



ROYAUME DU MAROC  
UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE  
FES



**LES TUMEURS STROMALES GASTRO-INTESTINALES :  
ASPECTS CLINIQUES, ANATOMOPATHOLOGIQUES ET  
MOLÉCULAIRES :  
ETUDE RETROSPECTIVE DE 44 CAS**

**MEMOIRE PRESENTE PAR :**

**Docteur SOUAF IHSANE**

**Née le 11/08/1982 à MEKNES**

**POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE EN MEDECINE**

**OPTION : Anatomie Pathologique**

**Sous la direction de**

**Professeur : CHBANI LAÏLA**

**Session OCTOBRE 2014**

# PLAN

I-INTRODUCTION .....	6
II-RAPPELS.....	9
1-HISTORIQUE : .....	10
2-EPIDEMIOLOGIE :.....	12
3-CLINIQUE :.....	13
4- La Paraclinique : .....	16
5- LES ASPECTS ANATOMOPATHOLOGIQUES :.....	20
6- IMMUNOHISTOCHIMIE ET PROBLEME DE DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL :.....	25
7- BIOLOGIE MOLECULAIRE :.....	30
8- THERAPIES CIBLEES : .....	41
III- MATERIEL ET METHODE.....	52
A-MATERIEL: .....	53
1-TYPE ET PERIODE D'ETUDE :.....	53
2-COLLECTE DE CAS : .....	53
3-CRITÈRES D'INCLUSION :.....	53
B-METHODES : .....	54
1-RELECTURE HISTOLOGIQUE:.....	54
2- ETUDE IMMUNOHISTOCHIMIQUE: .....	54
3- BIOLOGIE MOLECULAIRE: .....	54
4- RECUEIL DES DONNEES : .....	58
5- ANALYSE STATISTIQUE :.....	59
IV-RESULTATS .....	60
A-DESCRIPTION DE LA POPULATION : .....	61
1-AGE :.....	61
2-SEXE :.....	61
3-TYPE DE PRELEVEMENT : biopsie/pièce opératoire .....	62

4-SIEGE :.....	62
5-TYPE HISTOLOGIQUE :.....	63
6-TAILLE :.....	63
7-INDEX MITOTIQUE : .....	63
8-RISQUE METASTATIQUE: .....	64
9-EXPRESSION DE CD117, DOG1 ET MDM2:.....	64
10- TRAITEMENT : .....	65
11- EVOLUTION METASTATIQUE :.....	66
B-DONNEES DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE :.....	67
C-ANALYSE DE LA SURVIE :.....	69
D-CORRELATION DE LA SURVIE:.....	70
V-DISCUSSION.....	81
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	87
BIBLIOGRAPHIE .....	90

## ABREVIATIONS

- **GIST** : tumeurs stromales gastro-intestinales
- **TSD** : tumeurs stromales digestives
- **TDM** : Tomodensitométrie
- **TK** : tyrosine-kinase
- **CD 117** : cluster de différenciation 117
- **RTK** : Récepteurs tyrosines kinases
- **SCF** : stem cell factor
- **PDGFR** : platelet-derived growth factor receptors
- **PCR** : réaction de polymérisation en chaîne
- **DNTPs** : DésoxyNucléotides-Tri Phosphates
- **DOG** : Discovered on GIST-1.

# I-INTRODUCTION

Les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) sont des tumeurs rares, (1 à 3 % des tumeurs malignes du tube digestif), toutefois elles représentent les tumeurs mésoenchymateuses les plus fréquentes du tractus gastro-intestinal. Elles se développent à partir des cellules interstitielles de Cajal (cellules intervenant dans l'induction et la régulation du péristaltisme intestinal).

Décrites depuis plus de vingt ans, ces tumeurs ont suscité un très grand intérêt ces dernières années depuis la découverte en 1998 de la protéine c kit ou CD117, qui a permis une meilleure compréhension de la pathogenèse et de l'histogenèse de ces tumeurs. C'est une prolifération immature issue des cellules interstitielles de Cajal, associée à une mutation du gène Kit.

Ces tumeurs sont le plus souvent asymptomatiques découvertes fortuitement lors de l'endoscopie ou de la chirurgie ou bien se révèlent par des symptômes digestifs peu spécifiques (hémorragie digestive, douleurs abdominales.....).

La prise en charge thérapeutique a été complètement révolutionnée par l'introduction dans l'arsenal thérapeutique d'un inhibiteur spécifique de la tyrosine kinase (Imatinib), molécule qui a clairement ouvert la voie des thérapies ciblées en oncologie médicale.

Les principaux facteurs pronostiques des GIST sont la taille de la tumeur et l'index mitotique. Mais pendant ces dernières années, d'autres paramètres, essentiellement cytogénétiques sont en cours d'évaluation.

Le principal problème posé par ces tumeurs est leur potentiel évolutif incertain.

Notre étude rétrospective porte sur 44 cas de tumeurs stromales digestives, répertoriés et pris en charge aux services de gastro -entérologie, chirurgie

viscérale A et B, anatomopathologie et au service d'oncologie médicale du CHU HASSAN II de Fès, durant une période cinq ans (de 2009 à 2014).

Notre travail est une étude rétrospective porte sur 44 cas de tumeurs stromales digestives , répertoriés et pris en charge aux services de gastro – entérologie, de chirurgie viscérale A et B, d'anatomopathologie et au service d'oncologie médicale du CHU HASSAN II de Fès, durant une période cinq an (de 2009 à 2014).

L'objectif de notre travail est de réaliser une étude essentiellement descriptive des tumeurs stromales gastro–intestinales. Il s'intéresse aux aspects cliniques, anatomopathologiques et moléculaires de ces tumeurs.

# II-RAPPELS

## 1-HISTORIQUE :

Les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) représentent la plus grande révolution des dix dernières années dans le domaine des tumeurs mésoenchymateuses.

Auparavant la morphologie distinguait principalement deux catégories de tumeurs mésoenchymateuses du tube digestif : les schwannomes et les tumeurs musculaires lisses (léiomyomes et léiomyosarcomes), en se basant sur leur ressemblance avec les gaines nerveuses et les cellules musculaires lisses.

Les applications immunohistochimiques et les données de la biologie moléculaire ont permis l'individualisation des tumeurs stromales, qui sont maintenant reconnues comme une entité distincte de première importance parmi les tumeurs mésoenchymateuses bénignes et malignes du tractus gastro-intestinal.

Pour comprendre l'état actuel, une description chronologique de l'évolution des concepts de la classification des tumeurs conjonctives est nécessaire :

-En 1941 : Golden et Stout révèlent l'évolution inhabituelle d'une série de tumeurs musculaires lisses du tube digestif [1].

-En 1960 : Martin et al. ont décrit des tumeurs myoïdes [2].

-En 1962 : Stout suggère de les appeler leiomyomes à cellules bizarres, pour désigner des tumeurs gastriques à pronostic incertain, puis leiomyoblastomes, terme repris fréquemment dans la littérature [3].

-En 1977 : Appelman utilise le terme de leiomyome cellulaire de l'estomac pour évoquer une possible origine cellulaire stromale multipotente capable de différenciation musculaire lisse, le nom de <<tumeur stromale>> est alors utilisé pour la première fois dans la littérature [4].

Dans les années 80 l'utilisation extensive de l'immunohistochimie a révélé l'identité singulière des tumeurs stromales digestives sans pour autant préciser leur différenciation exacte.

-En 1983 : Mazur et Clark ont introduit le concept de tumeurs stromales pour désigner les tumeurs conjonctives CD34+ et n'exprimant aucun marqueur de la lignée musculaire lisse ou nerveuse [5].

-En 1984 : Herrera et al. Ont introduit le concept de plexosarcomes [6].

-En 1986 : Walker et Dvorak ont remplacé le terme de plexome et plexosarcome par l'acronyme GANT (gastrointestinal autonomous nerve tumors) dont le diagnostic repose sur des critères ultra structuraux, ce qui rend leur identification problématique en pratique courante [7].

-En 1992 : Min.Kw et al. rapportent une nouvelle entité ultrastructurale les tumeurs avec fibres en écheveau ou fibres skénoïdes [ 8].

-En 1998 : la découverte du c-kit un nouveau marqueur immunohistochimique des tumeurs stromales digestives (TSD) [9,10].

Kindbloom a proposé l'acronyme GIPAC (Gastrointestinal interstitiel Pacemaker cell Tumors) en se basant sur la similitude ultra structurale et immunohistochimique de ces tumeurs et les cellules interstitielles de Cajal - ICC-(interstitiel cell of Cajal) suggérant que les GIST pourraient dériver des cellules de Cajal [11].

Le consensus actuel est de conserver l'expression neutre et générique, mais dorénavant classique de TSD ou GIST. Cette expression continue encore parfois à désigner des entités différentes selon les auteurs cependant les données les plus récentes plaident pour une définition immunohistochimique des TSD articulée autour de leur positivité au CD117.

## 2-EPIDEMIOLOGIE :

Les GIST sont des tumeurs rares, elles représentent 1 à 3% des cancers gastro-intestinaux, mais près de 20% des cancers de l'intestin grêle [12].

Ce sont les tumeurs mésoenchymateuses les plus fréquentes du tractus digestif.

L'incidence exacte des GIST est encore difficile à évaluer du fait des modifications récentes de leur définition [13].

Leur incidence est estimée à 15 nouveaux cas/ million d'habitant/ an, soit 900 nouveaux cas / an en France [12,14].

Elles représentent moins de 1% de l'ensemble des tumeurs malignes du tube digestif [15,16].

L'âge médian du diagnostic est compris entre 50 et 70 ans [17] rarement avant l'âge de 40 ans. Elles sont rarement observées chez la population pédiatrique avec seulement 140 cas rapportés dans la littérature, sans prédominance du sexe [18,19].

Il n'existe pas de prédominance de sexe [13]. Dans quelques séries on retrouve une prédominance masculine.

Une étude portant sur 200 cas a montré la prédominance des tumeurs stromales digestives plus chez les patients de race blanche (83%) que chez ceux de la race noire (8%) [20]. Cependant les autres séries étudiées ne rapportent aucun facteur racial [21].

La répartition topographique des GIST est décroissante de l'estomac au rectum [14].

La localisation gastrique est la plus fréquente (50-70%), suivie de l'intestin grêle (20-30%), le colon et le rectum (10%) et un degré moindre l'œsophage [23,24] (tableau 1).

Siège	Fréquence/Ensemble des GIST (de tous les sièges)	Prévalence des GIST malins/Ensemble des tumeurs malignes du siège considéré (%)	Prévalence des GIST malins/Ensemble des GIST (%)
Estomac	50-70%	1-3%	20-30%
Intestin grêle	20-30%	5-25%	40-50%
Colon, Rectum	<10%	0,1-0,3	40-50%
Péritoine	<5%	?	Mésentère : >50 Epiploon : 20-30%
Œsophage	<5%	?	40-50

**Tableau 1: Principales localisations et prévalence des tumeurs stromales [22].**

### **3-CLINIQUE :**

#### **A-Circonstances de découverte :**

La symptomatologie clinique des tumeurs stromales gastriques est variable selon le volume, la localisation et selon le type et le mode de développement de la tumeur [25].

La plupart des tumeurs stromales de l'estomac sont de petite taille et asymptomatiques. Leur découverte est le plus souvent fortuite lors d'une intervention chirurgicale ou d'un examen radiologique ou endoscopique [26,27].

Les symptômes cliniques révélateurs les plus fréquents ne sont pas spécifiques [12,28] :

- Les douleurs abdominales sont fréquentes (47%) et elles sont peu spécifiques [12,28].
- L'hémorragie digestive est révélatrice dans 25-55% des cas (Hématémèse, méléna, anémie ferriprive) [28, 29, 30]. L'hémorragie est due à des

ulcérations qui peuvent parfois se cicatriser et donner un tableau de saignement à répétition [28].

- Rarement une masse palpable habituellement de grande taille, exogastrique est parfois notée [28,31]. Les autres symptômes possibles sont une altération de l'état général, un syndrome dyspeptique dans 16% des cas, des nausées et des vomissements dans 4% des cas [28].
- Ces tumeurs peuvent se présenter aussi dans un tableau d'urgence abdominale telle une péritonite par perforation de la tumeur [28, 30, 31, 32, 33].

## **B-Formes cliniques particulières: Associations lésionnelles**

La plupart des tumeurs stromales digestives sont sporadiques mais il existe quelques cas de maladies familiales. Les GIST peuvent être également observées dans le contexte d'une triade de Carney ou d'une neurofibromatose type 1 situation où les GIST sont généralement multiples.

### **a- La triade de Carney :**

Entité rare (une soixantaine de cas depuis sa description en 1977 Carney) [1] et d'étiologies inconnues.

