une meilleure survie.

Depuis l'utilisation de l'imatinib dans le traitement des GIST avancées et métastasées, l'intérêt de l'exérèse secondaire de métastases hépatiques est discuté.

La chirurgie reste le traitement standard des GIST bénignes. Les GIST à faible potentiel de malignité ont généralement un bon pronostic après chirurgie complète. Ces GIST ne nécessitent pas en général de traitement adjuvant, mais nécessitent quand même un suivi attentif, compte tenu du comportement imprévisible de ces tumeurs. A l'inverse, les GIST à haut potentiel de malignité ont un pronostic sombre même après chirurgie, avec un taux élevé de récidives et de métastases. Il faut alors recourir à un traitement adjuvant.

B. Traitements adjuvants pour les GIST avancées ou métastasées

1. Chimiothérapie systémique

En général, les sarcomes des tissus mous sont des tumeurs peu chimiosensibles tant en médecine humaine que vétérinaire.

L'efficacité de la chimiothérapie systémique dans les GIST humaines est très faible, avec des **taux de réponse compris entre 0 et 10 %**.

La distinction entre les GIST et les autres sarcomes digestifs n'a pas toujours été prise en compte dans les différentes études cliniques. Les taux de réponse sont donc surtout des estimations en considérant que la majorité des léiomyosarcomes digestifs étaient en fait des GIST.

Dans un essai clinique de phase III, Zalupski *et al.* ont montré que la doxorubicine et la dacarbazine sont inefficaces dans le traitement des sarcomes digestifs : en effet, seul 7 % (3/43) des patients présentaient une réponse objective¹¹¹. Les **sarcomes gastro-intestinaux** sont donc **très peu chimiosensibles**.

Dans une étude plus récente, Edmonson *et al.* ont distingué les GIST malignes des léiomyosarcomes (essentiellement non digestifs)²⁰. Ils évaluent l'efficacité de l'association de plusieurs molécules anti-cancéreuses (doxorubicine, dacarbazine, mitomycine C et cisplatine) dans le traitement de ces tumeurs. Le taux de réponse objective n'était que de 4,8 % (1/21) pour les GIST contre 61 % (12/18) pour les léiomyosarcomes. Les **GIST** sont donc manifestement résistantes à la chimiothérapie conventionnelle.

La chimiorésistance des GIST malignes pourrait s'expliquer en partie par une forte expression des protéines de résistance aux anti-cancéreux. Une étude a en effet montré que l'expression de la glycoprotéine P (P-gp) et de la protéine de résistance multidrogue-1 (MRP-1) dans les GIST était supérieure à celle observée dans les léiomyosarcomes⁸⁶. L'activation oncogénique de la protéine KIT pourrait aussi contribuer à la chimiorésistance des GIST, par augmentation du signal anti-apoptotique¹⁴.

Actuellement, aucune donnée, autre que celles observées dans les essais contrôlés, ne soutient l'utilisation de la chimiothérapie systémique dans le traitement des GIST humaines. Aucune étude n'a été effectuée chez l'animal.

2. Chimio-embolisation intra-artérielle hépatique

La chimio-embolisation intra-artérielle hépatique (CEAH) consiste à emboliser, en l'absence de thrombose portale, la ou les artère(s) hépatique(s) nourricière(s) d'une tumeur en utilisant des micro-billes d'éponges sur lesquelles sont fixées des substances anti-cancéreuses, principalement la doxorubicine ou le cisplatine⁸⁷.

Cette technique, utilisée en médecine humaine, pourrait être une bonne alternative à la chimiothérapie systémique, en contrôlant localement la progression de la maladie avec une toxicité moindre. Mais son efficacité reste encore mal évaluée dans les métastases hépatiques des GIST. La CEAH a été étudiée dans un essai clinique de phase II comprenant un faible effectif de malades atteints de sarcomes gastro-intestinaux et de métastases hépatiques isolées ou non opérables. Les particules d'éponge de polyvinyle sont mélangées à du cisplatine, de la

doxorubicine et de la mitomycine C. Le taux de réponse objective n'est que de 13 %, et la médiane de survie de 20 mois⁸⁹.

3. Chimiothérapie intrapéritonéale

La chimiothérapie intra-péritonéale (CIP) est utilisée en médecine humaine dans le traitement adjuvant des GIST avancées ou métastatiques. Cette technique permet d'agir directement sur les tumeurs digestives en augmentant les concentrations locales d'antimitotiques, avec une toxicité systémique moindre par rapport à une administration veineuse.

Devant l'échec de la chimiothérapie systémique, certains centres de cancérologie utilisent la CIP pour traiter des patients atteints de GIST avancées ou métastatiques, en complément de la chirurgie. Eilber *et al.* choisissent un dérivé de la doxorubicine, la mitoxantrone, car cette molécule se lie rapidement aux tissus à des concentrations élevées, et est très peu毒ique²¹. Ils constatent qu'en absence de métastases hépatiques, la CIP associée à la chirurgie permet de retarder l'apparition de nouvelles récidives locales et améliore le taux de survie globale. En revanche en présence de métastases, le taux de survie reste inchangé. La CIP est donc inefficace sur les GIST métastatiques.

4. Radiothérapie adjuvante

Bien qu'elle soit essentielle dans le traitement local des sarcomes des tissus mous des extrémités, la radiothérapie montre peu d'intérêt dans le traitement des GIST métastasées.

Son utilisation est en effet limitée par une importante résistance de ces tumeurs aux radiations, et par une éventuelle toxicité sur les organes adjacents^{15,85}. De plus, les lésions hépatiques ou péritonéales des GIST sont généralement trop diffuses pour être accessibles aux radiations¹⁴.

La radiothérapie a toutefois été utilisée pour atténuer la douleur de certains patients présentant une volumineuse métastase hépatique ou une GIST fixée au pelvis ou à la paroi abdominale¹⁴.

↳ La chimiothérapie et la radiothérapie se révèlent donc inefficaces pour traiter les GIST métastasées. La particularité des agents anti-cancéreux conventionnels et des radiations est qu'ils agissent généralement sur la machinerie cellulaire des cellules tumorales mais aussi des cellules normales. Ils manquent donc de sélectivité, ont un faible index thérapeutique et sont potentiellement toxiques pour l'organisme.

C. Les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) : une révolution dans le traitement des GIST

Au cours de ces dernières années, beaucoup d'efforts ont été consacrés au développement de molécules thérapeutiques capables d'inhiber les protéines kinases qui participent au processus néoplasique : on les appelle les **inhibiteurs de tyrosine kinase** ou **ITK**.

Comme nous l'avons dit précédemment, les protéines à activité tyrosine kinase sont des enzymes qui transfèrent le groupement phosphate provenant de l'ATP à des acides aminés spécifiques d'une protéine substrat. La phosphorylation de ces protéines conduit à l'activation des voies de transduction du signal, entraînant ainsi la croissance, la différenciation et la mort cellulaire. Ces protéines à tyrosine kinase, dérégulées et sur-exprimées dans les cancers humains, constituent de ce fait des cibles thérapeutiques intéressantes pour des inhibiteurs pharmacologiques spécifiques^{60,100}.

La protéine KIT est exprimée dans les GIST et son activité tyrosine kinase est impliquée dans la pathogénie de ces tumeurs. Elle constitue donc une cible thérapeutique idéale. On sait par ailleurs que KIT est essentielle au développement des cellules souches hématopoïétiques, des mélanocytes, des cellules germinales, des ICC et des mastocytes. Cela peut donc susciter des inquiétudes quant aux effets secondaires possibles du blocage de l'activité de KIT chez l'homme. Une activité kinase résiduelle de KIT peut persister dans les cellules exposées à des concentrations thérapeutiques d'ITK, et cette activité peut être suffisante pour protéger les tissus KIT-dépendants. Les ITK de KIT constitueraient donc une thérapeutique efficace pour ces tumeurs dans lesquelles les cellules tumorales ont une plus grande dépendance pour KIT que les cellules normales³⁵.

L'ITK idéal de la protéine KIT devra être très puissant, non toxique, bio-disponible par voie orale et parfaitement spécifique. A ce jour, un certain nombre de composés ont été identifiés pour inhiber l'activité tyrosine kinase de KIT, dont l'imatinib³⁵.

1. Imatinib (Glivec®)

Avant la découverte de l'imatinib, il n'existe pas de traitement pour les GIST inopérables ou métastasées, dont l'issue était inévitablement fatale⁴⁷. Les GIST constituent une cible idéale pour les ITK car d'une part ces tumeurs sont chimiorésistantes, et d'autre part la grande majorité d'entre elles expriment la forme activée de la protéine KIT.

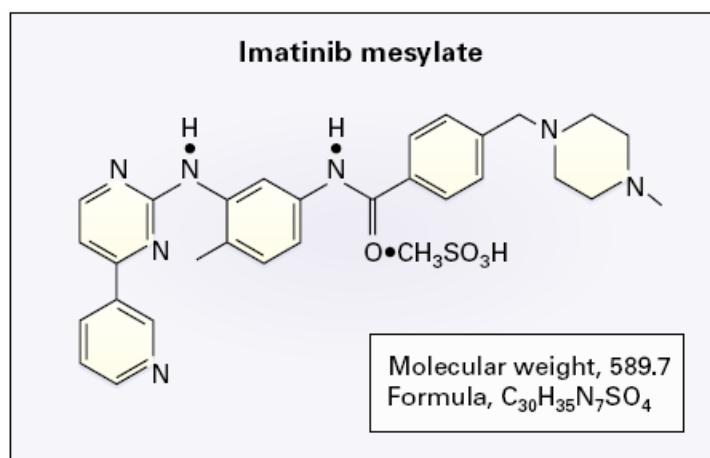
L'imatinib est un ITK utilisé pour traiter certains types de tumeurs. Il est commercialisé par l'entreprise pharmaceutique Novartis (Bâle, Suisse) sous le nom de Glivec® en Europe, et Gleevec® aux Etats-Unis. On le désigne encore parfois, principalement dans les anciennes publications, comme CGP 57148 ou STI 571^{6,38}.

Chez l'homme, l'imatinib a été validée par « The US Food and Drug Administration » en mai 2001 pour le traitement de la leucémie myéloïde chronique (LMC), et en février 2002 pour le traitement des GIST¹⁰⁰.

a) *Bases moléculaires et pharmacologie*

L'imatinib, dérivé de la phénylaminopyrimidine (voir figure 38), est une petite molécule qui inhibe de façon sélective l'activité enzymatique de certaines protéines à activité tyrosine kinase. Elle bloque la phosphorylation de la protéine de fusion BCR-ABL, exprimée dans la LMC, ainsi que les récepteurs KIT et PDGFRA, présents dans les GIST^{6,35,100}.

Figure 38 : Structure chimique du mésylate d’imatinib¹⁰⁰.



L’imatinib entre en compétition avec l’ATP sur le site de liaison de la kinase, l’empêchant ainsi de transférer le groupement phosphate de l’ATP sur les résidus tyrosine du substrat. Cette action bloque le signal en aval de la kinase, inhibant ainsi la prolifération cellulaire⁴⁶.

Le mésylate d’imatinib est disponible sous forme de gélules dosées à 100 mg et il est très bien absorbé après administration orale. Il est principalement métabolisé dans le foie par l’iosenzyme CYP3A4 du cytochrome P450, et les métabolites obtenus sont principalement excrétés dans les selles via la bile. La demi-vie dans la circulation sanguine est d’environ 20 heures, ce qui est compatible avec une seule administration quotidienne. Les études pré-cliniques suggèrent que des concentrations sériques supérieures à 1 µmol/L sont nécessaires pour obtenir des effets thérapeutiques optimaux, et que de telles concentrations sont obtenues pour des doses journalières de 300 mg ou plus^{18,46}.

La biotransformation hépatique de l’imatinib expose à un risque d’interactions avec d’autres médicaments métabolisés par l’iosenzyme CYP3A4 du cytochrome P450. L’administration concomitante de paracétamol et de warfarine, anticoagulant coumarinique, est donc contre-indiquée⁴⁶.

b) Tolérance et gestion des effets secondaires observés

La tolérance et les effets secondaires de l'imatinib dans le traitement des GIST métastasées ont été évalués dans des essais cliniques de phase I¹⁰⁶ et de phase II¹⁸.

Les effets secondaires augmentent avec des doses croissantes d'imatinib, 800 mg/jour étant la dose maximale tolérée. La dose actuellement recommandée est de 400 mg/jour et s'accompagne d'effets secondaires légers à modérés (grade 1 ou 2), disparaissant au-delà de 8 semaines de traitement et qui sont : une nausée transitoire liée à la prise du médicament, de l'œdème fréquemment localisé en région périorbitaire (voir figure 39), de la diarrhée, une douleur abdominale, des crampes musculaires, une éruption cutanée, des troubles hématologiques (anémie et neutropénie)^{18,46,106}.

Figure 39 : Œdème périorbital chez un patient traité avec de l'imatinib⁴⁶.



Il n'y a pas d'hyperuricémie ou de syndrome de lyse tumorale aiguë, même chez les patients qui présentent une diminution rapide du volume tumoral. Les effets secondaires les plus sévères (grade 3 ou 4) sont des hémorragies gastro-intestinales ou intra-abdominales observées chez des patients présentant des tumeurs volumineuses (5 % des cas). Ces hémorragies résultent le plus souvent de la dégénération tumorale rapide induite par l'imatinib¹⁸.

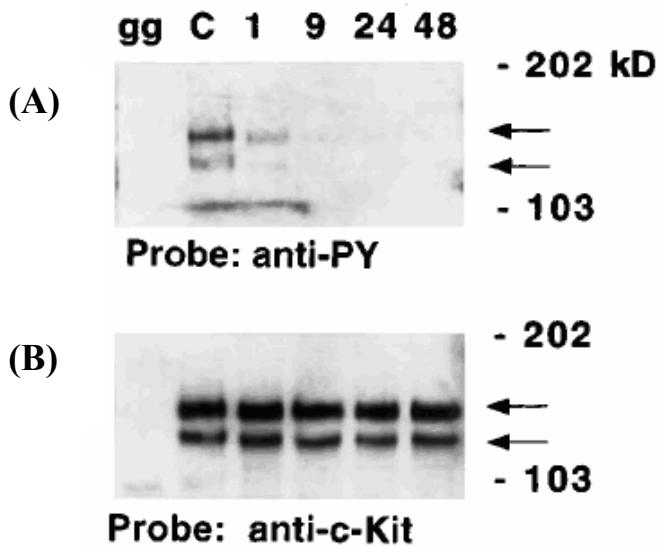
Les effets secondaires sont similaires à ceux rapportés chez des patients atteints de LMC. La myélotoxicité est rare dans les GIST malgré la présence d'une anémie et ne semble pas être dépendante de la dose. La myélosuppression observée lors du traitement à l'imatinib dans les LMC serait liée à la physiopathologie de la moelle osseuse leucémique^{18,106}.

c) Efficacité de l'imatinib dans les GIST métastasées

(1) Mise en évidence des effets de l'imatinib *in vitro*

L'efficacité de l'imatinib a été évaluée *in vitro* sur la lignée cellulaire GIST882, issue des cellules tumorales de GIST humaines. Les cellules GIST882 sont incubées dans un milieu contenant 1 μ M d'imatinib. L'examen des cellules par la technique Western blot montre une diminution de la phosphorylation de la tyrosine de la protéine KIT mature (145 kDa) après une heure d'incubation (voir figure 40A), tandis que les niveaux d'expression de la protéine KIT restent inchangés (voir figure 40B)¹⁰⁵. La concentration de 1 μ M d'imatinib inhibe complètement la phosphorylation de la protéine KIT durant la période d'incubation.

Figure 40 : Inhibition sélective de la phosphorylation de KIT dans la lignée cellulaire (GIST882) après traitement avec STI571¹⁰⁵.

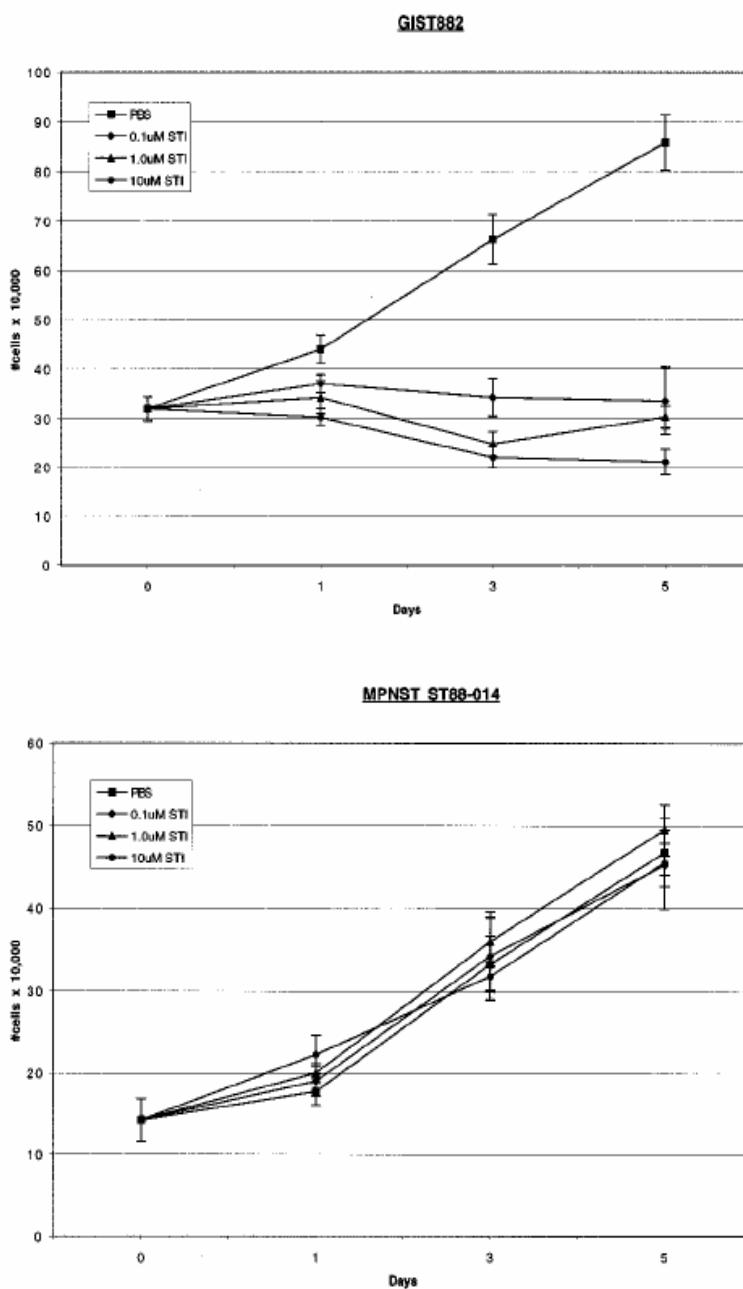


Les cellules GIST882 sont incubées dans le milieu de contrôle contenant 1 % de PBS (pour Phosphate Buffered Saline) pendant 48h (première colonne, nommée C). D'autres sont incubées dans un milieu contenant 1 μ M de STI571 dissous dans du PBS pendant 48 heures (colonnes 1, 9, 24, 48).

- (A) Immunoprecipités KIT par des anticorps anti-phosphotyrosine (anti-PY) montrent une phosphorylation tyrosine diminuée des formes KIT matures et immatures. L'immunoprecipitation avec une globuline de lapin (gg) provenant des cellules traitées au PBS sert de contrôle.
- (B) Immunoprecipitation de KIT avec un anticorps anti-KIT (Dako, C19) montre une quantité équivalente de KIT dans chaque immunoprecipité.

L'effet anti-prolifératif de l'imatinib est déterminé par la mise en culture des cellules GIST882 à différentes concentrations de la molécule. Dès 0,1 μ M d'imatinib, on observe une inhibition de la prolifération des cellules tumorales GIST882. L'imatinib inhibe la prolifération des cellules GIST882 mais pas des cellules MPNST ST88-014, issues des autres sarcomes des tissus mous, ce qui montre bien l'effet sélectif de l'imatinib sur les cellules tumorales des GIST (voir figure 41).

Figure 41 : Effet de l'imatinib sur la prolifération cellulaire des lignées GIST882 et MPNST ST88-014¹⁰⁵.



Les cellules sont mises en culture dans un milieu Dubelcco-Eagle modifié (DMEM) avec 10% de serum fœtal de veau (FCS), et traitées avec des concentrations différentes de STI571 (0,1 μ M-1 μ M-10 μ M).

Les effets inhibiteurs (anti-prolifératifs) de l'imatinib sur les cellules tumorales des GIST sont dus à l'inactivation enzymatique de KIT¹⁰⁵.

(2) Mise en évidence de l'efficacité de l'imatinib dans les GIST *in vivo*

L'imatinib a déjà prouvé son efficacité dans le traitement des LMC à des doses comprises entre 300 et 1000 mg. Dans les GIST, la concentration qui permet l'inhibition de 50 % (IC₅₀) de la protéine KIT est proche de 100 nmol/L, concentration similaire à celle requise pour l'inhibition de la protéine BCR-ABL dans la LMC^{35,106}.

L'efficacité de l'imatinib dans le traitement des GIST humaines a été démontrée pour la première fois en 2000 chez une patiente atteinte de GIST multiples inopérables et métastasées⁴⁷. Le traitement a consisté en l'ingestion de 4 gélules de Glivec® de 100 mg par jour en une seule prise. La toxicité a été évaluée à chaque visite de contrôle toutes les 2 à 4 semaines. La réponse au traitement a été évaluée par IRM et Pet-scan (voir plus loin). Dans les semaines qui ont suivi le début du traitement, la patiente a présenté une réponse clinique objective majeure, maintenue pendant plus de 18 mois.

Ces résultats encourageants obtenus chez cette patiente ont conduit à effectuer de plus larges études cliniques sur l'utilisation de l'imatinib dans le traitement des GIST métastasées.

L'activité clinique de l'imatinib dans les GIST a été confirmée dans une étude clinique de phase I effectuée par l'**EORTC** (European Organization for Research and Treatment of Cancer Soft tissue and Bone Sarcoma Group)¹⁰⁶, puis dans une étude clinique de phase II¹⁸.

Dans l'essai clinique de phase I, 36 patients GIST ont reçu de l'imatinib à des doses allant de 400 mg à 1000 mg/jour. Quelle que soit la dose, les patients montrent une réponse clinique : 70 % (25/36) présentent une régression tumorale objective, dont 75 % (19/25) une réponse partielle¹⁰⁶.

Dans l'étude de phase II américano-finlandaise¹⁸, le taux de réponse partielle est de 54 % parmi 147 patients traités avec des doses journalières de 400 mg ou 600 mg, et suivis sur une période de 6 mois minimum. Et 28 % montrent une réponse faible ou une stabilisation de la maladie. Seulement 14 % montrent une résistance primaire à la molécule. Aucune réponse complète n'a été observée. Il n'y a pas de différence significative dans les taux de réponses entre les doses de 400 mg et 600 mg.

Jusqu'à 90 % des patients présentant une GIST métastasée répondent à l'imatinib ou atteignent durablement une stabilisation de la maladie¹⁸. La durée de réponse médiane dépasse les 2 ans, et les patients traités peuvent s'attendre à vivre en moyenne 5 ans.