Elle survient chez l'adolescent et la femme jeune (<35 ans), associe classiquement des GIST multiples, un chondrome pulmonaire et un paragangliome extra-surrénalien fonctionnel qui peut se révéler malin [12,34].

Le plus souvent deux de ces tumeurs sont retrouvées, parfois de manière métachrone, la combinaison de GIST et chondrome pulmonaire est la plus fréquente 56% [12].

Les tumeurs stromales gastriques rencontrées au cours de cette triade se développent principalement au niveau du corps de l'estomac ou au niveau de la région antrale. Elles sont généralement multifocales, et elles ont un meilleur

pronostic que les tumeurs sporadiques [35].

Sa mortalité globale est de 20% [12].

## **B- La maladie de Von Recklinghausen ou neurofibromatose type 1 :**

C'est une phacomatose héréditaire à transmission autosomique dominante qui touche toutes les races avec une incidence de 1/3000 naissances [36]. Elle est d'évolution lente et se caractérise par la présence de tumeurs cutanées, de tumeurs des nerfs périphériques et de système nerveux central (gliomes), des malformations squelettiques et des taches pigmentaires (café au lait) [36].

Elle peut s'accompagner de manifestations digestives, des lésions hyperplasiques des plexus et gangliomateuses, des tumeurs endocrines duodénales et ampullaires, des tumeurs stromales digestives [36].

La prévalence des GIST dans la maladie de Von recklinghausen est de 25% des cas dans des études autopsiques et de 5% dans les tumeurs révélées cliniquement [36].

Habituellement ces GIST sont découvertes chez des adultes déjà porteurs de lésions cutanées et elles ne présentent pas de particularités morphologiques, mais sont souvent multiples [36].

En pratique la découverte de tumeurs stromales digestives multiples doit faire rechercher une neurofibromatose chez le malade et sa famille [36].

## **c- Les formes familiales :**

De rares formes familiales de GIST multiples ont été décrites [37,38], parfois associés à une hyperpigmentation, un urticaire pigmentaire et/ou une mastocytose systémique [38].

Dans les syndromes familiaux, une consultation d'oncogénétique, après information et accord du patient est recommandée.

## 4- La Paraclinique :

Selon la présentation clinique, divers examens permettent le diagnostic d'une tumeur gastrique. Cependant, certains critères endoscopiques ou radiologiques peuvent orienter le praticien vers le diagnostic d'une tumeur stromale gastrique, sans toutefois lui offrir d'arguments de certitude.

### A- Biologie :

La biologie est peu contributive, l'anémie est la conséquence directe du saignement [12].

Un syndrome inflammatoire biologique peut être mis en évidence [39].

Il n'existe pas de marqueurs tumoraux spécifiques [12].

### B- L'endoscopie :

Les aspects endoscopiques des GIST ne sont pas spécifiques.

L'endoscopie permet de visualiser la tumeur, qui se présente le plus souvent comme une masse, réalisant l'aspect d'une formation arrondie bombant sous une muqueuse normale ou ulcérée en cas de tumeur endophytique (figures 1).

Lorsque la tumeur est exophytique la paroi peut paraître simplement rigidifiée ou encore présenter une voussure posant le problème de compression extrinsèque [40].

D'autre part l'endoscopie permet de réaliser des biopsies même si elles ne sont contributives que dans 15 à 30 % des cas [41].

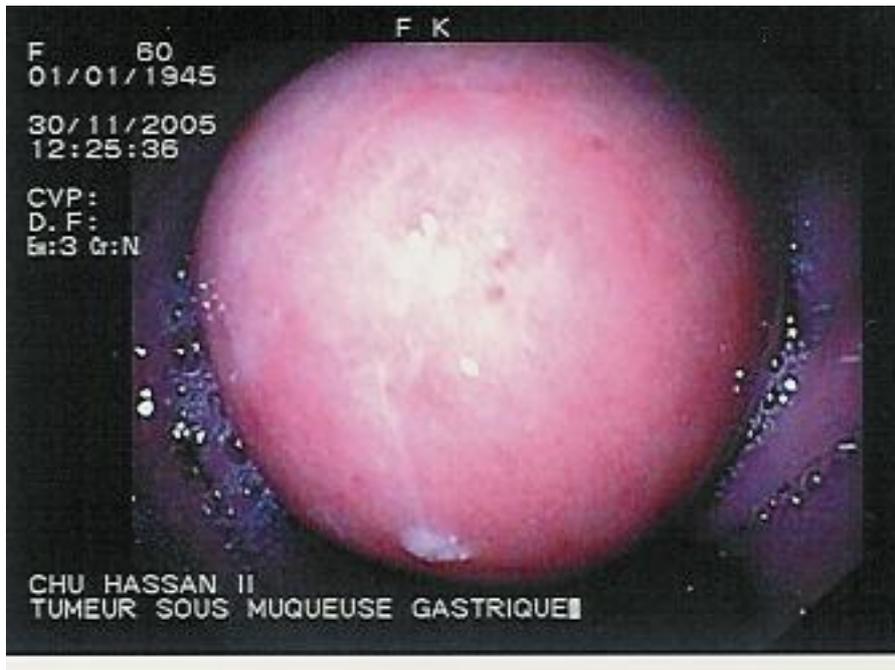


Figure 1 : Vue endoscopique d'une tumeur stromale fundique.

### C- L'écho-endoscopie :

Elle reste le meilleur examen pour caractériser les tumeurs sous-muqueuses gastriques et les différencier d'une compression extrinsèque [28].

L'aspect écho-endoscopique des tumeurs stromales gastriques est souvent très évocateur : lésion hypoéchogène, souvent homogène arrondie ou ovale siégeant dans la quatrième couche (muscleuse) ou la troisième couche (sous-muqueuse) (Figure 2) [28,42].

La sensibilité et la spécificité de l'écho-endoscopie n'ont jamais été réellement déterminées [43].

Cependant, certaines caractéristiques écho-endoscopiques sont prédictives de la malignité d'une tumeur stromale gastrique et notamment une taille supérieure à 3 cm, l'existence d'une nécrose centrale, des contours mal délimités, l'envahissement d'organes de voisinage et la présence de zones kystiques intra-tumorales [28,44].

Selon Giovanni, l'écho-endoscopie a permis une classification préopératoire tumorale et ganglionnaire correcte dans 83,3 %, et ganglionnaire dans 90% des cas [28].

Les biopsies endoscopiques sont souvent négatives car trop superficielles, une deuxième série de biopsies plus profondes parfois réalisées sous écho endoscopie peut être proposée pour affirmer le diagnostic [12].

**Les principales indications de la ponction échoguidée sont:**

1) doute diagnostique avec une autre lésion sous-muqueuse pour laquelle une simple surveillance serait licite [43].

2) obtenir une certitude diagnostique si l'état clinique du patient rend élevé le risque chirurgical [43].

3) tumeur localement avancée ou tumeur d'allure inextirpable pour laquelle un traitement néoadjuvant par Glivec<sup>®</sup> pourrait être mis en route [43].

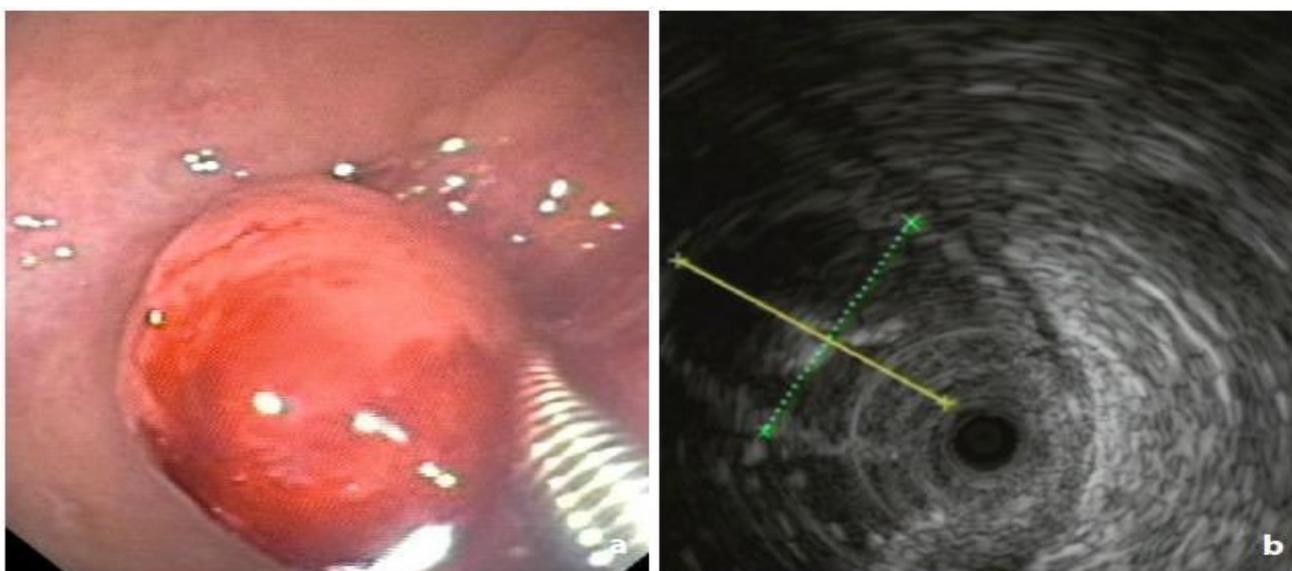


Figure 2 : aspects endoscopique (a) et écho-endoscopique (b) typique d'une GIST gastrique [45].

## **D- RADIOLOGIE :**

### **1-L'échographie abdominale :**

Effectuée dans le cadre du bilan d'extension pour la détection de métastases hépatiques et les adénopathies profondes [46].

L'échographie a été supplantée par la TDM et l'IRM pour la description des rapports tumoraux locorégionaux et la description des métastases [46].

### **2-TDM ou l'IRM : (Figures 3)**

La TDM a un double intérêt : le diagnostic et le suivi des patients sous traitement. Les GIST apparaissent sous forme de masse arrondie ou ovale à limites nettes et exophytiques. L'appréciation du diamètre tumorale est un paramètre pronostic important [17,47].

La TDM permet de faire un bilan d'extension locorégional afin d'évaluer les possibilités chirurgicales et guider d'éventuelles biopsies.

Les critères de malignité des tumeurs stromales gastrique en TDM seraient une taille supérieure à 5 cm, des contours polylobés, un rehaussement hétérogène, une infiltration mésentérique, la présence d'ulcérations, le caractère exophytique du développement, la présence de zones nécrotiques et hémorragiques, et bien évidemment l'existence de métastases hépatiques et une dissémination péritonéale [47].

En cas de tumeur rectal l'IRM est plus performante [46].

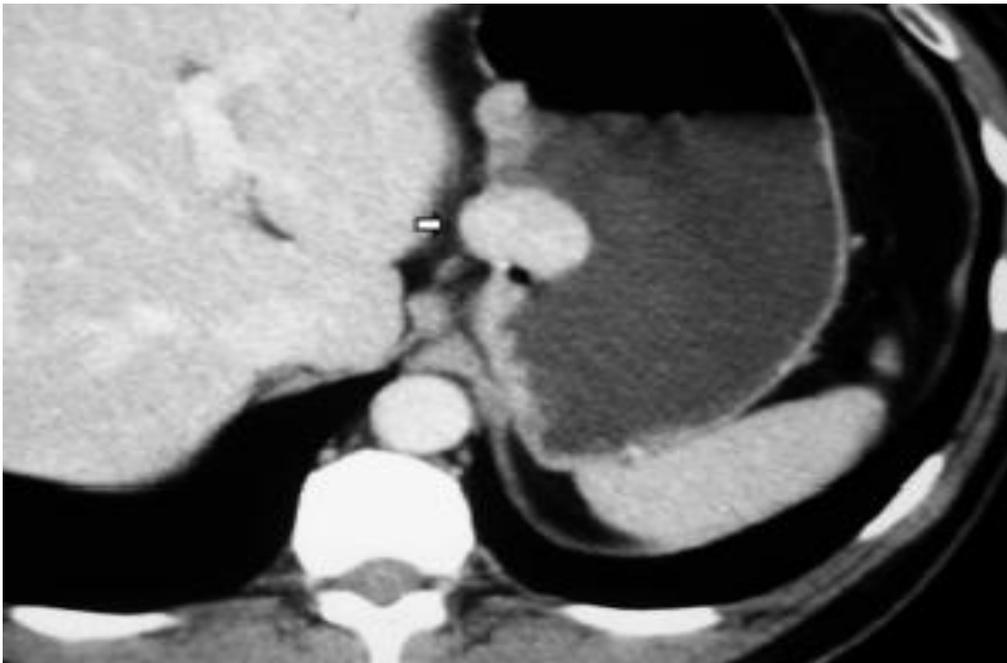


Figure 3: Coupe tomodensitométrique après injection intraveineuse du produit de contraste d'une GIST montrant : un nodule pariétal de la petite courbure gastrique (flèche) prenant le contraste de façon homogène [47].