L'imatinib est actuellement recommandée dans le traitement des GIST à la dose de 400 mg/jour⁴⁶; cette dose peut toutefois être portée à 800 mg/jour dans certaines situations.

Une étude clinique de phase III a comparé les doses de 400 et 800 mg/jour d'imatinib chez des patients atteints de GIST métastasées¹⁰⁷. Il s'agissait de savoir si la dose de 400 mg deux fois par jour améliorerait d'au moins 10 % la survie sans progression tumorale. Le taux de réponse était le même quelle que soit la dose mais le taux de survie sans progression tumorale était significativement meilleur chez les patients traités avec 800 mg/jour. Cela signifie que pour les patients dont le principal objectif du traitement est la réduction du volume tumoral avant une chirurgie, la dose de 400 mg/jour en une seule prise pendant 4 à 6 mois est suffisante. Cependant, chez les patients ayant une maladie métastasée généralisée, les doses peuvent aller jusqu'à 800 mg/jour. Le même résultat pourrait être obtenu avec moins d'effets secondaires avec une dose initiale de 400 mg/jour, suivie par une augmentation progressive de la dose à 400 mg deux fois par jour. Cela nécessite encore de plus amples investigations cliniques.

L'étude de Zalcberg *et al.* démontre que, pour un certain nombre de patients avec GIST avancées avec progression de la maladie et traités avec 400 mg/jour d'imatinib, une augmentation de la dose à 800 mg/jour conduit à plus d'effet thérapeutique¹¹⁰. Mais cela conduit également à une augmentation des effets secondaires (fatigue, anémie) mais peu de toxicité. Le traitement doit être poursuivi jusqu'à apparition d'une intolérance ou d'une résistance.

d) Evaluation de la réponse tumorale

La première patiente avec GIST métastasée a obtenu une réponse complète rapide et soutenue avec le traitement à l'imatinib (400 mg/jour) pendant plus de 12 mois⁴⁷.

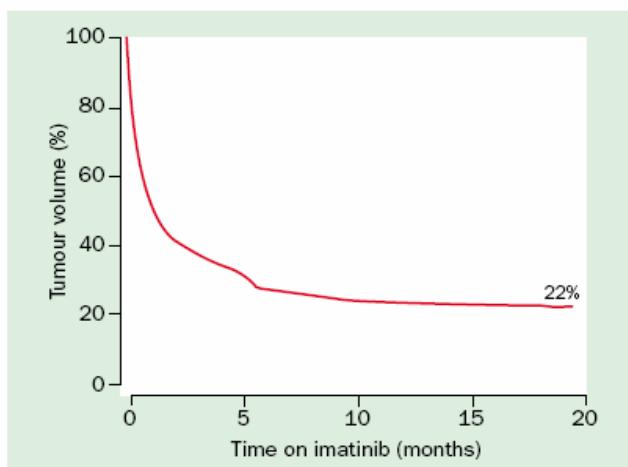
La réponse à l'imatinib peut se produire rapidement, même chez les patients présentant une tumeur volumineuse, mais cette réponse peut aussi être lente, particulièrement après une phase initiale rapide de régression tumorale. Le délai médian à l'obtention d'une réponse est d'environ 13 semaines^{18,46}.

(1) Par le scanner et l'IRM

A l'imagerie, une réponse est considérée comme **complète** si disparition de la lésion tumorale ; **partielle** si diminution nette du volume tumoral, présence de nécrose et de lésions kystiques ; **stable** quand très peu de modifications ou pas de changement en taille ou morphologie de la tumeur ; on parle de **progression de la maladie** si augmentation de la taille de la tumeur ou apparition de nouvelles lésions¹⁰¹.

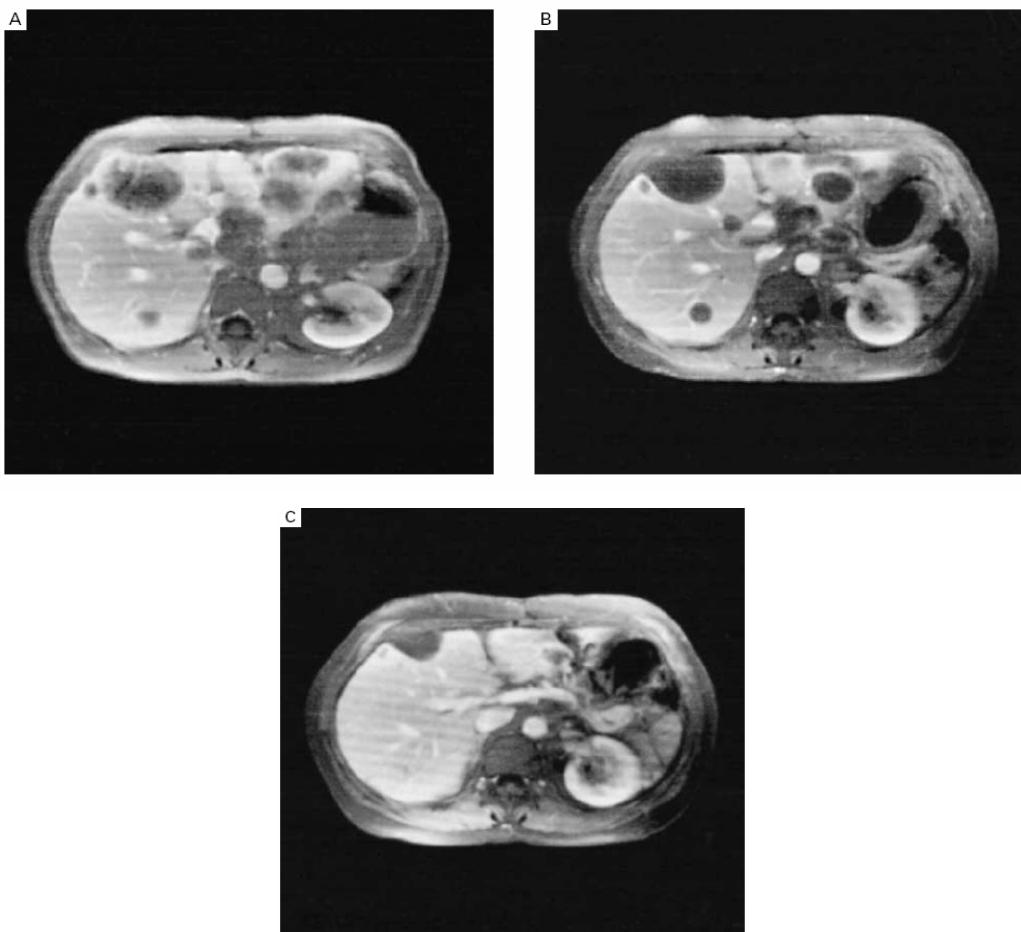
Chez la première patiente GIST traitée par l'imatinib, on observe une diminution du volume tumoral de 50 % après un mois de traitement à 400 mg/jour en une seule prise (voir figure 42).

Figure 42 : Action de l'imatinib sur le volume tumoral ⁴⁶.



Au scanner et IRM, beaucoup de métastases hépatiques deviennent homogènes et hypodenses⁴⁷. Les lésions hépatiques se présentent généralement sous la forme de kystes après le début du traitement ; elles ne doivent pas être confondues avec de nouvelles lésions⁴⁶. Après 8 mois de traitement, les métastases sont nettement plus petites, certaines d'entre elles ont même disparu⁴⁷ (voir figure 43).

Figure 43 : Evaluation de la réponse tumorale par l'IRM après traitement à l'imatinib chez une patiente atteinte d'une GIST métastasée (coupe transaxiale, image pondérée en T1 après injection de gadolinium dans l'abdomen crânial) ⁴⁷.

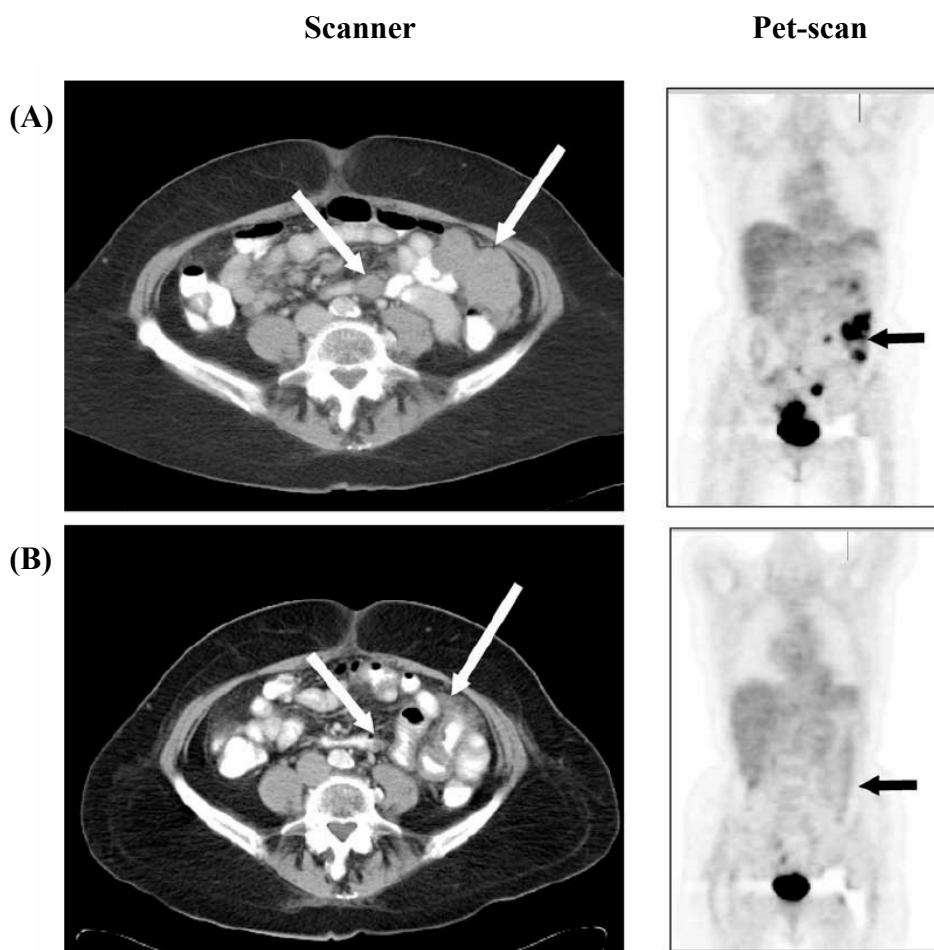


- (A) Avant traitement : multiples métastases hépatiques, avec augmentation du contraste très hétérogène associée avec un renforcement périphérique. L'augmentation moins intense au centre des métastases signe un phénomène de nécrose.
- (B) Après 4 semaines de traitement avec l'imatinib, les métastases prennent un aspect kystique.
- (C) Après 8 mois de traitement, les métastases sont nettement plus petites, certaines d'entre elles ont même disparu.

(2) Par le Pet-scan

Le Pet-scan est un examen d'imagerie sensible, rapide et fiable pour évaluer l'effet thérapeutique de l'imatinib sur les GIST, mais également la résistance au traitement ¹⁸. Le glucose contenu dans les lésions tumorales diminue dans les heures, voire les jours qui suivent le début du traitement (voir figure 44). Cette technique se révèle très utile pour faire la différence entre une hémorragie intra-tumorale et une nouvelle lésion tumorale ⁴⁶. Comme le scanner et l'IRM, le Pet-scan peut également apprécier la réduction du volume tumoral.

Figure 44 : Evaluation de la réponse tumorale à l'imatinib par le scanner et le Pet-scan chez une patiente atteinte d'une GIST intrapéritonéale métastasée¹⁴.

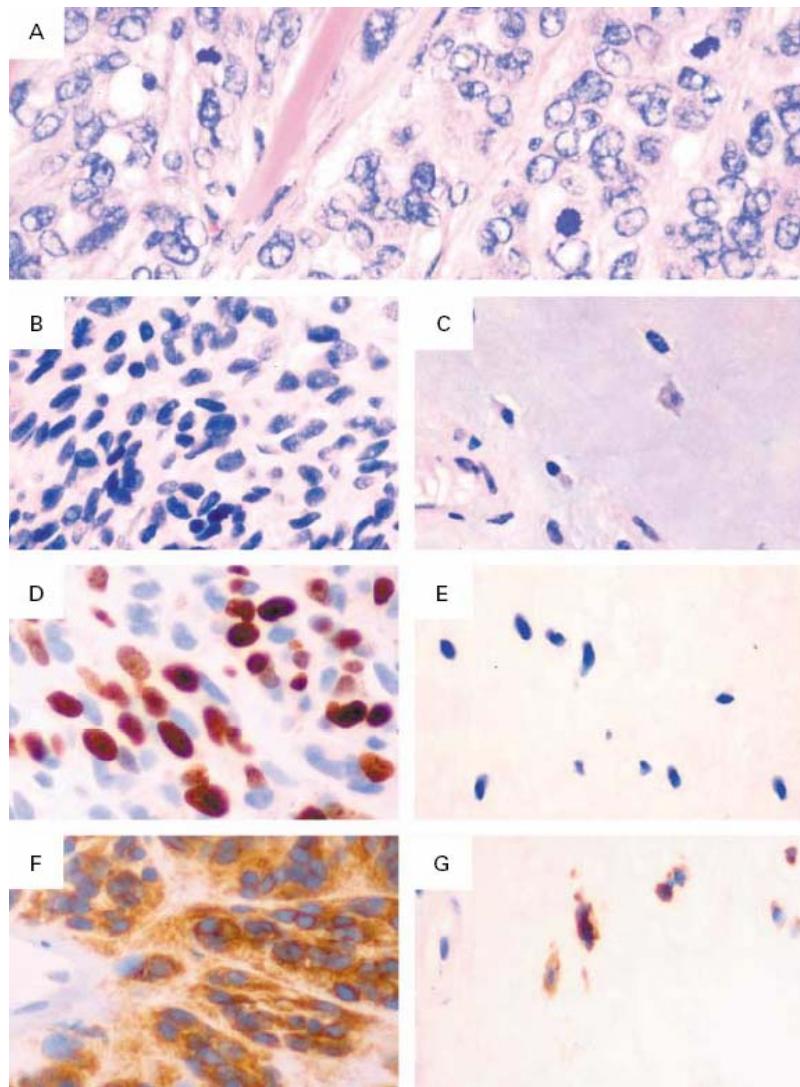


Réponse avant (A) et après 3 mois de traitement à l'imatinib (B). Noter qu'après traitement, la tumeur a presque disparu sur la coupe axiale du scanner (flèches blanches) et devient complètement inactive (flèche noire) au Pet-scan.

(3) Par l'examen histologique

L'examen histologique des métastases hépatiques des GIST confirme l'activité anti-cancéreuse de l'imatinib^{18,47}. Après quelques semaines de traitement, on observe une nette diminution de la population des cellules tumorales sans signe de réaction inflammatoire ou de nécrose. Les quelques cellules tumorales résiduelles présentent un noyau pycnotique et un volume cytoplasmique réduit. Elles sont positives pour KIT mais n'expriment plus le marqueur de prolifération Ki67, démontrant ainsi leur inactivité (voir figure 45). Les cellules endothéliales sont préservées, ce qui prouve l'action sélective de l'imatinib sur les cellules tumorales.

Figure 45 : Aspect histologique d'une GIST maligne avant et après traitement à l'imatinib (coloration HE [A à C] ; immunomarquage par Ki67 [D et E] ; et CD117 [F et G] ; échelle : [A] x 400 ; [B à G] x 200) ⁴⁷.



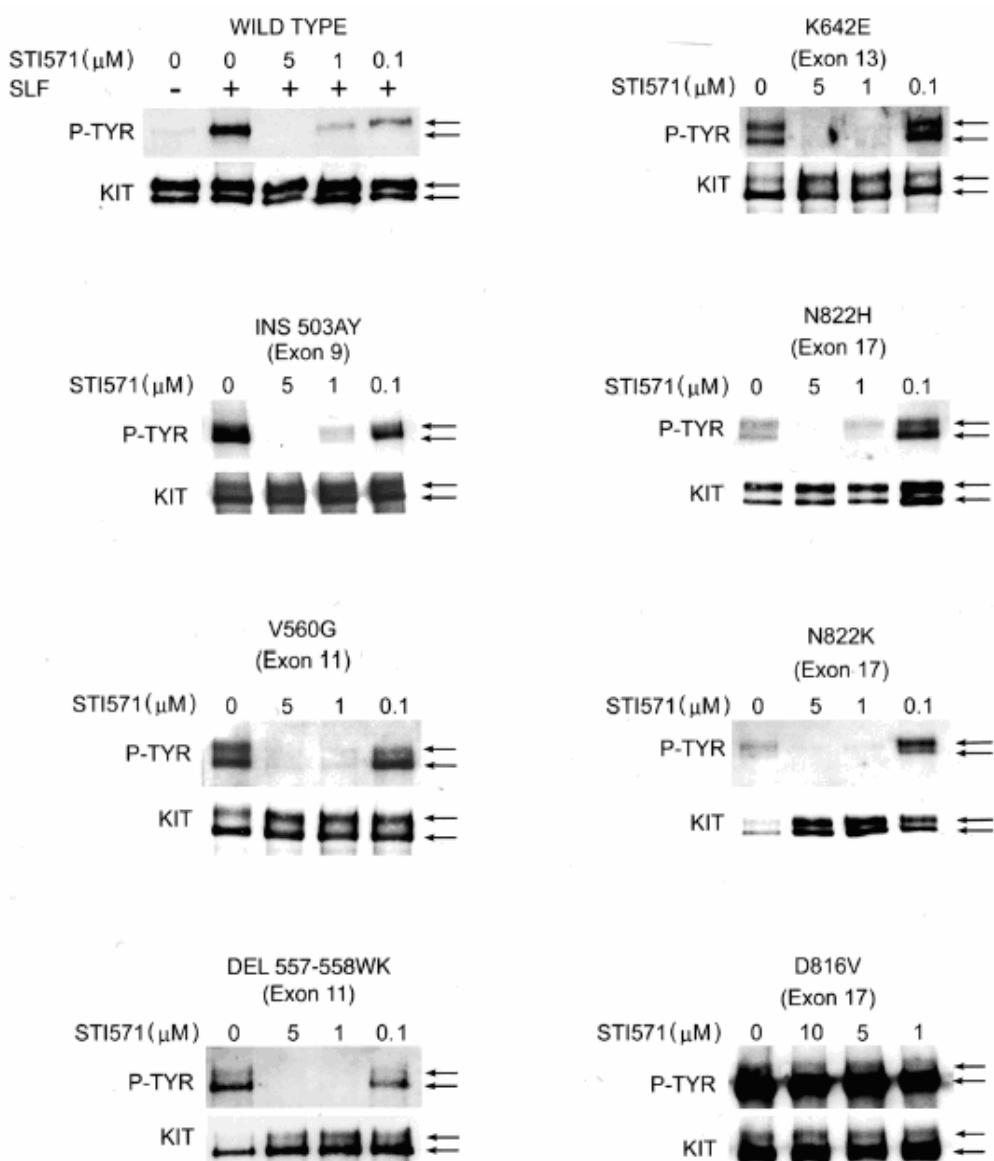
En 1996, les figures de mitoses sont nombreuses [A]. En 2000, avant traitement à l'imatinib, les cellules métastatiques hépatiques [B] montrent une activité mitotique élevée (noyaux positifs pour Ki67) [D], et sont fortement positives pour CD117 [F]. Après trois semaines de traitement à l'imatinib, l'examen histologique des cellules hépatiques ne montre que quelques cellules tumorales [C], négatives pour Ki67 [E], et positives pour KIT [G].

e) Présence de mutations dans les GIST : facteur prédictif d'efficacité

La majorité des GIST expriment des mutations actives sur *Kit* ou *Pdgfra*, qui sont des cibles thérapeutiques potentielles pour l'imatinib. La relation entre les mutations et la réponse clinique à l'imatinib a été évaluée chez des patients atteints de GIST avancées.

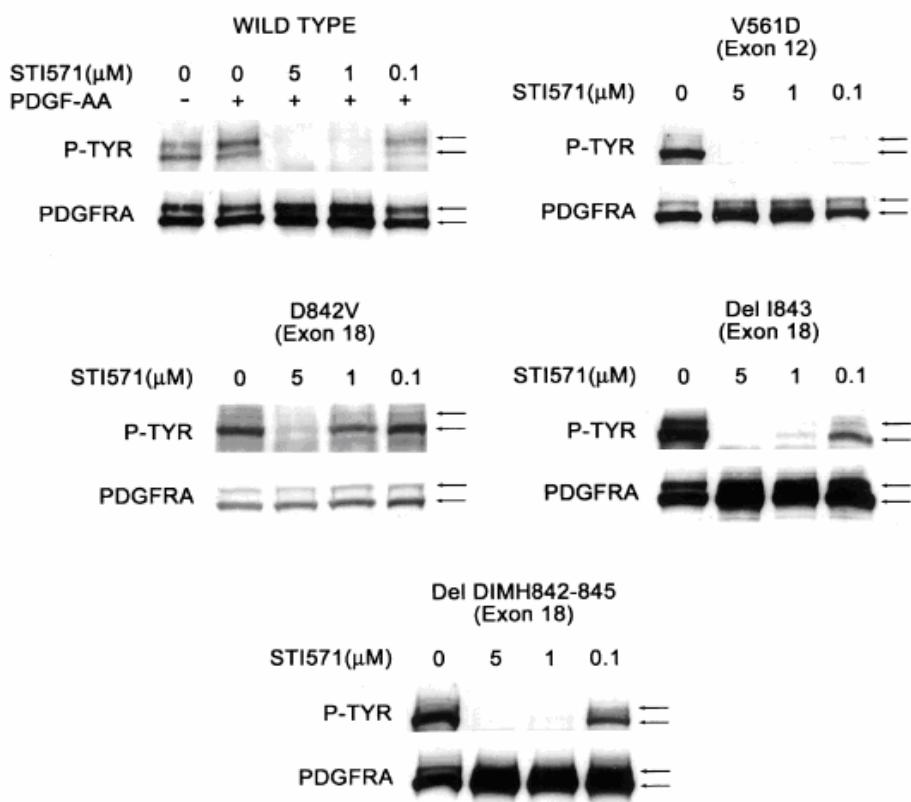
Afin d'évaluer la sensibilité à l'imatinib des protéines KIT mutées dans les GIST, les mutants cellulaires de KIT ont été exprimés dans des cellules ovariennes de hamster chinois, et l'inhibition de l'autophosphorylation est évaluée en utilisant différentes concentrations d'imatinib. Les principales mutations du gène *Kit* concernent les exons 11 (mutations ponctuelles et par délétion), 9 (insertion), 13 et 17 (mutations ponctuelles). Tous les récepteurs KIT mutants associés aux GIST sont inhibés par l'imatinib avec la même sensibilité que le récepteur KIT normal ($IC_{50} = 100$ à 200 nmol/L). A l'inverse, le récepteur KIT muté D816V associé à la mastocytose n'est pas inhibé par l'imatinib (voir figure 46).

Figure 46 : Sensibilité à l'imatinib des récepteurs KIT de type sauvage et mutants *in vitro*³⁷.