### 3-Le PET- scanner :

Intérêt surtout pour le suivi des patients sous traitement médical.

Fondé sur le métabolisme in vivo du fluoro-2-désoxy D glucose, le PET scanner semble être le meilleur examen radiologique pour évaluer précocement l'efficacité du traitement par l'imatinib [46].

Il se discute aussi pour des lésions suspectes de métastases [46,49] Sachant qu'il existe 15% de faux négatifs [26].

## 5- LES ASPECTS ANATOMOPATHOLOGIQUES :

### ❖ MACROSCOPIE : (figures 4,5)

Le spectre morphologique des GIST est très large et peut mimer n'importe quelle tumeur [50].

Les GIST typiques constituent des lésions nodulaires développées dans

l'épaisseur de la paroi digestive, s'étendant du côté séreux et/ou muqueux en obstruant parfois la lumière du grêle ou du côlon lorsqu'elles sont volumineuses[50]. Elles peuvent avoir une croissance endophytique vers la lumière digestive ulcérant la muqueuse soit exophytique vers la cavité abdominale, soit mixte réalisant un aspect en « sablier » [50].

Elles sont bien délimitées, non encapsulées, souvent de consistance très ferme et de couleur blanchâtre. Les lésions de petite taille sont homogènes mais les lésions les plus volumineuses présentent souvent des remaniements hémorragiques, kystiques ou nécrotiques [50].

Leur taille varie de quelques mm à plus de 40cm de diamètre, elle est en moyenne inférieure à 5 cm [51].

La mesure de la taille du diamètre maximale est un paramètre important pour la classification pronostic [17].



**Figure 4 : résection chirurgicale d'une tumeur stromale jéjunale à 1 m60 de l'angle de Treitz.**



Figure 5: résection chirurgicale d'une tumeur ulcérée de la face postérieure du corps gastrique.

❖ MICROSCOPIE :

A-Microscopie optique :

Histologiquement, on retrouve 3 types principaux suivant l'aspect des cellules tumorales :

Une prolifération de cellules fusiformes (figure 6): est retrouvée dans 70% des cas [52]. Elle est constituée d'éléments allongés comportant un cytoplasme éosinophile, plus pâle que celui des cellules musculaires lisses, et des noyaux effilés réguliers [53]. Les cellules peuvent comporter une vacuole juxta nucléaire [53].

Le type épithélioïde (figure 7): représente 20% [52]. Les cellules sont de formes arrondies ou polygonales, leurs noyaux plus volumineux est souvent bordé d'un halo clair [53], ce type histologique concerne 40% des localisations gastriques [14].

Le type mixte: 10% des cas [52], associant des éléments fusiformes et

épithélioïdes [51].

On peut rencontrer aussi des cellules en bagues à chaton, des cellules plasmocytoïdes, des cellules granuleuses ou encore des cellules multinuclées [14,54].

L'architecture de la prolifération cellulaire tumorale est variée : fasciculée, storiforme, palissadique (rappelant l'aspect des tumeurs nerveuses), alvéolaire (rappelant l'aspect des paragangliomes) ou en îlots endocrinoïdes, ou diffuse [54].

Le stroma est grêle, parcouru de nombreux vaisseaux sanguins [53]. Il est parfois abondant hyalin ou myxoïde. Des globules ou serpentassions éosinophiles colorés par le réactif schiff (PAS) peuvent y être notés "fibres skénoïdes" [53].

Les remaniements sont d'autant plus fréquents que la tumeur est volumineuse : hémorragie, nécrose, kystisation [53,54].

De nombreuses variantes histologiques existent et peuvent être trompeuses.

Les aspects histologiques peuvent varier suivant le siège de la tumeur et le type d'anomalies moléculaires [14].

Les GIST ont le plus souvent une activité mitotique faible et la nécrose est présente dans 20% des cas [55].

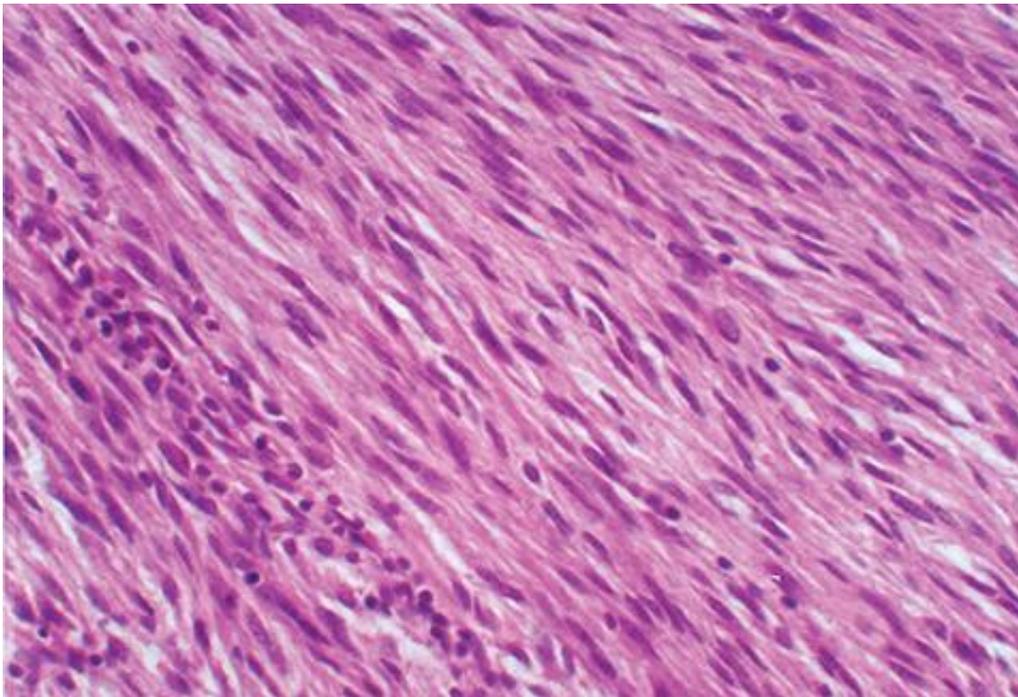


Figure 6: Aspect microscopique d'une tumeur stromale constituée d'un enchevêtrement de cellules fusiformes [54].

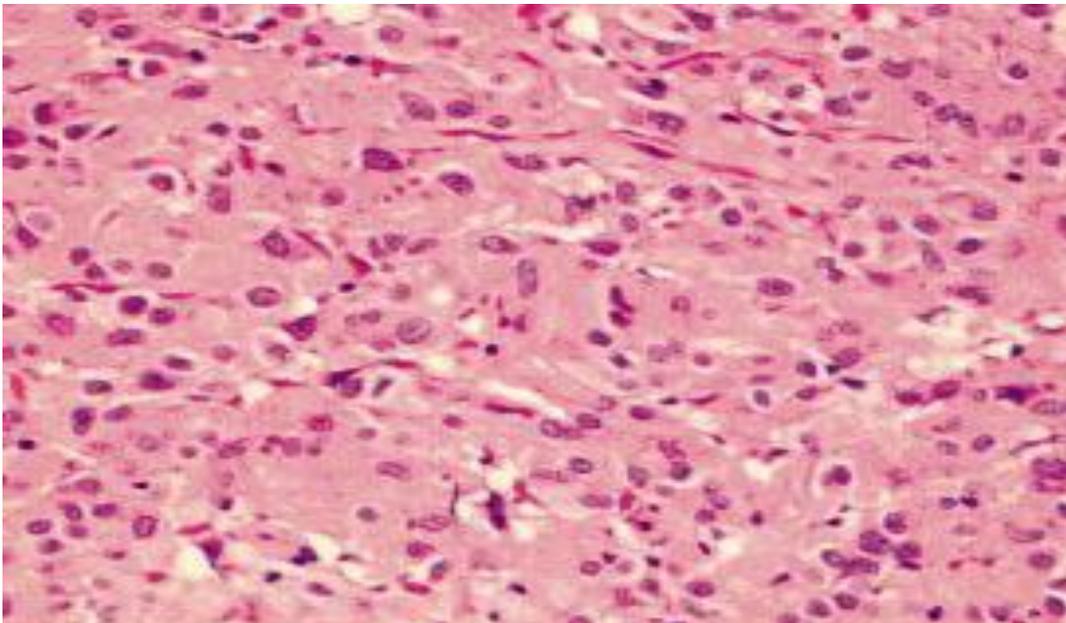


Figure 7: Aspect histologique d'une tumeur stromale constituée de cellules épithéloïdes [54].

### ❖ Microscopie électronique :

La microscopie électronique est peu employée en routine.

L'ultra structure des GIST ne montre généralement pas ou peu de différenciation musculaire lisse ou schwannienne, mais par contre elle a permis d'individualiser deux sous entités des GIST qui sont les tumeurs du système nerveux autonome (GANT) [53] et les tumeurs à fibres skénoïdes ou en écheveau [53] qui sont des fibres denses agencées en faisceau enchevêtrés, ces fibres correspondent aux dépôts intercellulaires éosinophiles notés en microscopie optique.

## 6- IMMUNOHISTOCHIMIE ET PROBLEME DE DIAGNOSTIC

### DIFFÉRENTIEL :

#### A-IMMUNOHISTOCHIMIE :

L'étude immunohistochimique est indispensable pour établir le diagnostic des GIST.

Elle peut employer un large panel de marqueurs incluant obligatoirement le CD117 et le DOG1.

#### 1- CD 117 / c-kit :

Ces tumeurs présentent, de manière caractéristique, une positivité pour le CD117 ou c- kit, qui est un récepteur de la tyrosine-kinase exprimé normalement dans les cellules souches hématopoïétiques, les mastocytes, les cellules germinales et les cellules interstitielles de Cajal du tractus gastro-intestinal.

La standardisation du protocole immunohistochimique est un point important de la sensibilité et la spécificité de l'immunodétection [53,56], les recommandations du groupe francophone et celles du consensus de l'ESMO 2004, préconisent l'utilisation de l'anticorps anti-kit polyclonal A4502 de la firme Dako

(Glostrup, Danemark), à la dilution de 1/300 en cas de démasquage antigénique par la chaleur (tampon citrate PH 6) ou à la dilution 1/50° en l'absence de restauration antigénique [14].

L'examen des coupes doit commencer par la recherche et l'analyse de témoins positifs internes : mastocytes, présents constamment dans le chorion muqueux ou au sein de la tumeur, cellule de Cajal [14,53].

La localisation de l'immunomarquage est variable au sein des cellules tumorales. Elle est principalement cytoplasmique souvent associée à un renforcement membranaire, qui peut être réduit en grains péri nucléaires ou en dot [53], notamment dans les formes épithélioïdes [14] (figure 8).

Une association de différents types d'immunomarquage est possible au sein d'une même tumeur [53].

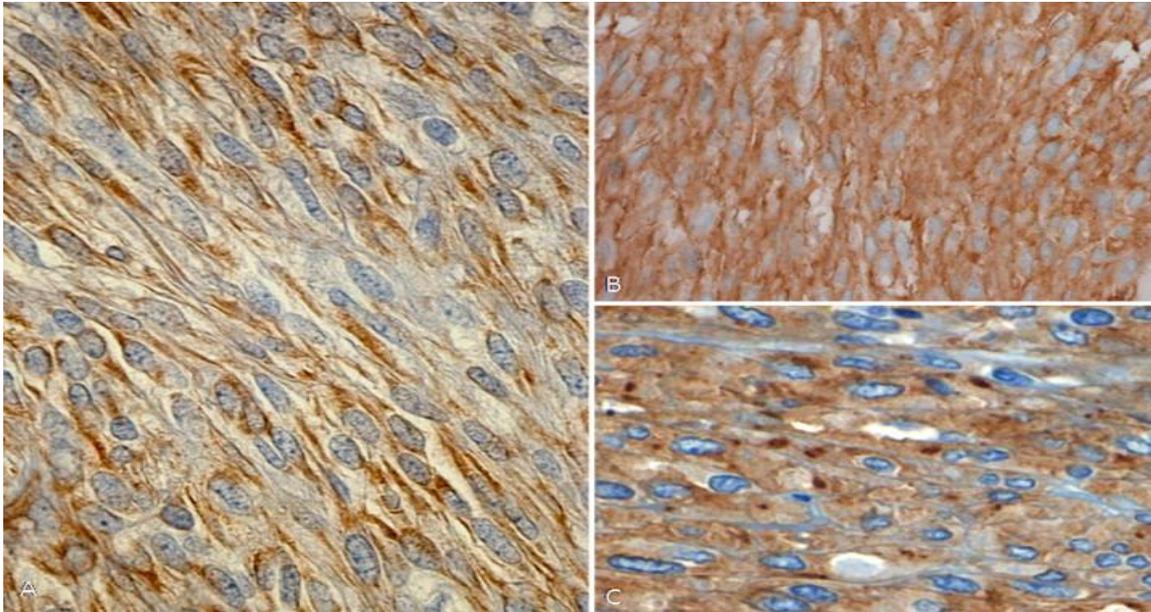
L'intensité et le pourcentage de cellules positives sont variables. Il n'y a pas de consensus sur le nombre de cellules kit positives pour l'établissement d'un immunomarquage positif, néanmoins une positivité focale < 10% doit faire porter le diagnostic avec une grande prudence [14].

Les faux négatifs sont dus à des artefacts techniques (importance des témoins internes), ou à un problème d'échantillonnage (limite de l'interprétation sur des biopsies) [14].

Les cellules peuvent également avoir perdues l'expression de la protéine au cours de l'évolution métastatique de la maladie ou au décours d'un traitement par l'imatinib [14].

Les GISTs kit négatif représentent 5 % de l'ensemble des tumeurs [38]. Avant d'affirmer formellement le diagnostic de kit -, il est actuellement recommandé de rechercher une mutation du gène kit et PDGFRA par des techniques de biologie moléculaire [25,38].

Le CD117 n'est pas un marqueur spécifique, de nombreuses cellules normales et d'autres types tumoraux peuvent exprimer kit (mélanomes 30 à 50%, séminomes 80%, neuroblastome 80%.) [53].



**Figure 8:** GIST : (A) marquage cytoplasmique par le CD117. (B) marquage cytoplasmique et membranaire par le CD117. (C) marquage cytoplasmique et paranucléaire en dotepar le CD117 [57].

## 2- La protéine DOG1 :

Discovered on GIST-1 ou DOG1 code pour une protéine des canaux chlore calcium dépendant. Découvert à partir de profil d'expression d'une série de GIST, cette protéine est exprimée dans 94,4 % des GIST, en particulier les formes épithélioïdes négatives pour CD117 [58]. Marqueur sensible et spécifique, il permet de réduire à 2,6 % les GIST négatives pour l'un ou l'autre marqueur.

A été proposée comme un marqueur spécifique et hautement sensible des GIST [59]. La sensibilité de l'immunomarquage serait voisine de 100% pour les tumeurs associées à une mutation de KIT comme pour celles associées à une mutation de PDGFRA.

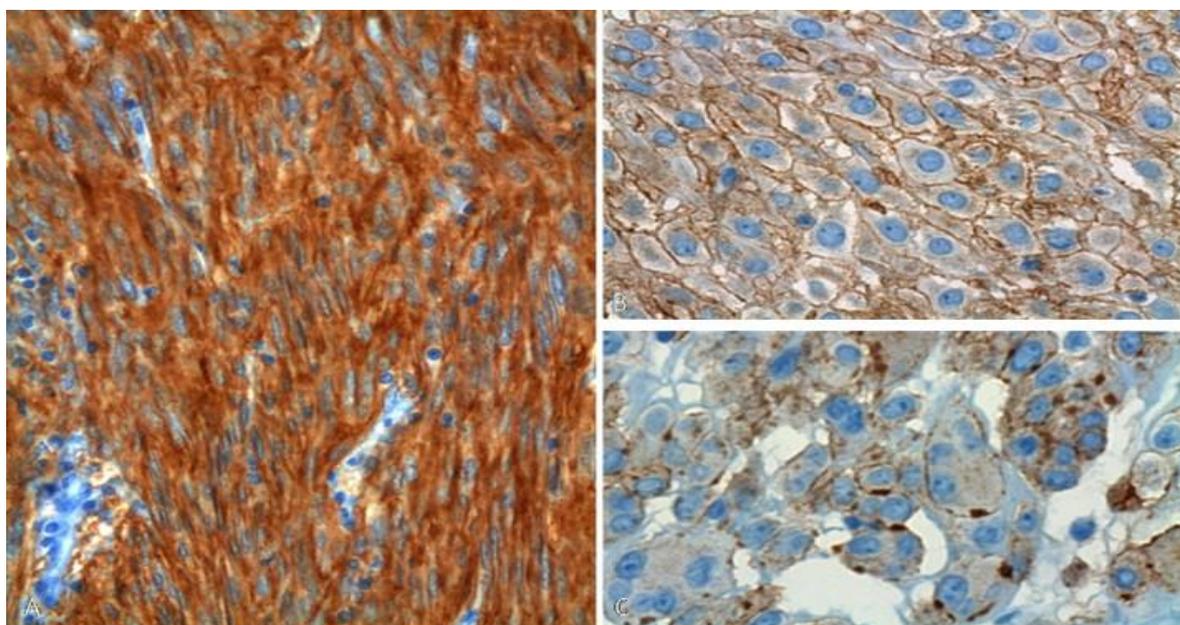
l'immunomarquage est principalement cytoplasmique souvent associée à un renforcement membranaire, qui peut être réduit en grains péri nucléaires ou en dot [53], notamment dans les formes épithélioïdes [14] (figure 9).

Miettinen et al. [58] ont rapporté que les taux de positivité DOG1 étaient pratiquement identiques au taux de positivité CD117 (94,8% vs 94,9%).

Environ 36% à 50% des GIST CD117-négatives sont DOG-1 positif. C'est un marqueur très sensible et plus spécifique que le CD117 [57,60].

Les études immunohistochimiques ont montré que le DOG1 et le CD117 sont les anticorps les plus sensibles et spécifiques pour le diagnostic de GIST. D'autres anticorps était inefficace pour confirmer un diagnostic de GIST, mais ont été particulièrement utiles dans le diagnostic différentiel.

Actuellement, la société européenne d'oncologie (ESMO) recommande l'utilisation du CD117 et la protéine DOG1 comme marqueurs diagnostiques [61].



**Figure 9:** GIST (A) Marquage cytoplasmique du Dog1 (GIST fusocell). (B) GIST épithélioïde avec un marquage membrane du Dog1. (C) GIST épithélioïde avec un marquage membranaire du Dog1 et pointillage périphérique [57].

## **B-PROBLEME DE DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL :**

Depuis la découverte du marqueur c-KIT et l'évolution de l'immunohistochimie, l'incertitude face au diagnostic du GIST se fait de plus en plus rare. Le diagnostic le plus confondant morphologiquement avec le GIST sont les tumeurs du muscle lisse, comme le léiomyome et le léiomyosarcome. Ensuite viennent les tumeurs d'origine neurale, comme les schwannomes, les neurofibromes et les tumeurs malignes du tissu nerveux périphérique [62].

C'est l'immunohistochimie des GIST qui permet actuellement le diagnostic différentiel avec les autres tumeurs du mésenchyme : si le léiomyome, le léiomyosarcome et le schwannome peuvent être difficiles à distinguer des tumeurs stromales en microscopie, l'étude des marqueurs immunologiques de ces différentes tumeurs permet de les classer aisément, puisque les tumeurs stromales sont les seules à exprimer la protéine kit.

Exceptionnellement, lorsque les GIST n'expriment ni le CD117 ni le CD34, l'hybridation génomique comparative peut être utilisée pour étayer le diagnostic et écarter la possibilité d'un léiomyosarcome.

Un petit nombre d'autres tumeurs peuvent inconstamment exprimer le CD117 comme les mélanomes métastatiques, les sarcomes à cellules claires, les angiosarcomes, les séminomes et les cancers du poumon à petites cellules, mais ils n'entrent pas dans le cadre du diagnostic différentiel des GIST [63] (tableau 2).

	Tumeurs			
	stromales digestives	Léiomyome	Léiomyosarcome	Schwannome
Actine	+/-	+	+	-
Desmine	-	+	+/-	-
NSE	+/-	-	-	+
PS100	-	-	-	+
Vimentine	+	-	+/-	-
CD34	+	-	-	-
CD117	+	-	-	-

**Tableau 2:** Diagnostic différentiel en immunohistochimie des GIST [63].

## **7- BIOLOGIE MOLECULAIRE :**

Les GIST sont caractérisées par une mutation activatrice de l'un des deux gènes codant pour des protéines appartenant à la famille de récepteurs à activité tyrosine kinase III, c-kit et PDGFRA.

Ces mutations aboutissent à une activation permanente de la voie de transduction sous jacente et à une activation des signaux mitogènes.

La recherche des mutations de KIT et de PDGFRA est maintenant systématique dans les GIST , non pas pour le diagnostic qui est en règle facile , mais principalement pour la prédiction de la réponse aux thérapeutiques anti - tyrosines-kinases [64].

### **A-Récepteurs tyrosines kinases : (RTK)**

#### **1- structure :(Figure10)**

Les récepteurs tyrosine kinase [14] sont des protéines transmembranaires qui possèdent un domaine extracellulaire comportant le site de fixation du ligand (facteur de croissance) et un domaine intracellulaire à activité tyrosine kinase, permettant la phosphorylation des résidus tyrosines, ces deux domaines sont

reliés par une région transmembranaire.

Leur site kinase est normalement inactif et pour être activé, le résidu tyrosine doit être phosphorylé.

La partie extracellulaire comprend des domaines permettant la dimérisation du récepteur (domaine riche en cystéine et leucine).

Le domaine transmembranaire est composé d'une séquence hydrophobe permettant au récepteur d'être ancré dans la membrane.

Le domaine intracellulaire tyrosine kinase est la partie la plus conservée des récepteurs, il est formé de deux parties : une partie N- terminale, qui fixe l'ATP et une partie C- terminale ayant une activité phosphotransférase.

L'activité kinase, résultant de l'autophosphorylation sur les résidus tyrosine dans le domaine catalytique, n'a aucun effet sur l'expression et la localisation des récepteurs à la surface des cellules. Cependant elle est fondamentale pour l'activation de la transduction et pour l'induction de la prolifération et la différenciation cellulaire [65].

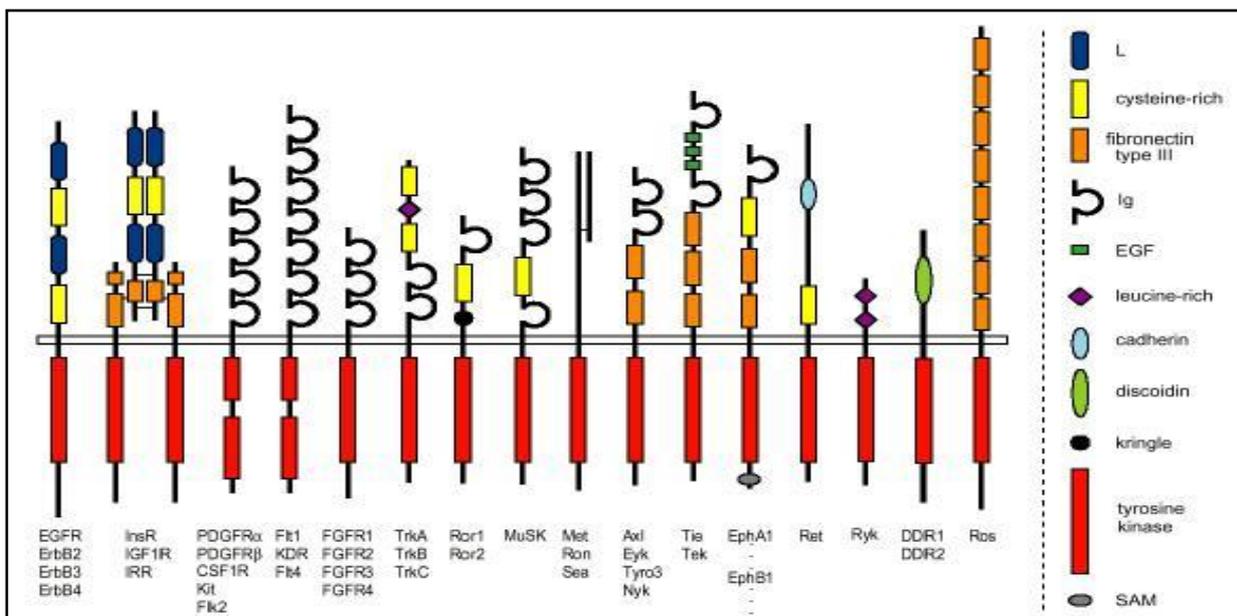


Figure 10: Famille des récepteurs tyrosine kinase

### a- c- kit ou CD117 :

C'est un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase, de 145 KD produit du proto-oncogène Kit et dont le ligand est le stem cell factor (SCF) [66].

Il possède un rôle capital dans la différenciation et la croissance de différentes cellules (mastocytes, cellules souche hématopoïétiques, cellules germinales et les cellules interstitielles de Cajal) [66].