Des essais similaires ont été effectués pour les formes normale et mutée de PDGFRA. Contrairement au PDGFRA normal, les récepteurs mutants sont fortement phosphorylés en absence du ligand PDGFA. La phosphorylation de PDGFRA normal est fortement inhibée par l'imatinib (IC_{50} comprise entre 0,1 à 0,2 μ mol/L) comme cela a déjà été montré dans les études précédentes. L'imatinib est efficace contre les mutations sur l'exon 12 du gène *Pdgfra* dès 0,1 μ mol/L, tandis que l'inhibition de PDGFRA muté sur l'exon 18 requiert des niveaux d'imatinib plus élevées (IC_{50} à environ 1 à 2 μ mol/L) (voir figure 47) ³⁷.

Figure 47 : Effet *in vitro* de l'imatinib sur PDGFRA normal (type sauvage) et muté ³⁷.



PDGFRA mutés sont donc plus ou moins sensibles à l'imatinib *in vitro*, et 2 patients sur 3 répondent bien à la thérapie. Cela montre que l'imatinib peut également être utilisé avec succès dans le traitement des GIST mutées sur le gène *Pdgfra* ³⁷.

En 2003, Heinrich *et al.* observent plus de 80 % de réponses objectives chez les patients ayant une mutation *Kit* sur l'exon 11, moins de 20 % de réponses chez les patients sans mutation de *Kit*. Les patients ayant une mutation sur l'exon 9 ont un taux de résistance intermédiaire (47,8 %). Le nombre de GIST mutées sur le gène *Pdgfra* est trop faible dans l'étude pour démontrer une relation entre les mutations *Pdgfra* et la réponse à l'imatinib ³⁷.

Les tumeurs présentant une mutation *Kit* sur l'exon 11 sont donc plus sensibles au traitement par l'imatinib que les tumeurs présentant un autre type de mutation *Kit* ou *Pdgfra* ou ne présentant pas de mutation.

Cependant, même si dans ces derniers cas, la sensibilité au traitement par l'imatinib est moindre, elle n'est pas nulle : le traitement peut donc être prescrit dans tous les cas et la recherche systématique des mutations avant traitement n'est donc pas nécessaire⁹.

f) Place de la chirurgie dans le traitement au Glivec

Les réponses complètes avec l'imatinib sont extrêmement rares et la majorité des réponses sont partielles. D'autre part, la réponse pathologique des GIST à l'imatinib est habituellement incomplète et n'est pas corrélée à la réponse complète observée au Pet-scan¹⁰¹. Cela montre que la chirurgie joue un rôle important après traitement à l'imatinib.

Dans l'étude de Scaife *et al.*, 16 patients sur 17 (94 %) ont pu bénéficier d'une chirurgie complète après traitement à l'imatinib. Après 6 mois de suivi, seulement 18 % des patients présentent des métastases hépatiques ou péritonéales¹⁰¹. Les patients avec une maladie avancée peuvent ainsi bénéficier du traitement à l'imatinib suivi de la chirurgie même quand il existe une maladie multifocale.

L'utilisation de l'imatinib a donc permis de prolonger considérablement la survie des patients atteints de GIST inopérables et/ou métastasées. Toutefois, bien que l'imatinib soit efficace pour la majorité des patients atteints, il apparaît une résistance au traitement.

g) Résistance au traitement

Environ 5 % des patients présentent une résistance primaire à l'imatinib dans les deux premiers mois de traitement, et chaque année, 15 % des patients qui initialement répondent au traitement développent une résistance secondaire¹⁸.

Dans le traitement de la LMC, la résistance à l'imatinib a été associée à une amplification du gène *BCR-ABL*, ainsi qu'au développement de nouvelles mutations dans le domaine kinase de la protéine ABL qui diminuent la capacité de l'imatinib à se fixer au site de liaison de l'ATP. Gorre *et al.* ont suggéré que les patients possédant une amplification du gène *BCR-ABL* pouvaient être sensibles à l'imatinib à des doses plus élevées, tandis que ceux présentant les mutations sur le même gène nécessitaient un autre traitement³³.

5 % des patients GIST présentent une **résistance primaire** à l'imatinib, c'est-à-dire une absence de réponse objective initiale¹⁸. Ces résistances concernent plus fréquemment les GIST mutées pour l'exon 9 du gène *Kit*, le gène *Pdgfra*, ou les GIST dépourvues de mutation³⁷. Pour les GIST mutées sur l'exon 9 de *Kit* et celles qui n'ont pas de mutation, la résistance à l'imatinib serait due à des anomalies moléculaires intrinsèques avant l'initiation du traitement. Ces tumeurs auraient en effet une dépendance moindre à l'égard du signal KIT pour la prolifération cellulaire et l'évitement de l'apoptose et pourraient ainsi s'adapter plus facilement à l'inhibition de la protéine KIT.

Une **résistance secondaire**, c'est-à-dire une reprogression de la maladie après réponse objective initiale, commence à être observée au bout d'un an de traitement, et concerne 15 % des patients dans l'étude américano-finlandaise¹⁸. De telles résistances dans les GIST sont fréquemment associées à l'acquisition de nouvelles mutations *Kit*, principalement sur l'exon 11³⁶. La majorité des mutations initiales *Kit* et *Pdgfra* étant hétérozygotes, toutes les mutations secondaires se situent sur le même allèle que la mutation d'origine. Aucune mutation secondaire n'est identifiée dans les GIST dépourvues de mutation primaire *Kit* ou *Pdgfra*.

D'autres mécanismes moléculaires pourraient expliquer ces résistances secondaires, comme une amplification du gène *Kit* avec sur-expression du récepteur, ou une perte du récepteur avec acquisition d'un autre récepteur tyrosine kinase, ou enfin une réactivation de KIT sans cause apparente.

La résistance à l'imatinib dans les GIST justifie donc le développement de nouvelles molécules thérapeutiques.

2. Autres ITK dans le traitement des GIST humaines

Les résistances dans le traitement des GIST humaines sont de mieux en mieux contrôlées grâce à une nouvelle molécule : le **sunitinib** ou SU11248.

Le sunitinib est un ITK qui, comme l'imatinib, bloque les récepteurs KIT et PDGFR. En plus, il inhibe le récepteur pour le **VEGF** (pour Vascular Endothelial Growth Factor), qui joue un rôle important dans le processus d'angiogenèse tumorale.

L'efficacité du sunitinib a ainsi été démontrée dans une étude clinique multicentrique de phase III réalisée chez 312 patients atteints de GIST métastasées ou non opérables et

présentant une résistance à l'imatinib (la dose médiane quotidienne d'imatinib antérieurement reçue était de 800 mg) ¹⁷.

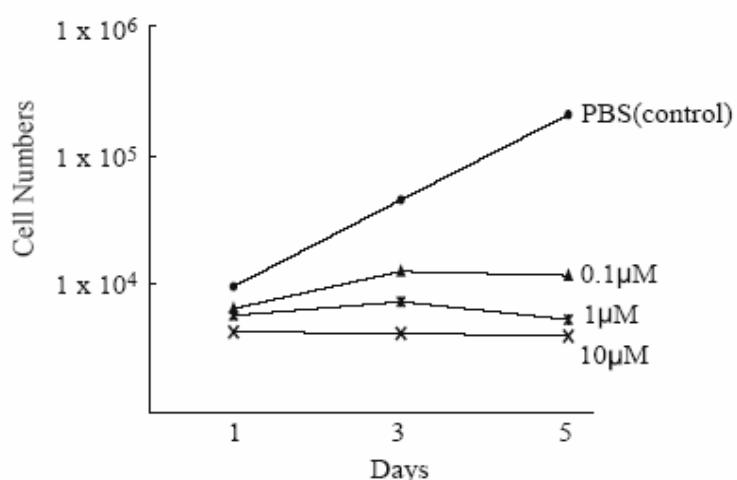
Chez l'homme, le malate de sunitinib dispose de l'AMM dans les GIST avancées ou métastatiques depuis juillet 2006. Il est commercialisé par le laboratoire pharmaceutique Pfizer (New York, USA) sous le nom de **Sutent®**. La posologie est de 50 mg/jour 4 semaines sur 6. Le sunitinib n'est pas utilisé en médecine vétérinaire.

3. Utilisation des ITK dans les GIST animales

Mukaisho *et al.* ont créé des GIST chez des rats par reflux du contenu duodénal ⁷⁹. Ils ont ensuite mis en culture les cellules tumorales dérivées des GIST. Après établissement de la lignée cellulaire GIST-DR, ils ont évalué *in vitro* l'effet de l'imatinib (STI571) sur cette lignée cellulaire.

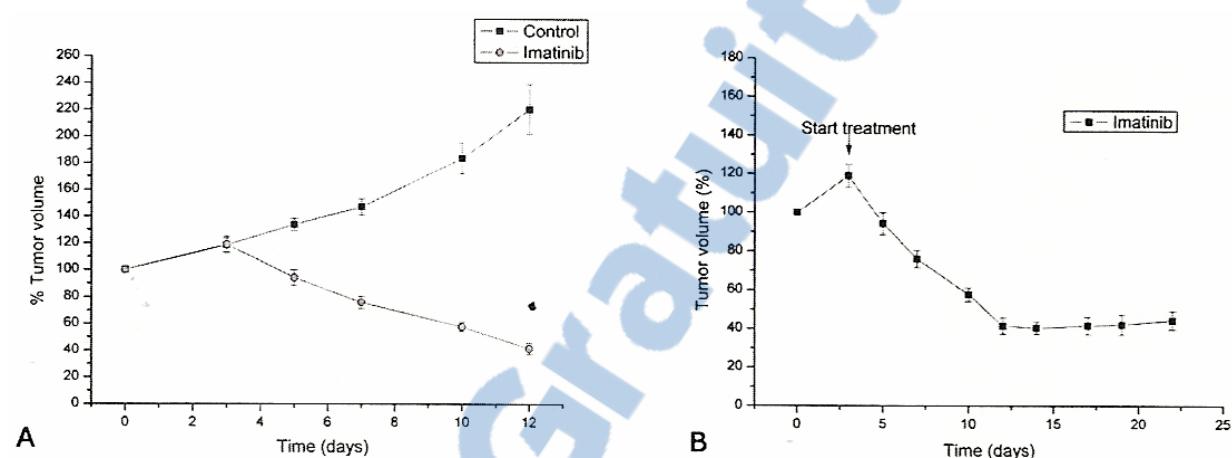
STI571 bloque la prolifération des cellules GIST-DR aux concentrations 1 μM et 10 μM . Pour 0,1 μM d'imatinib, le nombre de cellules augmente légèrement au 3^e jour, mais il reste significativement plus bas par rapport au groupe témoin qui a reçu le PBS (voir figure 48).

Figure 48 : Effet *in vitro* de l'imatinib à différentes concentrations sur la prolifération des cellules tumorales de GIST (GIST-DR) chez le rat ⁷⁹.



Prenen *et al.* ont également créé un modèle de souris GIST en injectant des cellules GIST882 dans les flancs de souris « nude »⁸⁸. Toutes les souris développent des tumeurs bilatérales 4 semaines après l'injection. Afin d'analyser les effets de l'imatinib sur les xénogreffes GIST882, les souris sont traitées par voie orale avec l'imatinib à la dose de 150 mg/kg deux fois par jour (voir figure 49).

Figure 49 : Effet de l'imatinib sur la croissance des xénogreffes GIST882 chez les souris «nude»⁸⁸.