Les mutations de ce gène sont observées dans 75 à 80% des GIST [67] et sont responsables d'une activation spontanée de c-kit et ce indépendamment de sa liaison avec SCF [67], des signaux intracellulaires sont alors transmis par de multiples voies métaboliques de signalisation et nombreux effecteurs intracellulaires intervenant dans la prolifération cellulaire sont stimulés [67].

### b-PDGFR A:

PDGFRA est un récepteur transmembranaire, son ligand est le PDGF sécrété essentiellement par les plaquettes et également par l'endothélium et les mastocytes. En se liant au PDGFR, PDGF augmente la synthèse de certaines protéines, l'activité de la stromélysine (une collagénase) et la prolifération cellulaire, il a un effet vasoconstricteur et angiogénique.

### 2- l'activation des récepteurs tyrosine kinase :

Les kinases possèdent une séquence boucle d'activation dont le positionnement par rapport au site de fixation de l'ATP régule l'activité du récepteurs [65].

Cette boucle d'activation doit être phosphorylée pour que la kinase soit active.

Il existe une conformation ouverte dans laquelle il y a fixation de l'ATP et transphosphorylation .Dans la conformation fermée la boucle masque le site de liaison de l'ATP, réduisant ainsi l'activité catalytique du récepteur [65].

Ce mécanisme d'auto inhibition est commun à de nombreuses kinases et est perturbé en cas de cancer. La répression normale des domaines catalytiques est alors inhibée et cela forme des protéines constitutionnellement actives [65].

La liaison du ligand induit la dimérisation des récepteurs et stabilise le récepteur sous sa forme active.

La protéine kinase de chaque monomère phosphoryle des résidus tyrosines de son partenaire dans le dimère, c'est l'autophosphorylation. Cela a pour effet de stimuler l'activité de la tyrosine kinase. Il y a alors une cascade de transduction du signal [68]. Une fois phosphorylé, le récepteur ne peut plus être déphosphorylé, son activité enzymatique va donc se poursuivre indéfiniment. Pour stopper son action, la cellule va internaliser le récepteur, la protéine va ensuite être dégradée dans les lysosomes ou être renvoyée à la surface de la membrane pour être réutilisée.

### **B- Anomalies moléculaires des GIST:(Figure 11).**

C'est en 1998 que les travaux d'Hirota et al . ont mis en évidence que les GIST sont fréquemment porteuses de mutations du gène C -KIT [70,71]. Ce gène, localisé sur le chromosome 4 (région 4q12) et comportant 21 exons, code pour un récepteur à activité tyrosine kinase impliqué dans l'activation de plusieurs voies de signalisation jouant un rôle crucial dans la prolifération ou la survie cellulaire telles que les voies Ras/Raf/MAP kinases, Stat, et PI3K/Akt/mTOR.

Près de 95 % des GIST expriment le récepteur C-KIT, avec une positivité de l'immunomarquage par l'anticorps anti-CD117, alors une mutation du gène n'est identifiée que dans 80 % des cas environ [67].

Ces mutations concernent essentiellement (65 % des cas) le domaine juxtamembranaire du récepteur (exon 11) et correspondent à des délétions ou à des insertions sans modification du cadre de lecture ou encore à des mutations

non-sens. La région juxtamembranaire de C-KIT a notamment pour fonction d'inhiber la dimérisation du récepteur en l'absence de son ligand le stem cell factor. Des mutations dans cette région entraînent ainsi une perte de cette fonction et une dimérisation du récepteur indépendamment de la présence du ligand [68].

Les tumeurs caractérisées par une mutation de l'exon 11 de C-KIT semblent avoir une agressivité spontanée importante. Par ailleurs, le type de mutation de l'exon 11 n'est pas neutre sur le plan pronostic [64]. Ainsi, les délétions seraient associées à un plus mauvais pronostic que les cas avec une insertion ou une mutation ponctuelle.

Par ailleurs, le caractère homozygote de la mutation de l'exon 11 serait également un facteur de mauvais pronostic [69].

Plus rarement, des mutations sont observées au niveau des exons 9, 13 ou 17 [66]. Celles de l'exon 9 (10 % des cas) sont plus fréquemment associées aux GIST de l'intestin grêle et à un mauvais pronostic [64]. Il s'agit le plus souvent d'une duplication-insertion qui concerne un motif du domaine extracellulaire dont la fonction serait d'empêcher la dimérisation du récepteur.

Les mutations de l'exon 13 (domaine kinase I) et de l'exon 17 (boucle activatrice) sont rares, voire exceptionnelles (< 5 % et < 1 % des cas respectivement).

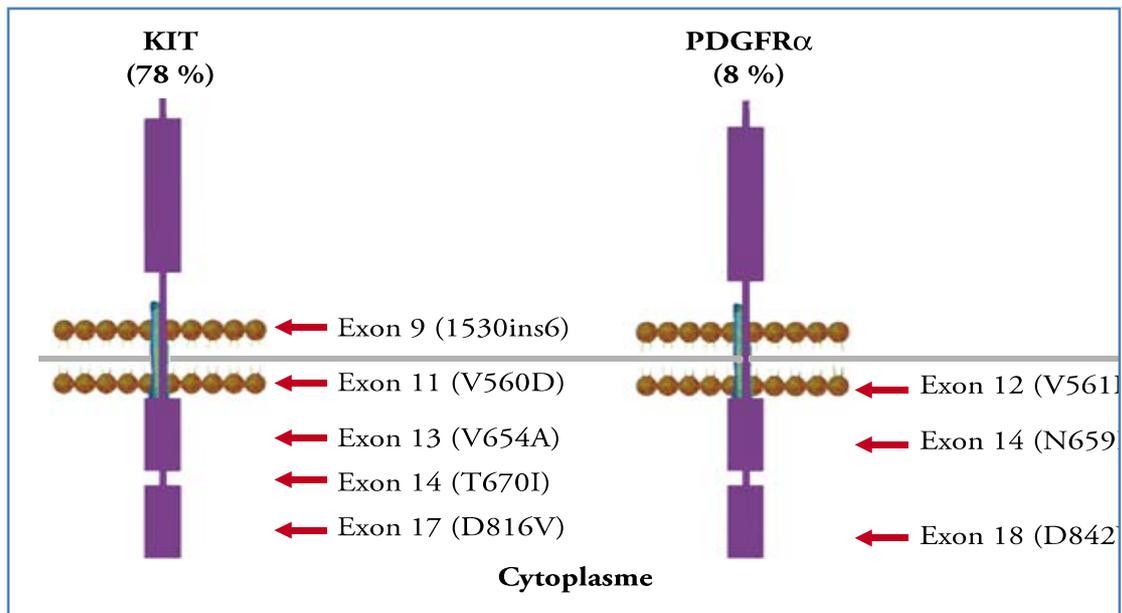
Parmi les cas de GIST ne présentant pas de mutation de C-KIT, une mutation du gène PDGFRA été observée dans environ un tiers des cas, soit 8 % des GIST [64]. Ces mutations concernent essentiellement l'exon 18 (boucle activatrice du récepteur) et plus rarement l'exon 12 (domaine juxtamembranaire) ou 14 (domaine kinase I). Les mutations de C-KIT et de PDGFRA sont exclusives l'une de l'autre.

Les GIST avec mutation de PDGFRA sont préférentiellement de localisation gastrique, de morphologie épithélioïde et n'expriment que faiblement C-KIT [64].

Elles pourraient avoir un potentiel de dissémination moins important expliquant une fréquence peut-être encore sous-estimée. En effet, les analyses moléculaires disponibles ont concerné essentiellement des séries de maladies métastatiques.

Toutefois, des données issues de l'étude du transcriptome semblent indiquer que les profils d'expression des GIST porteuses respectivement d'une mutation de C-KIT ou de PDGFRA ne sont pas complètement superposables, ce qui pourrait expliquer des profils anatomocliniques différents [64].

Environ 5 à 10 % des GIST ne présentent ni mutation de C-KIT, ni mutation de PDGFRA. Leur pathogénie reste aujourd'hui inconnue. Parmi les GIST sans mutation de C-KIT ni de PDGFRA, on compte les GIST, souvent multiples, de l'enfant, celles qui sont associées à la triade de Carney, dont la pathogénie reste inconnue [70], ainsi que celles qui sont associées à une neurofibromatose de type 1 [71].



**Figure 11** : Représentation schématique des récepteurs KIT et PDGFRA, localisation exonique des principales mutations décrites dans les GIST [64].

### **C-MOYEN DE MISE EN EVIDENCE:**

Les mutations seront recherchées sur les exons 9, 11, 13 et 17 de KIT et les exons 12 et 18 de PDGFRA.

#### **1)-Extraction d'ADN à partir de tissus tumoraux :**

La recherche de mutation se fera par biologie moléculaire sur des prélèvements tumoraux fixés et inclus en paraffine ou des prélèvements congelés. Un contrôle histologique préalable à l'extraction d'ADN est nécessaire, pour évaluer la densité cellulaire de la tumeur, la nécrose et la contamination par des cellules non-tumorales [72].

Les tissus inclus en paraffine sont incubés dans le toluène, et ensuite lavés dans des solutions d'alcool pour enlever les traces de toluène.

## 2)-Dosage des acides nucléiques:

Après extraction de l'ADN à partir d'un tissu tumoral, un dosage quantitatif de l'ADN est nécessaire avant de réaliser la technique PCR.

La quantification et la détermination de la quantité d'ADN extrait se fait par mesure de l'ADN sur 2 longueurs d'onde 260 et 280 nm.

La longueur d'onde 260 nm, est la zone d'absorbance maximale des acides nucléiques dans l'ultraviolet, alors que la longueur d'onde 280 nm est la zone d'absorbance des protéines.

Le rapport  $R = A(260)/A(280)$  permet d'évaluer la pureté de l'ADN.

La figure 12 montre un exemple de résultats obtenu après détermination des spectres d'absorption de l'ADN extrait par Nanovue +.

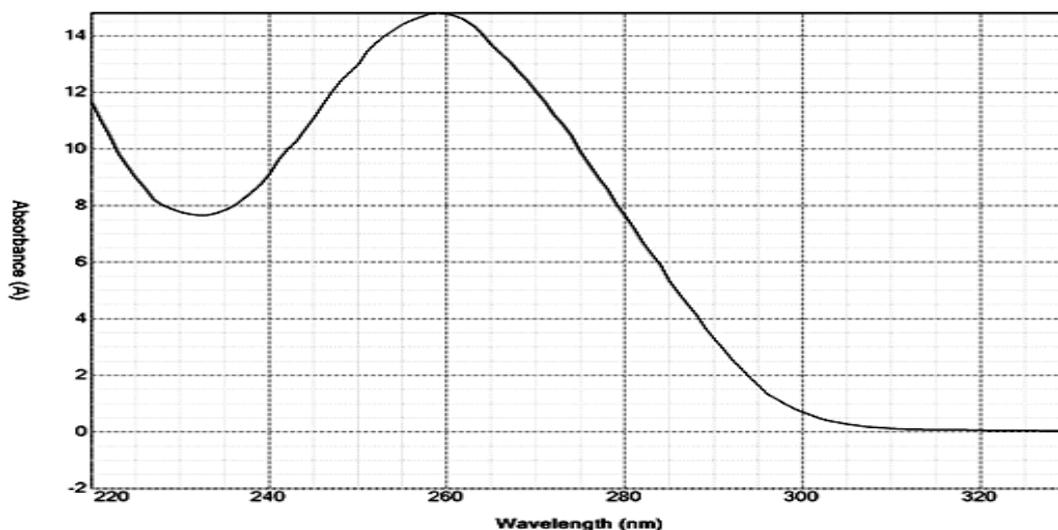


Figure 12: Dosage d'ADN du gène c-kit par Nanovue (unité d'oncogénétique de CHU de Fès).

### 3)–Amplification de l'ADN extrait par PCR :

La réaction PCR permet d'amplifier in vitro une région spécifique afin d'en obtenir une quantité suffisante pour le détecter et l'étudier.

Deux amorces, sens et anti-sens d'environ 20 oligonucléotides, capables d'hybrider de façon complémentaire un brin d'ADN ou son brin complémentaire, choisies de façon à délimiter l'ADN à amplifier. Les amorces d'amplifications varient suivant les laboratoires. Des contrôles de qualité seront effectués entre les centres effectuant ces analyses [75].

La Taq platinum est le recombinant de l'ADN polymérase complexé avec un anticorps exclusif qui inhibe l'activité de la polymérase. La taq platinum permet d'augmenter la sensibilité, la spécificité et le rendement, tout en permettant l'assemblage des réactions à température ambiante.

dNTP : Nucléotides : dGTP, dATP, dTTP, dCTP, appelés globalement dNTPs (DésoxyNucléotides–Tri Phosphates), qui sont les éléments de base utilisés par la Taq platinum pour synthétiser les brins d'ADN complémentaires.

Une réaction de PCR correspond à la succession d'une trentaine de cycles comportant chacun 3 étapes :

- Dénaturation : séparation des deux brins par chauffage ;
- Hybridation des amorces ;
- Elongation des brins d'ADN grâce à la Taq polymérase.

Tous les éléments nécessaires à la réaction sont regroupés dans un tube qui sera soumis aux différentes températures correspondantes à chaque étape. Ces cycles de température sont réalisés automatiquement dans un thermocycleur.

→ n cycles de PCR permettent en théorie de produire  $2^n$  copies de la séquence ciblée (amplicon), il est ainsi possible d'obtenir plus d'un millions de copies de la séquence d'ADN recherché en une vingtaine de cycles.

#### 4)-Détection et analyse des produits PCR par électrophorèse sur gel d'agarose :

L'électrophorèse est l'une des principales techniques utilisées en biochimie ou biologie moléculaire pour la séparation des protéines ou des acides nucléiques. La recherche de mutations fait appel à des techniques très pointues, précisément la PCR.

C'est une technique quantitative permet d'obtenir des amplicons du gène étudié.

Dans un milieu donné, la séparation des particules se fait en fonction de leur charge électrique, et pour des charges identiques, en fonction de leur taille.

#### 5)-Réaction de séquençage des produits PCR :

La réaction de séquence que l'on utilise au laboratoire repose sur la méthode de SANGER ou méthode des interrupteurs de chaîne, adaptée à la fluorescence.

Le recopiage d'un brin matrice par une ADN polymérase ADN dépendante est initiée par la fixation d'un oligonucléotide spécifique (amorce), complémentaire du brin matrice. Cette ADN polymérase va permettre l'élongation d'un nouveau brin complémentaire du brin matrice dans le sens 5' \_ 3'.

Les séquences d'ADN sont déterminées par séquençage automatique selon la méthode de Sanger dans un Séquenceur huit capillaire 3500Dx.

Une fois la réaction de séquençage est terminée, la taille des fragments obtenus est déterminée par une chromatographie. Le séquenceur détecte la fluorescence sortant des colonnes de chromatographie repérant ainsi les fragments d'ADN et leur taille précise. Le résultat est présenté dans l'appareil sous forme de courbes présentant la fluorescence détectée et l'interprétation qui en est faite en termes de nucléotides.

La D-HLPC est une chromatographie par interactions avec un support hydrophobe, qui se font par l'intermédiaire d'une molécule interagissant d'une part avec le squelette des ponts phosphodiester de l'ADN double brin et d'autre part avec le support : les molécules d'ADN double brin sont donc retenues d'autant plus longtemps qu'elles sont plus longues. Si une partie de la molécule est dénaturée, elle interagit moins avec la colonne et est donc retenue moins longtemps [76,77]

L'analyse de l'électrophorégramme obtenu se base sur la lecture de toutes les bases nucléotidiques. On note la présence d'une mutation lorsqu'il y a une substitution insertion ou délétion d'une base par une autre. Cette mutation peut être homozygote lorsqu'elle est portée par les 2 allèles, alors qu'on parle d'une mutation hétérozygote lorsqu'elle est portée par un seul allèle

### **D-INDICATION :**

L'étude des mutations des GIST par biologie moléculaire est recommandée :

➤ **A visée diagnostique :** [72]

Le diagnostic de GIST repose sur l'aspect microscopique et l'expression de KIT et/ou DOG1 qui est présente dans 95 % des cas. Dans les 5 % de cas de GIST KIT/DOG1 négatives en immunohistochimie, il est recommandé de rechercher une mutation des gènes KIT et PDGFRA (accord d'experts, Thésaurus National de Cancérologie Digestive).

➤ **A visée pronostic et thérapeutique :** [72]

En dehors des GIST KIT/DOG1 négatives, la recherche de mutations des gènes KIT et PDGFRA par une technique de biologie moléculaire doit progressivement s'intégrer dans la pratique.

Le génotypage des GIST est désormais recommandé par les experts français, européens et américains, en particulier pour les patients devant bénéficier d'un

traitement par imatinib.

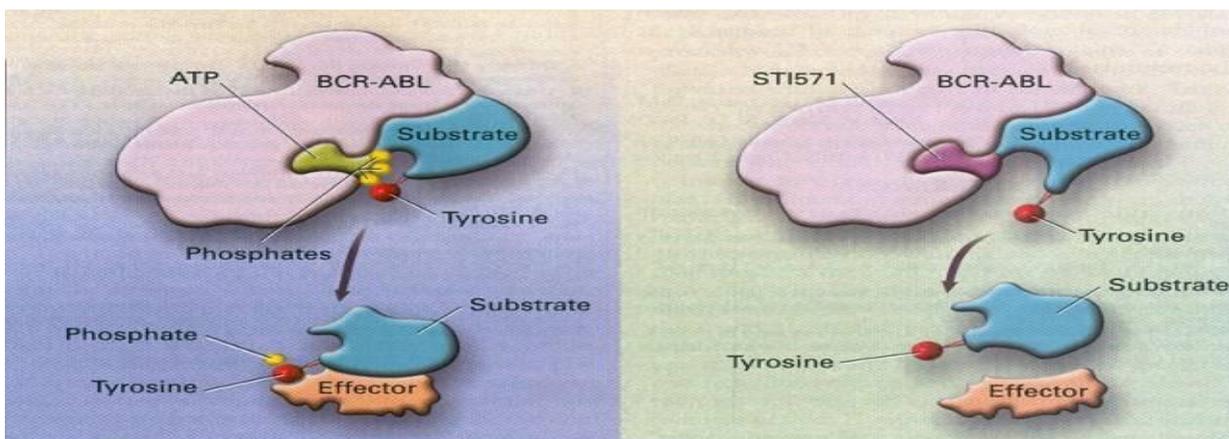
Le type de mutation a une influence sur l'efficacité du traitement, et il s'agira de plus en plus d'une aide au choix du traitement et/ou de sa posologie [72].

## **8- THERAPIES CIBLEES :**

### **A-MOYENS :**

#### **1-Mésylate d'imatinib ou STI571: Glivec®**

Est une molécule qui possède une activité spécifique anti-tyrosine kinase, elle a été initialement produite pour bloquer spécifiquement le site de liaison de l'ATP de la tyrosine kinase BCR-ABL, est capable d'inhiber l'activité d'autres tyrosine kinase apparentées PDGFR et KIT [17]. (Figure 13)



**Figure 13 : Mode d'action. Le STI 571 se fixe sur le site de liaison de l'ATP et prive le récepteur de sa source de phosphore.**

C'est un des premiers médicaments conçus pour agir sur les mécanismes de transduction du signal par les voies de signalisation [75].

Plusieurs observations montrent que l'imatinib peut induire un effet anti-tumoral par un mode d'action autre que l'effet direct sur les cellules portant les mutations c-kit ou PDGFRA. En effet l'activité de l'imatinib pourrait être médiée par les cellules natural killer NK [75].

Glivec® est administré par voie orale (biodisponibilité de 96 %) en une prise quotidienne du fait d'une demi-vie longue (18 heures). Les gélules sont dosées à 100 mg. Son métabolisme est hépatique et son élimination essentiellement biliaire.

L'étude pilote a été réalisée en Mars 2000 chez une patiente avec une GIST métastatique, ayant eu l'imatinib à la dose de 400 mg/j. Les résultats ont été spectaculaires, avec une réduction importante de la taille des lésions de 50% en 15 jours, et plus de la moitié des métastases ont disparu en 8 mois [77].

Depuis, ce produit a obtenu l'autorisation de mise sur le marché aux états unis le 2 février 2002, et en Europe en Juin 2002 dans les GIST localement avancées inopérables et/ou métastatiques [78]. L'efficacité de l'Imatinib dans le traitement des GIST a été confirmée par la suite dans le cadre de plusieurs essais cliniques.

Le type de mutation a une influence sur l'efficacité du traitement, et il s'agira de plus en plus d'une aide au choix du traitement et/ou de sa posologie [72].

En effet, les GIST mutées sur l'exon 11 de KIT présentent une bonne réponse à l'imatinib, tandis que les GIST mutées sur l'exon 9 de KIT nécessitent souvent un doublement de la dose de l'imatinib et celles qui sont mutées sur l'exon 18 de PDGFRA ou non mutées sont, en général, mauvais répondeurs à l'imatinib.

Les GIST sous imatinib peuvent acquérir une résistance secondaire en général liée à l'acquisition de nouvelles mutations situées dans les domaines kinases (exons 17, 13 et 14 de KIT) [76].

- **Résistance primaire à l'imatinib :**

Environ 10 à 15 % des patients ne répondent pas à l'imatinib et voient leur maladie progresser rapidement (< 6 mois) après son introduction. Cette évolution est surtout liée au profil mutationnel de la tumeur.

Ainsi, les patients concernés sont le plus souvent porteurs d'une GIST présentant une mutation de l'exon 9 de C-KIT, une mutation de l'exon 18 de PDGFRA (D842V ou D846V), une absence de mutation détectable ou, plus rarement, une mutation de l'exon 11, particulièrement en cas de délétion distale [79].

Une affinité moindre de l'imatinib pour ce type de mutations a été récemment invoquée comme une possible explication, d'autant plus que les patients porteurs de GIST avec mutation de l'exon 9 de C-KIT semblent bénéficier d'une posologie d'imatinib d'emblée supérieure à 400 mg [80].

La résistance primaire à l'imatinib observée dans une minorité de cas pourrait donc résulter d'une dépendance moindre au récepteur C-KIT de certains sous-types tumoraux de GIST. En revanche, l'existence de mutations supplémentaires au niveau des exons 13, 14 ou 17 ne semble pas être un mécanisme prépondérant de résistance primaire, contrairement à ce qui est observé en cas de résistance secondaire, même si des cas de double mutation (par exemple exons 11 et 13) ont été détectés dans de rares cas avant traitement par imatinib [79].

- **Résistance secondaire à l'imatinib :**

Se définit comme une progression survenant alors que le patient a présenté une réponse au traitement ayant duré plus de 6 mois depuis son instauration. La survenue de mutations secondaires du récepteur C-KIT est le mécanisme moléculaire le plus fréquent à l'origine de cette résistance secondaire [79],

surtout quand la mutation initiale est localisée au niveau de l'exon 11 [66]. Ce type de mutations secondaires a également été décrit pour le récepteur PDGFRA [79].

D'un point de vue fonctionnel, les mutations survenant au niveau de la boucle activatrice du récepteur C-KIT (comme D816V) déstabilisent la forme inactive du récepteur et déplacent l'équilibre vers sa configuration active, non reconnue par l'imatinib.

En revanche, les mutations survenant au niveau des exons codant pour la poche de fixation de l'ATP (exon 13 : mutation V654A ou exon 14 : mutation T670I) affectent directement l'interaction imatinib-récepteur. Ces deux dernières mutations n'ont pas les mêmes conséquences sur la structure tridimensionnelle de la poche ATP et l'affinité de l'imatinib pour le récepteur C-KIT. Ainsi, T670I se traduit dans les modèles cellulaires par une résistance complète à l'imatinib alors que V654A a pour conséquence une diminution relative de la sensibilité à cette drogue [81]. Il est à ce titre intéressant de noter que T670I a été associée par certains auteurs à un mauvais pronostic en comparaison avec d'autres types de mutation secondaire [82].

L'amplification du gène C-KIT jouerait probablement un rôle mineur [83].

Un mécanisme de résistance différent a été mis en évidence récemment par Mahadevan et al. en développant des lignées cellulaires de GIST devenues résistantes à l'imatinib après exposition à des concentrations croissantes de cette drogue [84]. Dans ce modèle, la résistance à l'imatinib se traduit par une perte de l'expression de C-KIT et l'induction d'une surexpression de la tyrosine kinase AXL qui prend ainsi le relais de C-KIT, notamment dans le maintien de la prolifération cellulaire. Ce phénomène de switch de tyrosine kinase pourrait donc être un nouveau mécanisme de résistance secondaire après exposition à l'imatinib.

Il faut avant de conclure à une résistance éliminer un problème d'observance ou d'interactions médicamenteuses susceptible de diminuer l'exposition à l'imatinib [85].

## 2–Autres traitement médicamenteux :

### a–Sunitinib (Sutent®) :

Le sunitinib est un inhibiteur oral de tyrosine–kinase agissant sur plusieurs récepteurs tyrosine kinase transmembranaires (KIT, VEGF, PDGF). Son efficacité a été démontrée par une étude de phase III multicentrique réalisée chez 312 patients avec une GIST métastatique ou non résécable ayant une résistance ou une intolérance à l'imatinib® (la dose médiane quotidienne d'imatinib® antérieurement reçue était de 800 mg). Le sunitinib dispose de l'AMM dans les GIST à un stade avancé ou métastatique depuis juillet 2006. La posologie est de 50 mg/j 4 semaines sur 6 [85].