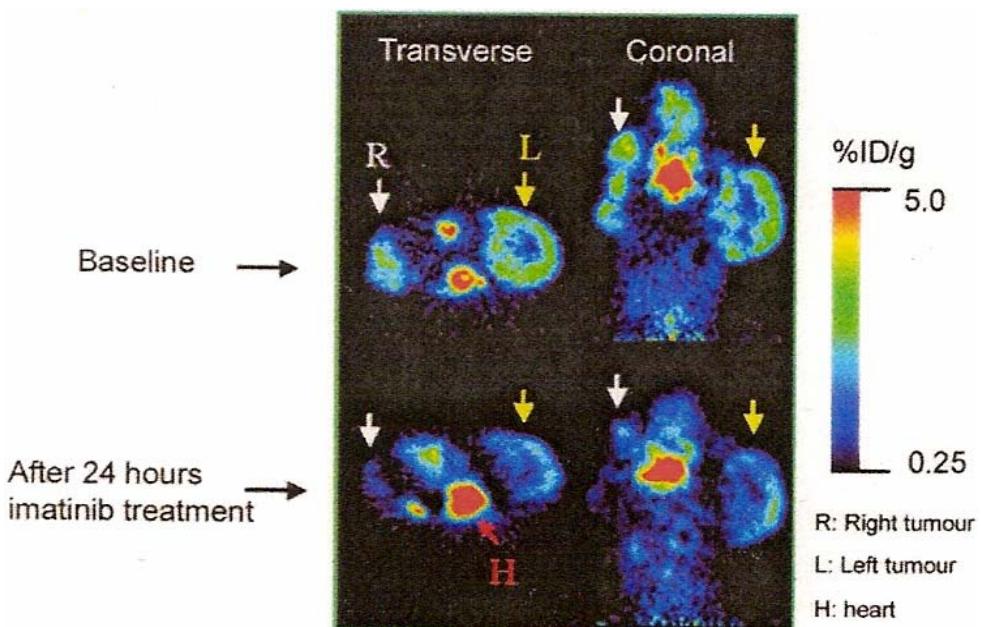


Les souris «nude» GIST882 sont traitées soit avec l'imatinib à la dose de 150 mg/kg deux fois par jour, soit avec un placebo (eau stérile). Le pourcentage du volume tumoral est calculé en divisant le volume à un temps donné par la moyenne du volume tumoral au début du traitement.

Comme on peut le voir sur la figure 49A, la taille des tumeurs GIST882 augmente proportionnellement dans le groupe témoin. Le traitement par l'imatinib à la dose de 150 mg/kg deux fois par jour supprime complètement la croissance des tumeurs. Après une semaine de traitement, on observe une diminution du volume tumoral de 60 %. Les souris traitées avec l'imatinib présentent peu d'effets secondaires, seulement une éruption cutanée. Le second groupe est traité par l'imatinib pendant 20 jours (figure 49B). Une diminution du volume tumoral est observée durant la première semaine du traitement, suivie d'une stabilisation du volume tumoral jusqu'à 20 jours de traitement. Il persiste toujours une inhibition de la croissance tumorale⁸⁸.

La réponse tumorale a aussi été évaluée au Pet-scan petits animaux haute résolution (Focus micro-PET® scanner) (voir figure 50).

Figure 50 : Evaluation de la réponse tumorale par le Pet-scan (Focus micro-PET® scanner) chez une souris « nude » avant et 24h après l’imatinib⁸⁸.



La radioactivité dans les régions d'intérêt est convertie en pourcentage de dose injectée par gramme de tissu (% ID/g).

Après 24 heures de traitement, l’absorption du glucose (FDG) diminue de 31,6 % dans les GIST, ce qui est en accord avec la réponse macroscopique initiale. Après une semaine de traitement, l’absorption de glucose augmente et revient à des niveaux de base. Cette augmentation pourrait être attribuée à la prolifération des cellules tumorales résistantes à l’imatinib. Mais cette découverte est en contradiction avec l’analyse immunohistochimique qui montre un marquage Ki67 négatif après une semaine de traitement. Il a récemment été montré que le déclin rapide de l’absorption du glucose dans les cellules des GIST suivant le traitement à l’imatinib était dépendant de transporteurs de glucose localisés sur la membrane plasmique. Il se pourrait que les cellules des GIST développent d’autres mécanismes pour recapituler le glucose, qui représente une importante source d’énergie nécessaire à leur survie⁸⁸.

Ces modèles animaux sont beaucoup utilisés dans les études comparatives chez l’homme. Ils représentent un outil précieux pour étudier les thérapies ciblées dans les GIST humaines. Ils peuvent servir de base pour tester les nouvelles molécules thérapeutiques et ainsi surmonter la résistance à l’imatinib. L’évaluation non invasive de la réponse tumorale par le Pet-scan est particulièrement utile car il permet le suivi de chaque animal dans le temps, réduisant ainsi le nombre d’animaux d’expérimentation.

Compte tenu des similitudes entre les GIST humaines et animales tant sur le plan histologique que moléculaire, les chiens atteints de GIST représenteraient un modèle animal utile et pourraient répondre à l'imatinib.

Le mésylate d'imatinib a été utilisé chez le chien, mais le traitement, même à faibles doses a entraîné une toxicité hépatique ⁹³. D'autres ITK sont actuellement en cours d'évaluation chez l'animal dans les tumeurs exprimant la protéine KIT telles que les tumeurs des mastocytes ⁶⁰. D'autres études sont nécessaires pour évaluer l'efficacité des ITK dans les GIST animales métastasées ou inopérables.

Si aujourd'hui l'action de l'imatinib ne suffit toujours pas à faire disparaître tout signe de la maladie, cette molécule a néanmoins littéralement révolutionné la prise en charge thérapeutique des patients atteints de GIST inopérables et/ou métastasées. Grâce à ce nouveau traitement, la maladie peut être contrôlée et l'espérance de vie de ces mêmes patients a augmenté de façon considérable. L'imatinib est désormais le traitement de référence pour les GIST métastasées et offre des perspectives d'avenir intéressantes dans le domaine de la thérapeutique chez l'homme, mais aussi chez l'animal.

CONCLUSION

Les GIST, auparavant considérées comme des tumeurs musculaires lisses et classées comme léiomyomes et léiomyosarcomes, sont maintenant reconnues comme des entités distinctes de première importance parmi les tumeurs mésenchymateuses digestives chez l'homme et l'animal. Il faut souligner les progrès considérables dans la compréhension des mécanismes biologiques et génétiques de ces tumeurs. L'activation du récepteur KIT constitue un événement majeur dans la pathogénie de la majorité des GIST.

L'exérèse chirurgicale représente le traitement de choix des GIST bénignes. Les GIST malignes inopérables et métastasées peuvent désormais bénéficier d'une thérapie ciblée, grâce à un inhibiteur de KIT sélectif très puissant : l'imatinib. Cette molécule a révolutionné le traitement des GIST métastasées, réputées pour être particulièrement résistantes aux chimiothérapies conventionnelles et à la radiothérapie.

L'efficacité de l'imatinib dans les GIST malignes démontre pour la première fois, dans le cas de tumeurs solides, l'intérêt d'un agent non chimiothérapeutique inhibant spécifiquement une voie de signalisation impliquée dans la cancérogenèse. L'imatinib va permettre d'envisager des modifications radicales dans la prise en charge et le pronostic de ces tumeurs résistantes à la chimiothérapie, et plus généralement en cancérologie. Il pourrait être utilisé dans d'autres tumeurs exprimant la protéine KIT comme les tumeurs des cellules germinales, ou bien encore le carcinome pulmonaire à petites cellules. Ainsi, l'utilisation du Glivec® pourrait être étendue dans quelques années à la cancérologie animale. Le seul problème, en dehors de son efficacité à prouver, reste le coût très élevé de la molécule.

Les GIST sont donc devenues de véritables modèles en cancérologie, à la fois dans le domaine de la pathologie moléculaire et de la thérapeutique. Le rôle du pathologiste, essentiel pour une prise en charge adaptée des patients, nécessite une bonne compréhension et une utilisation correcte des critères de diagnostic et de classification de ces tumeurs.

BIBLIOGRAPHIE

1. APARICIO T, BOIGE V, SABOURIN JC, CRENN P, DUCREUX M, LE CESNE A *et al.* Prognostic factors after surgery of primary resectable gastrointestinal stromal tumours. *Eur. J. Surg. Oncol.*, 2004, **30**, 1098-1103.
2. APPELMAN HD. Mesenchymal tumors of the gut: historical perspectives, new approaches, new results, and does it make any difference? *Monogr. Pathol.*, 1990, **31**, 220-246.
3. BANERJEE M, LOWENSTINE LJ, MUNN RJ. Gastric stromal tumors in two Rhesus Macaques (*Macaca mulatta*). *Vet. Pathol.*, 1991, **28**, 30-36.
4. BEGHINI A, TIBILETTI MG, ROVERSI G, CHIARAVALLI AM, SERIO G, CAPELLA C *et al.* Germline mutation in the juxtamembrane domain of the kit gene in a family with gastrointestinal stromal tumors and urticaria pigmentosa. *Cancer*, 2001, **92**, 657-662.
5. BETTINI G, MORINI M, MARCATO PS. Gastrointestinal spindle cell tumours of the dog: histological and immunohistochemical study. *J. Comp. Pathol.*, 2003, **129**, 283-293.
6. BUCHDUNGER E, CIOFFI CL, LAW N, STOVER D, OHNO-JONES S, DRUKER BJ *et al.* Abl protein-tyrosine kinase inhibitor ST1571 inhibits in vitro signal transduction mediated by c-Kit and platelet-derived growth factor receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2000, **295**, 139-145.
7. CARNEY JA. Gastric stromal sarcoma, pulmonary chondroma, and extra-adrenal paraganglioma (Carney triad): natural history, adrenocortical component, and possible familial occurrence. *Mayo Clin. Proc.*, 1999, **74**, 543-552.
8. CLARY BM, DEMATTEO RP, LEWIS JJ, LEUNG D, BRENNAN MF. Gastrointestinal stromal tumors and leiomyosarcoma of the abdomen and retroperitoneum: a clinical comparison. *Ann. Surg. Oncol.*, 2001, **8**, 290-299.
9. COINDRE JM, EMILE JF, MONGES G, RANCHERE-VINCE D, SCOAZEC JY. Tumeurs stromales gastro-intestinales: définition, caractéristiques histologiques, immunohistochimiques et génétiques, stratégie diagnostique. *Ann. Pathol.*, 2005, **25**, 358-385.
10. COOPER BJ, VALENTINE BA. Tumors of muscle. In: MEUTEN DJ editor. *Tumors in domestic animals*. 4th ed. Iowa State Press, 2002, 319-333.

11. CROSBY JA, CATTON CN, DAVIS A, COUTURE J, O'SULLIVAN B, KANDEL R *et al.* Malignant gastrointestinal stromal tumors of the small intestine: a review of 50 cases from a prospective database. *Ann. Surg. Oncol.*, 2001, **8**, 50-59.
12. DALLY C. *Les cellules interstitielles de Cajal dans le tube digestif*. Thèse Méd. Vét., Alfort, 2004, n°83, 102p.
13. DEL PIERO F, SUMMERS BA, CUMMINGS JF, MANDELLI G, BLOMME EA. Gastrointestinal stromal tumors in equids. *Vet. Pathol.*, 2001, **38**, 689-697.
14. DEMATTEO RP, HEINRICH MC, EL-RIFAI WM, DEMETRI G. Clinical management of gastrointestinal stromal tumors: before and after STI-571. *Hum. Pathol.*, 2002, **33**, 466-477.
15. DEMATTEO RP, LEWIS JJ, LEUNG D, MUDAN SS, WOODRUFF JM, BRENNAN MF. Two hundred gastrointestinal stromal tumors: recurrence patterns and prognostic factors for survival. *Ann. Surg.*, 2000, **231**, 51-58.
16. DEMATTEO RP, SHAH A, FONG Y, JARNAGIN WR, BLUMGART LH, BRENNAN MF. Results of hepatic resection for sarcoma metastatic to liver. *Ann. Surg.*, 2001, **234**, 540-548.
17. DEMETRI GD, VAN OOSTEROM AT, GARRETT CR, BLACKSTEIN ME, SHAH MH, VERWEIJ J *et al.* Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of imatinib: a randomised controlled trial. *Lancet*, 2006, **368**, 1329-1338.
18. DEMETRI GD, VON MEHREN M, BLANKE CD, VAN DEN ABEELE AD, EISENBERG B, ROBERTS PJ *et al.* Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced GIST. *N. Engl. J. Med.*, 2002, **347**, 472-480.
19. DURHAM MM, GOW KW, SHEHATA BM, KATZENSTEIN HM, LORENZO RL, RICKETTS RR. Gastrointestinal stromal tumors arising from the stomach: a report of three children. *J. Pediatr. Surg.*, 2004, **39**, 1495-1499.
20. EDMONSON JH, MARKS RS, BUCKNER JC, MAHONEY MR. Contrast of response to dacarbazine, mitomycin, doxorubicin, and cisplatin (DMAP) plus GM-SCF between patients with advanced malignant gastrointestinal stromal tumors and patients with other advanced leiomyosarcomas. *Cancer Invest.*, 2002, **20**, 605-612.
21. EILBER FC, ROSEN G, FORSCHER C, NELSON SD, DOREY F, EILBER FR. Recurrent gastrointestinal stromal sarcomas. *Surg. Oncol.*, 2000, **9**, 71-75.
22. EL-RIFAI W, SARLOMO-RIKALA M, ANDERSSON LC, KNUUTILA S, MIETTINEN M. DNA sequence copy number changes in gastrointestinal stromal tumors: tumor progression and prognostic significance. *Cancer Res.*, 2000, **60**, 3899-3903.