### b– nilotinib (AMN107, Novartis) [88,89] :

C'est un inhibiteur tyrosine kinase de deuxième génération actif sur KIT, PDGFR et Bcr–Abl.

Dix–huit patients, présentant une GIST résistante (à 800 mg/j) ou intolérants à l'imatinib (et la majorité d'entre eux également au sunitinib), ont reçu du nilotinib seul (800 mg/j en deux prises) et 35 patients une association d'imatinib (400 mg/j) avec le nilotinib administré à doses croissantes (de 200 à 800 mg/j). Une réponse partielle et 13 stabilisations tumorales (72 %) avaient été rapportées avec le nilotinib seul (ASCO 2007,) et une réponse partielle et 25 stabilisations tumorales (71 %) avec la combinaison des deux produits. Cette étude de phase I a été réactualisée en 2008. La durée de survie médiane est de 168 jours avec le nilotinib seul et de 203 jours avec l'association à fortes doses (dose recommandée pour les études ultérieures), et 106 jours chez des patients

prétraités par imatinib et sunitinib.

La tolérance du nilotinib seul est excellente et la Toxicité limitante de l'association nilotinib–imatinib est cutanée, quelles que soient les doses administrées.

Il est vraisemblable que le nilotinib soit comparé en première ligne avec l'imatinib, y compris chez des patients ayant rechuté après avoir déjà reçu de l'imatinib en situation adjuvante pendant un an. Son association avec l'imatinib mérite sans doute d'être poursuivie.

#### **c– sorafénib (nexavar, Bayer) [87]:**

C'est un pan-tyrosine kinase inhibant KIT, PDGFRB et VEGFR, qui semble aussi efficace que le sunitinib dans les GIST avancées avec un contrôle tumoral de 76 % obtenu chez 29 patients dont 23 précédemment traités par imatinib et sunitinib.

Les toxicités sont principalement vasculaires (24 % d'HTA), cutanées (24 % de syndrome main–pied et 17 % de rash cutanés) et digestives (10 % de diarrhées).

#### **d–masatinib (AB1010, ABscience) [88] :**

C'est un inhibiteur tyrosine kinase de troisième génération plus actif in vitro que l'imatinib sur KIT et PDGFR. Il a été proposé en première ligne de traitement chez 29 patients dans six centres français. Les résultats avaient été rapportés (ASCO 2007) et se comparaient en tout point favorablement à l'imatinib aussi bien en termes de réponse (48 % de réponse partielle, 33 % de maladie stabilisée) comme meilleure réponse dans le temps) qu'en termes de toxicité. Ces résultats n'ont pas été réactualisés.

### e-RAD001 (everolimus, Novartis) [87] :

A la dose de 2,5mg par jour, associé à 600 mg d'imatinib, permet d'obtenir un contrôle tumoral de 37 % à quatre mois chez des patients prétraités par l'imatinib et sunitinib. Il n'est pas certain que cette association soit poursuivie dans le cadre d'études randomisées, tant d'autres thérapeutiques ciblées ou d'autres stratégies thérapeutiques se développent chez ces patients prétraités s par les deux seules antityrosines kinases qui ont obtenu une AMM dans les GIST avancées.

### B- Indications :

Selon les recommandations américaines (NCCN), européennes (ESMO) et du thésaurus national de cancérologie digestive (TNCD) [61,88]:

Toutes les décisions thérapeutiques concernant une GIST doivent faire l'objet d'une concertation multidisciplinaire.

#### 1- GIST localisée, résecable non métastatique :

La chirurgie d'exérèse R0 est le standard thérapeutique sans curage ganglionnaire si absence d'adénopathie cliniquement décelable (niveau de recommandation : grade A).

Imatinib en adjuvant post-opératoire pendant 3 ans si GIST à haut risque de récurrence (niveau de recommandation : grade A). Il est optionnel en cas de GIST à risque intermédiaire (niveau de la recommandation : grade B).

**En cas de résection R1 :** Discuter une reprise chirurgicale (avis d'experts). Lorsque la séreuse est envahie (GIST de grande taille) ou qu'il y a eu une effraction tumorale, le pronostic est surtout lié à l'essaimage péritonéal et non plus à la tranche de section viscérale et une reprise d'exérèse n'est donc pas utile.

En revanche, la reprise se discute lorsque les tranches de section sont positives et que le patient est potentiellement curable par la chirurgie (séreuse non envahie, pas d'effraction tumorale et lésion de risque faible ou intermédiaire

de malignité, car dans le cas contraire le risque est surtout métastatique). L'importance du geste chirurgical et le risque de séquelles associées sont aussi des éléments dont il faut tenir compte.

Par la suite, l'Imatinib sera administré en adjuvant pendant 3 ans si GIST à risque élevé ou au moins 1 an si risque intermédiaire de récurrence en cas de résection R1.

**En cas de résection R2** (macroscopiquement incomplète): si une reprise n'est pas possible, il faut discuter un traitement par imatinib en postopératoire sans limitation de durée (comme dans les GIST métastatiques) et une reprise chirurgicale dans un deuxième temps (avis d'experts).

Quand une résection R0 implique des séquelles fonctionnelles (chirurgie de l'œsophage ou du rectum), il faut discuter dans ce cas un traitement néoadjuvant par Imatinib 400 mg/j en vérifiant qu'il n'y a pas de résistance primaire à l'Imatinib (niveau de recommandation : grade A). Puis, évaluer la possibilité d'une résection chirurgicale secondaire dans un centre spécialisé, à discuter au maximum de la réponse objective après 6 à 12 mois d'Imatinib (accord d'experts) suivie de l'Imatinib en adjuvant postopératoire si GIST risque élevé ou intermédiaire de récurrence (niveau de recommandation : grade A).

Quand un traitement néoadjuvant est contre-indiqué, une résection R1 sera discutée avec le patient surtout en cas de tumeur de bas risque, en expliquant l'impact négatif d'une chirurgie R1 sur la survie globale.

En cas de rupture tumorale au moment de la chirurgie : l'essaimage des cellules tumorales dans la grande cavité péritonéale expose le patient à un risque très élevé de récurrence péritonéale, et par conséquent un traitement par Imatinib doit être considéré comme en cas de situation métastatique.

## 2-GIST localement avancée : non résécable, non métastatique:

Traitement par imatinib 400 mg/j (niveau de recommandation : grade A).

Résection chirurgicale secondaire dans un centre spécialisé à discuter au maximum de la réponse objective après 6 à 12 mois d'imatinib (accord d'experts).

Traitement par imatinib 800 mg/j d'emblée si mutation de l'exon 9 connue (avis d'experts).

## 3-GIST métastatique :

Traitement par Imatinib 400 mg/j (niveau de la recommandation : grade A).

Exérèse de la tumeur primitive à discuter si risque de complication (accord d'experts).

Options :

-Traitement par Imatinib 800 mg/j d'emblée si mutation de l'exon 9 connue (avis d'experts)

-Si réponse ou stabilité et résection R0 potentiellement possible: résection ou radiofréquence des métastases après traitement par Imatinib (procédure expérimentale), et poursuite de l'Imatinib en post-opératoire (avis d'experts)

-Exérèse de métastases nécrotiques sous Imatinib à discuter si risque de complication, en particulier de rupture de masses liquéfiées (accord d'experts).

-Cas particulier : Résection initiale (avant tout traitement par imatinib) complète (R0) d'une maladie métastatique limitée dans le même temps que la tumeur primitive : traitement complémentaire par Imatinib à discuter au cas par cas en comité multidisciplinaire (avis d'experts).

### -Progression sous Imatinib:

➤ Progression sous 400mg/j d'Imatinib:

- Traitement par imatinib 800 mg/j (niveau de recommandation : grade A).
- Traitement par Sunitinib en deuxième intention (50 mg/j 4 semaines sur 6) si échec ou impossibilité d'augmentation de dose d'imatinib (niveau de la recommandation: grade A).

Options :

Contrôler l'exposition au traitement (par un dosage plasmatique du taux d'Imatinib.

Résection ou radiofréquence voire embolisation des métastases si progression focale sous Imatinib et augmentation de l'Imatinib à 800 mg/j si possible (avis d'experts)

Traitement par Sunitinib en continu à la dose de 37,5 mg/j plutôt qu'en traitement séquentiel à la dose de 50 mg/j 4 semaines sur 6.

➤ Progression sous 800mg/j d'Imatinib:

Traitement par Sunitinib.

➤ Progression sous Sunitinib :

Regorafenib (niveau de la recommandation : grade B).

Option : Sorafenib.

### 4- Cas particulier des GIST inférieures à 2 cm :

❖ GISTs gastriques [88]:

Fréquence élevée après 50ans.

Aucun schéma de surveillance n'est validé, mais une surveillance par endoscopie ou au mieux par échoendoscopie par exemple à 6mois, 18mois puis tous les 2 ans, à adapter en fonction du contexte (avis des experts) [89].

-GISTs du rectum ou du grêle [90]:

La résection est la règle malgré une taille limitée du fait du risque évolutif (notamment si l'index mitotique est élevé). Une histologie peut être nécessaire en préopératoire quand il existe un doute sur la nature exacte de la lésion.

# **III- MATERIEL ET METHODE**

## A-MATERIEL:

### 1-TYPE ET PERIODE D'ETUDE :

Notre travail est une étude rétrospective porte sur 44 cas de tumeurs stromales digestives , répertoriés et pris en charge aux services de gastro – entérologie, de chirurgie viscérale A et B, d’anatomopathologie et au service d’oncologie médicale du CHU HASSAN II de Fès, durant une période cinq an (de 2009 à 2014).

Ce travail est une étude essentiellement descriptive des tumeurs stromales gastro-intestinales. Il s’intéresse aux aspects cliniques, anatomopathologiques et moléculaires de ces tumeurs.

Une étude moléculaire a été aussi réalisée. Puis on a essayé d’établir une corrélation entre les différents facteurs histopronostiques de ces tumeurs, tout en soulignant l’intérêt de la biologie moléculaire dans le diagnostic, le pronostic et surtout dans les attitudes thérapeutiques relatives à ces tumeurs.

### 2-COLLECTE DE CAS :

Au cours de la période d’étude, nous avons colligés 44 cas de tumeurs stromales digestives.

Toutes les données cliniques, paracliniques, thérapeutiques et évolutives ont été recueillies à partir du dossier médical de chaque patient.

### 3-CRITÈRES D'INCLUSION :

Toute tumeur d’aspect histologique orientant vers une GIST avec une disponibilité d’un bloc de paraffine comportant assez de matériel pour une étude moléculaire.

## **B-METHODES :**

### **1-RELECTURE HISTOLOGIQUE:**

Les prélèvements ont été fixés au formol à 10%.

A partir de blocs de paraffine, des coupes de 5 $\mu$  ont été faites, suivies d'une coloration à l'hématoxyline éosine safran.

Une relecture histologique des cas a été réalisée en microscope optique en précisant :

- ❖ Le type histologique : fusiforme, épithéloïde et mixte.
- ❖ L'index mitotique.
- ❖ Le risque métastatique selon la classification de Miettinen.

### **2- ETUDE IMMUNOHISTOCHIMIQUE:**

Une étude immunohistochimique a été faite selon une technique automatisée en utilisant un panel d'anticorps: le CD117 (YR145) et le DOG 1 (SP31).

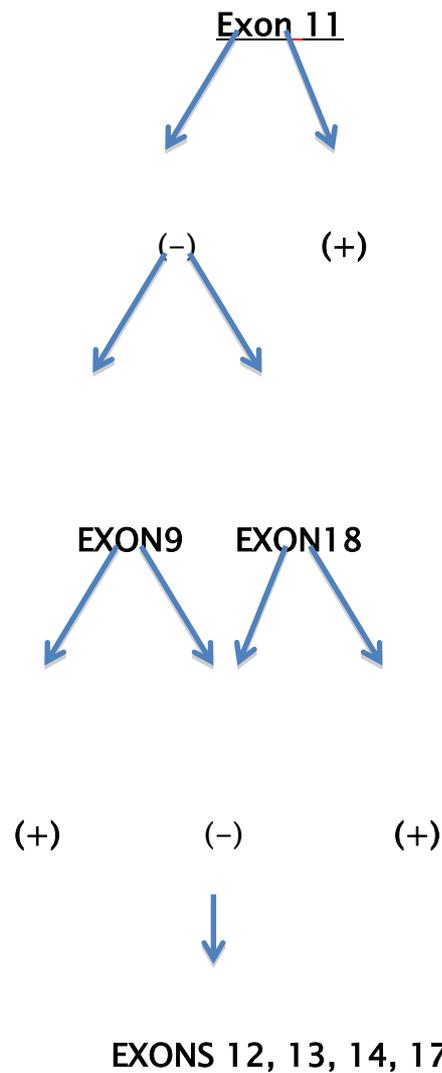
Le MDM2 a été ajouté dans notre travail afin d'évaluer sa valeur pronostic.