23. EL-RIFAI W, SARLOMO-RIKALA M, MIETTINEN M, KNUUTILA S, ANDERSSON LCA. DNA copy number losses in chromosome 14: an early change in gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res.*, 1996, **56**, 3230-3233.
24. EMORY TS, SOBIN LH, LUKES L, LEE DH, O'LEARY TJ. Prognosis of gastrointestinal smooth-muscle (stromal) tumors. Dependence on anatomic site. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1999, **23**, 82-87.
25. ERLANDSON RA, KLIMSTRA DS, WOODRUFF JM. Subclassification of gastrointestinal stromal tumors based on evaluation by electron microscopy and immunohistochemistry. *Ultrastruct. Pathol.*, 1996, **20**, 373-393.
26. EVANS HL. Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract. A study of 56 cases followed for a minimum of 10 years. *Cancer*, 1985, **56**, 2242-2250.
27. FLETCHER C, BERMAN JJ, CORLESS C, GORSTEIN F, LASOTA J, LONGLEY BJ et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Hum. Pathol.*, 2002, **33**, 459-465.
28. FRANQUEMONT DW. Differentiation and risk assessment of gastrointestinal stromal tumors. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1995, **103**, 41-47.
29. FRANQUEMONT DW, FRIERSON HF. Muscle differentiation and clinicopathologic features of gastrointestinal stromal tumors. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1992, **16**, 947-954.
30. FROST D, LASOTA J, MIETTINEN M. Gastrointestinal stromal tumors and leiomyomas in the dog: a histopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 50 cases. *Vet. Pathol.*, 2003, **40**, 42-54.
31. FURITSU T, TSUJIMURA T, TONO T, IKEDA H, KITAYAMA H, KOSHIMIZU U et al. Identification of mutations in the coding sequence of the proto-oncogene c-kit in a human mast cell leukemia cell line causing ligand-independent activation of c-kit product. *J. Clin. Invest.*, 1993, **92**, 1736-1744.
32. GOETTSCH WG, BOS SD, BREEKVELDT-POSTMA N, CASPARIE M, HERINGS R, HOGENDOORN P. Incidence of gastrointestinal stromal tumours is underestimated: results of a nation-wide study. *Eur. J. Cancer*, 2005, **41**, 2868-2872.
33. GORRE ME, MOHAMMED M, ELLWOOD K, HSU N, PAQUETTE R, RAO PN et al. Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification. *Science*, 2001, **293**, 876-880.
34. HAFNER S, HARMON BG, KING T. Gastrointestinal tumors of the equine cecum. *Vet. Pathol.*, 2001, **38**, 242-246.

35. HEINRICH MC, BLANKE CD, DRUKER BJ, CORLESS CL. Inhibition of KIT tyrosine kinase activity: a novel molecular approach to the treatment of KIT-positive malignancies. *J. Clin. Oncol.*, 2002, **20**, 1692-1703.
36. HEINRICH MC, CORLESS CL, BLANKE CD, DEMETRI GD, JOENSUU H. Molecular correlates of imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors. *J. Clin. Oncol.*, 2006, **24**, 4764-4774.
37. HEINRICH MC, CORLESS CL, DEMETRI GD, BLANKE CD, VON MEHREN M, JOENSUU H *et al.* Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. *J. Clin. Oncol.*, 2003, **21**, 4342-4349.
38. HEINRICH MC, CORLESS CL, DUENSING A, MACGREEVEY L, CHEN CJ, JOSEPH N *et al.* *PDGFRA* activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science*, 2003, **299**, 708-710.
39. HEINRICH MC, RUBIN BP, LONGLEY BJ, FLETCHER JA. Biology and genetic aspects of gastrointestinal stromal tumors: KIT activation and cytogenetic alterations. *Hum. Pathol.*, 2002, **33**, 484-495.
40. HERRERA GA, PINTO DE MORAES HP, GRIZZLE WE, HAN SG. Malignant small bowel neoplasm of enteric plexus derivation (plexosarcoma): light and electron microscopic study confirming the origin of the neoplasm. *Dig. Dis. Sci.*, 1984, **29**, 275-284.
41. HIROTA S, ISOZAKI K, MORIYAMA Y, HASHIMOTO K, NISHIDA T, ISHIGURO S *et al.* Gain-of-function mutations of *c-kit* in human gastrointestinal stromal tumors. *Science*, 1998, **279**, 577-580.
42. HIROTA S, NISHIDA T, ISOZAKI K, TANIGUCHI M, NAKAMURA J, OKAZAKI T *et al.* Gain-of-function mutation at the extracellular domain of KIT in gastrointestinal stromal tumours. *J. Pathol.*, 2001, **193**, 505-510.
43. HIROTA S, OHASHI A, NISHIDA T, ISOZAKI K, KINOSHITA K, SHINOMURA Y *et al.* Gain-of-function mutations of platelet-derived growth factor receptor alpha gene in gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterology*, 2003, **125**, 660-667.
44. HURLIMANN J, GARDIOL D. Gastrointestinal stromal tumours: an immunohistochemical study of 165 cases. *Histopathology*, 1991, **19**, 311-320.
45. ISOZAKI K, TERRIS B, BELGHITI J, SCHIFFMANN S, HIROTA S, VANDERWINDEN JM. Germline-activating mutation in the kinase domain of *KIT* gene in familial gastrointestinal stromal tumors. *Am. J. Pathol.*, 2000, **157**, 1581-1585.

46. JOENSUU H, FLETCHER C, DIMITRIJEVIC S, SILBERMAN S, ROBERTS P, DEMETRI G. Management of malignant gastrointestinal stromal tumours. *Lancet Oncol.*, 2002, **3**, 655-664.
47. JOENSUU H, ROBERTS PJ, SARLOMO-RIKALA M, ANDERSSON LC, TERVAHARTIALA P, TUVESON D *et al.* Effect of the tyrosine kinase inhibitor ST1571 in a patient with metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N. Engl. J. Med.*, 2001, **344**, 1052-1056.
48. KINDBLOM LG, REMOTTI HE, ALDENBORG F, MEIS-KINDBLOM JM. Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. *Am. J. Pathol.*, 1998, **152**, 1259-1269.
49. KITAMURA Y, HIROTA S, NISHIDA T. Molecular pathology of c-kit proto-oncogene and development of gastrointestinal stromal tumors. *Ann. Chir. Gynaecol.*, 1998, **87**, 282-286.
50. KUMAGAI K, UCHIDA K, MIYAMOTO T, USHIGUSA T, SHINOHARA S, YAMAGUCHI R *et al.* Three cases of canine gastrointestinal stromal tumors with multiple differentiations and c-kit-expression. *J. Vet. Med. Sci.*, 2003, **65**, 1119-1122.
51. KUROIWA M, HIWATARI M, HIRATO J, SUZUKI N, TSUCHIDA Y, SHIMADA A *et al.* Advanced-stage gastrointestinal stromal tumor treated with imatinib in a 12-year-old girl with a unique mutation of PDGFRA. *J. Pediatr. Surg.*, 2005, **40**, 1798-1801.
52. LAROCK RG, GINN PE. Immunohistochemical staining characteristics of canine gastrointestinal stromal tumors. *Vet. Pathol.*, 1997, **34**, 303-311.
53. 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.
54. LASOTA J, WOZNIAK A, SARLOMO-RIKALA M, RYS J, KORDEK R, NASSAR A *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.
55. LAU S, TAM KF, KAM CK, LUI CY, SIU CW, LAM HS *et al.* Imaging of gastrointestinal stromal tumour (GIST). *Clin. Radiol.*, 2004, **59**, 487-498.
56. LAUWERS GY, ERLANDSON RA, CASPER ES, BRENNAN MF, WOODRUFF JM. Gastrointestinal autonomic nerve tumors: a clinicopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of 12 cases. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1993, **17**, 887-897.
57. LECOIN L, GABELLA G, LE DOUARIN N. Origin of the c-kit positive interstitial cells in the avian bowel. *Development*, 1996, **122**, 725-733.

58. LEE JR, JOSHI V, GRIFFIN JW Jr, LASOTA J, MIETTINEN M. Gastrointestinal autonomic nerve tumor: immunohistochemical and molecular identity with gastrointestinal stromal tumor. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2001, **25**, 979-987.
59. LEVY AD, REMOTTI HE, THOMPSON WM, SOBIN LH, MIETTINEN M. Gastrointestinal stromal tumors: radiologic features with pathologic correlation. *Radiographics*, 2003, **23**, 283-304.
60. LONDON C. Kinase inhibitors in cancer therapy. *Vet. Comp. Oncol.*, 2004, **2**, 177-193.
61. LUX ML, RUBIN BP, BIASE TL, CHEN CJ, MACLURE T, DEMETRI G *et al.* KIT extracellular and kinase domain mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Am. J. Pathol.*, 2000, **156**, 791-795.
62. MA CK, AMIN MB, KINTANAR E, LINDEN MD, ZARBO RJ. Immunohistologic characterization of gastrointestinal stromal tumors: a study of 82 cases compared with 11 cases of leiomyomas. *Mod. Pathol.*, 1993, **6**, 139-144.
63. MA Y, LONGLEY BJ, WANG X, BLOUNT JL, Langley K, CAUGHEY GH. Clustering of activating mutations in *c-KIT*'s juxtamembrane coding region in canine mast cell neoplasms. *J. Invest. Dermatol.*, 1999, **112**, 165-170.
64. MAAS CP, TER HAAR G, VAN DER GAAG I, KIRPENSTEIJN J. Reclassification of small intestinal and cecal smooth muscle tumors in 72 dogs: clinical, histologic, and immunohistochemical evaluation. *Vet. Surg.*, 2007, **36**, 302-313.
65. MAZUR MT, CLARK HB. Gastric stromal tumors: reappraisal of histogenesis. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1983, **7**, 507-519.
66. MIETTINEN M, EL-RIFAI W, SOBIN LH, LASOTA J. Evaluation of malignancy and prognosis of gastrointestinal stromal tumors: a review. *Hum. Pathol.*, 2002, **33**, 478-483.
67. MIETTINEN M, LASOTA J. Gastrointestinal stromal tumors: definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Arch.*, 2001, **438**, 1-12.
68. MIETTINEN M, MAJIDI M, LASOTA J. Pathology and diagnostic criteria of gastrointestinal stromal tumors (GISTs): a review. *Eur. J. Cancer*, 2002, **38**, S39-S51.
69. MIETTINEN M, MONIHAN JM, SARLOMO-RIKALA M, KOVATICH AJ, CARR NJ, EMORY TS *et al.* Gastrointestinal stromal tumors / smooth muscle tumors (GISTs) primary in the omentum and mesentery: clinicopathologic and immunohistochemical study of 26 cases. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1999, **23**, 1109-1118.

70. MIETTINEN M, SARLOMO-RIKALA M, KOVATICH AJ, LASOTA J. Calponin and h-caldesmon in soft tissue tumors: consistent h-caldesmon immunoreactivity in gastrointestinal stromal tumors indicates traits of smooth muscle differentiation. *Mod. Pathol.*, 1999, **12**, 756-762.
71. MIETTINEN M, SARLOMO-RIKALA M, LASOTA J. Gastrointestinal stromal tumors: recent advances in understanding of their biology. *Hum. Pathol.*, 1999, **30**, 1213-1220.
72. MIETTINEN M, SARLOMO-RIKALA M, SOBIN LH. Esophageal stromal tumors: a clinicopathologic, immunohistochemical and molecular genetic study of 17 cases and comparison with oesophageal leiomyomas and leiomyosarcomas. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2000, **24**, 211-222.
73. MIETTINEN M, SARLOMO-RIKALA M, SOBIN LH, LASOTA J. Gastrointestinal stromal tumors and leiomyosarcomas in the colon: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 44 cases. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2000, **24**, 1339-1352.
74. MIETTINEN M, SOBIN LH, SARLOMO-RIKALA M. Immunohistochemical spectrum of GISTs at different sites and their differential diagnosis with a reference to CD117 (KIT). *Mod. Pathol.*, 2000, **13**, 1134-1142.
75. MIETTINEN M, VIROLAINEN M, SARLOMO-RIKALA M. Gastrointestinal stromal tumors: value of CD34 antigen in their identification and separation from true leiomyomas and schwannomas. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1995, **19**, 207-216.
76. MIN KW. Small intestinal stromal tumors with skeinoid fibers. Clinicopathological, immunohistochemical and ultrastructural investigations. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1992, **16**, 145-155.
77. MONGES G, COINDRE J, SCOAZEC J, BOUVIER A, BLAY J, LORIA-KANZA Y et al. Incidence of gastrointestinal stromal tumors (GISTs) in France: results of the PROGIST survey conducted among pathologists. *J. Clin. Oncol. (ASCO Meeting Abstracts)*, 2007, **25**, 10047.
78. MUDAN SS, CONLON KC, WOODRUFF JM. Salvage surgery for patients with recurrent gastrointestinal sarcoma: prognostic factors to guide patient selection. *Cancer*, 2000, **88**, 66-74.
79. MUKAISHO K, MIWA K, TOTSUKA Y, SHIMOMURA A, SUGIHARA H, WAKABAYASHI K et al. Induction of gastric GIST in rat and establishment of GIST cell line. *Cancer Lett.*, 2006, **231**, 295-303.
80. NAKAHARA M, ISOZAKI K, HIROTA S, MIYAGAWA J, HASE-SAWADA N, TANIGUCHI M et al. A novel gain-of-function mutation of c-kit gene in gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterology*, 1998, **115**, 1090-1095.

81. NILSSON B, BÜMMING P, MEIS-KINDBLOM JM, ODEN A, DORTOK A, GUSTAVSSON B *et al.* Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course and prognostication in the pre-imatinib mesylate era. A population-based western Sweden. *Cancer*, 2005, **103**, 821-829.
82. NISHIDA T, HIROTA S. Biological and clinical review of stromal tumors in the gastrointestinal tract. *Histol. Histopathol.*, 2000, **15**, 1293-1301.
83. NISHIDA T, HIROTA S, TANIGUCHI M, HASHIMOTO K, ISOZAKI K, NAKAMURA H *et al.* Familial gastrointestinal stromal tumours with germline mutation of the KIT gene. *Nat. Genet.*, 1998, **19**, 323-324.
84. ORTIZ-HIDALGO C, DE LEON BOJORGE B, ALBORES-SAAVEDRA J. Stromal tumor of the gallbladder with phenotype of interstitial cells of Cajal. A previously unrecognized neoplasm. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2000, **24**, 1420-1423.
85. PIDHORECKY I, CHENEY RT, KRAYBILL WG, GIBBS JF. Gastrointestinal stromal tumors: current diagnosis, biologic behavior, and management. *Ann. Surg. Oncol.*, 2000, **7**, 705-712.
86. PLAAT BE, HOLLEMA H, MOLENAAR WM, TORN BROERS GH, PIJPE J, MASTIK MF *et al.* Soft tissue leiomyosarcomas and malignant gastrointestinal stromal tumours: differences in clinical outcome and expression of multidrug resistance proteins. *J. Clin. Oncol.*, 2000, **18**, 3211-3220.
87. POL S. *Cancers primitifs du foie*. [En-ligne], 1999. [<http://www.medinspace.com/cancero/doc/primfoi.html>] (consulté le 17 octobre 2007).
88. PRENEN H, DERROOSE C, VERMAELEN P, SCIOT R, DEBIEC-RYCHTER M, STROOBANTS S *et al.* Establishment of a mouse gastrointestinal stromal tumour model and evaluation of response to imatinib by small animal positron emission tomography. *Anticancer Res.*, 2006, **26**, 1247-1252.
89. RAJAN DK, SOULEN MC, CLARK TW, BAUM RA, HASKAL ZJ, SHLANSKY-GOLDBERG RD *et al.* Sarcomas metastatic to the liver: response and survival after cisplatin, doxorubicin, mitomycin-C, ethiodol, and polyvinyl alcohol chemoembolization. *J. Vasc. Interv. Radiol.*, 2001, **12**, 187-193.
90. ROSSI G, VALLI R, BERTOLINI F, MARCHIONI A, CAVAZZA A, MUCCiarini C *et al.* PDGFR expression in differential diagnosis between KIT-negative gastrointestinal stromal tumours and other primary soft-tissue tumours of the gastrointestinal tract. *Histopathology*, 2005, **46**, 522-531.

91. RUBIN BP, SINGER S, TSAO C, DUENSING A, LUX ML, RUIZ R *et al.* KIT activation is a ubiquitous feature of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res.*, 2001, **61**, 8118-8121.
92. RUDOLPH P, GLOECKNER K, PARWARESCH R, HARMS D, SCHMIDT D. Immunophenotype, proliferation, DNA ploidy, and biological behavior of gastrointestinal stromal tumors: a multivariate clinicopathologic study. *Hum. Pathol.*, 1998, **29**, 791-800.
93. RUSSELL KN, MEHLER SJ, SKORUPSKI KA, BAEZ JL, SHOFER FS, GOLDSCHMIDT MH. Clinical and immunohistochemical differentiation of gastrointestinal stromal tumors from leiomyosarcomas in dogs: 42 cases (1990-2003). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2007, **230**, 1329-1333.
94. SAKURAI S, FUKASAWA T, CHONG JM, TANAKA A, FUKAYAMA M. Embryonic form of smooth muscle myosin heavy chain (SMemb/MCH-B) in gastrointestinal stromal tumor and interstitial cells of Cajal. *Am. J. Pathol.*, 1999, **154**, 23-28.
95. SAKURAI S, HASEGAWA T, SAKUMA Y, TAKAZAWA Y, MOTEGI A, NAKAJIMA T *et al.* Mixoid epithelioid gastrointestinal stromal tumor (GIST) with mast cell infiltrations: a subtype of GIST with mutations of platelet-derived growth factor receptor alpha gene. *Hum. Pathol.*, 2004, **35**, 1223-1230.
96. SARLOMO-RIKALA M, KOVATICH AJ, BARUSEVICIUS A, MIETTINEN M. CD117: a sensitive marker for gastrointestinal stromal tumors that is more specific than CD34. *Mod. Pathol.*, 1998, **11**, 728-734.
97. SARLOMO-RIKALA M, MIETTINEN M. Gastric schwannoma. A clinicopathologic analysis of six cases. *Histopathology*, 1995, **27**, 355-360.
98. SATTLER M, SALGIA R. Targeting c-Kit mutations: basic science to novel therapies. *Leuk. Res.*, 2004, **28**, S11-S20.
99. SATURDAY GA, LASOTA J, FROST D, BRASKY KB, HUBBARD G, MIETTINEN M. KIT-positive gastrointestinal stromal tumor in a 22-year-old male chimpanzee (*Pan troglodytes*). *Vet. Pathol.*, 2005, **42**, 362-365.
100. SAVAGE DG, ANTMAN KH. Imatinib mesylate: a new oral targeted therapy. *N. Engl. J. Med.*, 2002, **346**, 683-693.
101. SCAIFE CL, HUNT KK, PATEL SR, BENJAMIN RS, BURGESS MA, CHEN LL *et al.* Is there a role for surgery in patients with "unresectable" cKIT + gastrointestinal stromal tumors treated with imatinib mesylate? *Am. J. Surg.*, 2003, **186**, 665-669.
102. SIRCAR K, HEWLETT BR, HUIZINGA JD, CHORNEYKO K, BEREZIN I, RIDDELL RH. Interstitial cells of Cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1999, **23**, 377-389.

103. SOMMER G, AGOSTI V, EHLERS I, ROSSI F, CARBACIOGLU S, FARKAS J *et al.* Gastrointestinal stromal tumors in a mouse model by targeted mutation of the Kit receptor tyrosine kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, **100**, 6706-6711.
104. TANIGUCHI M, NISHIDA T, HIROTA S, ISOZAKI K, ITO T, NOMURA T *et al.* Effect of c-kit mutation on prognosis of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res.*, 1999, **59**, 4297-4300.
105. TUVESON DA, WILLIS NA, JACKS T, GRIFFIN JD, SINGER S, FLETCHER C *et al.* STI571 inactivation of the gastrointestinal stromal tumor c-KIT oncoprotein: biological and clinical implications. *Oncogene*, 2001, **20**, 5054-5058.
106. VAN OOSTEROM AT, JUDSON I, VERWEIJ J, STROOBANTS S, DI PAOLA ED, DIMITRIJEWIC S *et al.* Safety and efficacy of imatinib (STI571) in metastatic gastrointestinal stromal tumours: a phase I study. *Lancet*, 2001, **358**, 1421-1423.
107. VERWEIJ J, CASALI PG, ZALCBERG JR, LE CESNE A, REICHARDT P, BLAY JY *et al.* Progression-free survival in gastrointestinal stromal tumours with high-dose imatinib: randomised trial. *Lancet*, 2004, **364**, 1127-1134.
108. WENT PT, DIRNHOFER S, BUNDI M, MIRLACHER M, SCHRAML P, MANGIALAO S *et al.* Prevalence of KIT expression in human tumors. *J. Clin. Oncol.*, 2004, **22**: 4514-4522.
109. YOUNG HM, CIAMPOLI D, SOUTHWELL BR, NEWGREEN DF. Origin of interstitial cells of Cajal in the mouse intestine. *Dev. Biol.*, 1996, **180**, 97-107.
110. ZALCBERG JR, VERWEIJ J, CASALI PG, LE CESNE A, REICHARDT P, BLAY JY *et al.* Outcome of patients with advanced gastro-intestinal stromal tumours crossing over to a daily imatinib dose of 800 mg after progression on 400 mg. *Eur. J. Cancer*, 2005, **41**, 1751-1757.
111. ZALUPSKI M, METCH B, BALCERZAK S, FLETCHER WS, CHAPMAN R, BONNET JD *et al.* Phase III comparison of doxorubicin and dacarbazine given by bolus versus infusion in patients with soft-tissue sarcomas: a Southwest Oncology Group study. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1991, **83**, 926-932.