### **3- BIOLOGIE MOLECULAIRE:**

L'étude moléculaire a été réalisée au plateforme de biologie moléculaire du CHU HASSAN II de Fès.

La recherche de mutation de kit et/ou du PDGFRA a été réalisée dans 40 cas.

Cette démarche commence par la recherche de mutation de l'exon 11 du KIT, si c'est négatif, c'est les exons 9 du KIT et 18 du PDGFR. Devant la négativité de ces derniers on enchaîne par les exons 12, 13, 14 et 17 (figure 14).



**Figure 14:** l'arbre décisionnel à la recherche de mutation du KIT et PDGFR.

L'extraction de l'ADN et la recherche de mutation ont été faites sur des prélèvements tumoraux fixés au formol et inclus en paraffine.

Après extraction de l'ADN à partir d'un tissu tumoral, un dosage quantitatif de l'ADN est nécessaire avant la technique PCR.

L'amplification de l'ADN extrait par PCR afin d'en obtenir une quantité suffisante d'ADN (figure 15).

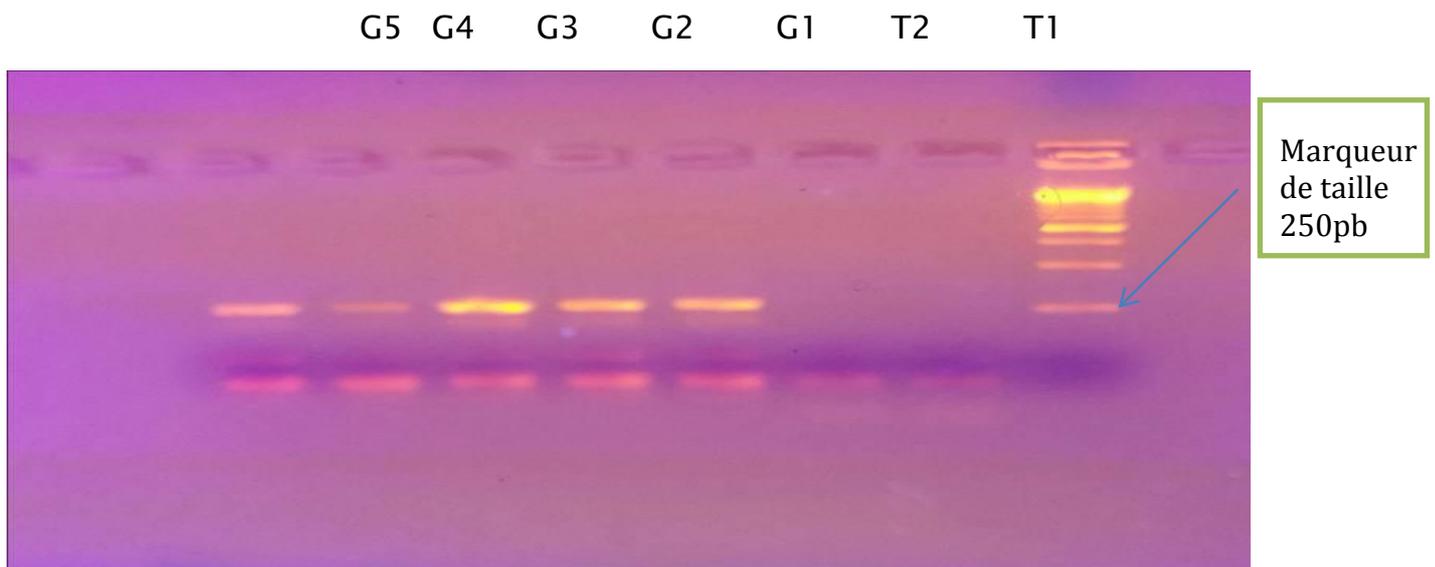


**Figure 15 : thermocycleur**

La détection et l'analyse des produits PCR par électrophorèse se fait sur gel d'agarose pour éliminer une éventuelle contamination et savoir diluer le produit de PCR (figure 15, 16).



**Figure 15: le gel d'agarose déposé sur la table des UV**



**Figure 16** : Bande d'ADN confirmant l'amplification du gène cible c-kit

Une Réaction de séquençage des produits PCR :

La réaction de séquence que l'on utilise au laboratoire repose sur la méthode de SANGER ou méthode des interrupteurs de chaîne, adaptée à la fluorescence.

Les séquences d'ADN sont déterminées par séquençage automatique selon la méthode de Sanger dans un Séquenceur huit capillaire 3500Dx.

Une fois la réaction de séquençage est terminée, la taille des fragments obtenus est déterminée par une chromatographie. Le séquenceur détecte la fluorescence sortant des colonnes de chromatographie repérant ainsi les fragments d'ADN et leur taille précise. Le résultat est présenté dans l'appareil sous forme de courbes présentant la fluorescence détectée et l'interprétation qui en est faite en termes de nucléotides.

Le pic en bleu correspond à la cytosine, le pic en rouge à la thymine, le pic en vert à l'adénine et le pic en noir à la guanine.

L'analyse de l'électrophorégramme obtenu se base sur la lecture de toutes les bases nucléotidiques. On note la présence d'une mutation lorsqu'il y a une

substitution insertion ou délétion d'une base par une autre. Cette mutation peut être homozygote lorsqu'elle est portée par les 2 allèles, alors qu'on parle d'une mutation hétérozygote lorsqu'elle est portée par un seul allèle.

#### **4- RECUEIL DES DONNEES :**

Nous avons répertorié un certain nombre de données sur une fiche de saisie, à partir du dossier médical des patients.

##### **-Les données épidémiologiques :**

-Age au moment du diagnostic.

-Sexe.

-Localisation.

##### **-Anatomie pathologique :**

-Les types de prélèvements : biopsie ou pièce d'exérèse.

-Le type histologique : fusiforme, épithéloïde ou mixte.

##### **-Critères histopronostiques :**

En se référant à la classification de Miettinen. Les critères évalués sont :

-Le siège

-La taille.

-L'index mitotique.

##### **-Evolution métastatique :**

-Présence ou non de métastase

-Siège.

##### **-Prise en charge thérapeutique :**

-chirurgicale

-Imatinib

##### **-BIOLOGIE MOLECULAIRE :**

Stratégie de génotypage (figure 13).

## 5- ANALYSE STATISTIQUE :

Les données statistiques ont été calculées en utilisant le logiciel EPI-INFO version 6.

Pour chaque test statistique utilisé, le test était considéré comme significatif lorsque  $p$  (degré de signification) était inférieur à 0,05.

## **IV–RESULTATS**

## A-DESCRIPTION DE LA POPULATION :

### 1-AGE :

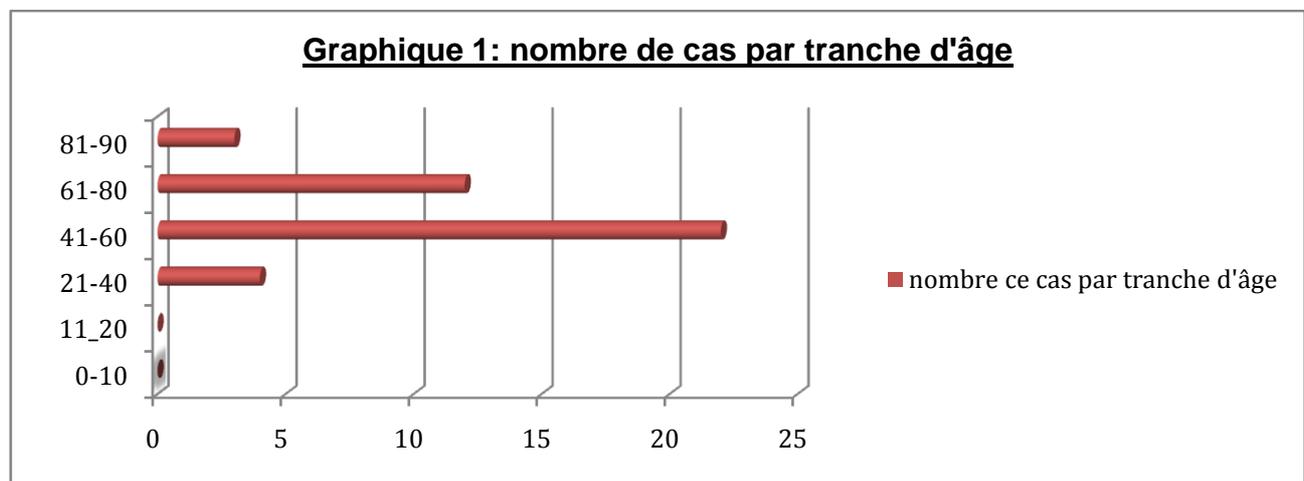
L'âge de survenue de la tumeur variait entre 25 et 85 ans avec une moyenne de 54.9 ans ( $\pm 14,62$ ).

L'âge médian est de 53 ans.

Les patients âgés entre 41 et 60 ans étaient les plus fréquemment touchés.

(Graphique 1).

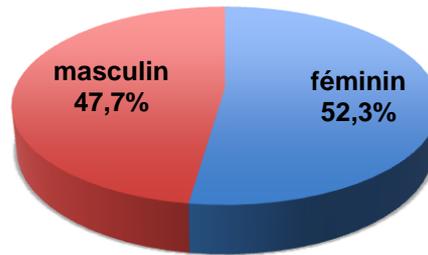
Aucun cas de GIST pédiatrique n'a été noté dans notre série.



### 2-SEXE :

Les deux sexes ont été représentés aux fréquences de 52,3% (n=23) pour le sexe féminin et 47.7% (n=21) pour le sexe masculin, avec une très légère prédominance féminine (sex-ratio 1,09). (Graphique 2).

**Graphique 2: répartition des cas selon le sexe**



### **3-TYPE DE PRELEVEMENT : biopsie/pièce opératoire**

Dans notre série les biopsies étaient réalisées par voie endoscopique dans 25% des cas (n=11).

Le diagnostic a été posé sur une pièce opératoire de 75% des cas (n= 33).

### **4-SIEGE :**

La localisation grêlique représentait 37,2% des cas (n=16), 32,6% des tumeurs (n=14) siégeaient au niveau de l'estomac, 14% (n=6), au niveau du foie, 9,3% (n=4) au niveau du colon, et 2 tumeurs au niveau du péritoine (4%).

Dans un seul cas, le prélèvement adressé pour relecture dont le siège n'a pas été renseigné. (Graphique 4).

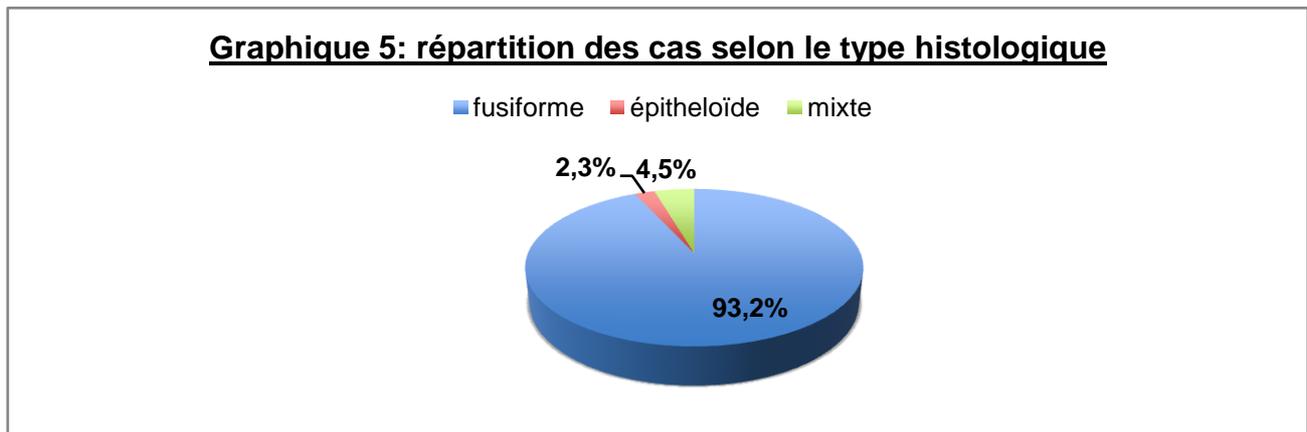
Le grêle et l'estomac représentent les localisations les plus fréquentes dans notre contexte.

**Graphique 4: répartition des cas selon le siège de la tumeur**



## 5-TYPE HISTOLOGIQUE :

Sur le plan histologique, le type à cellulaire fusiforme était prédominant, il était observé dans 93,2% des cas (n=41), le type épithéloïde était présent dans 2,3% des cas (n=1), et le type mixte dans 4,5% des cas (n=2). (Graphique 5)



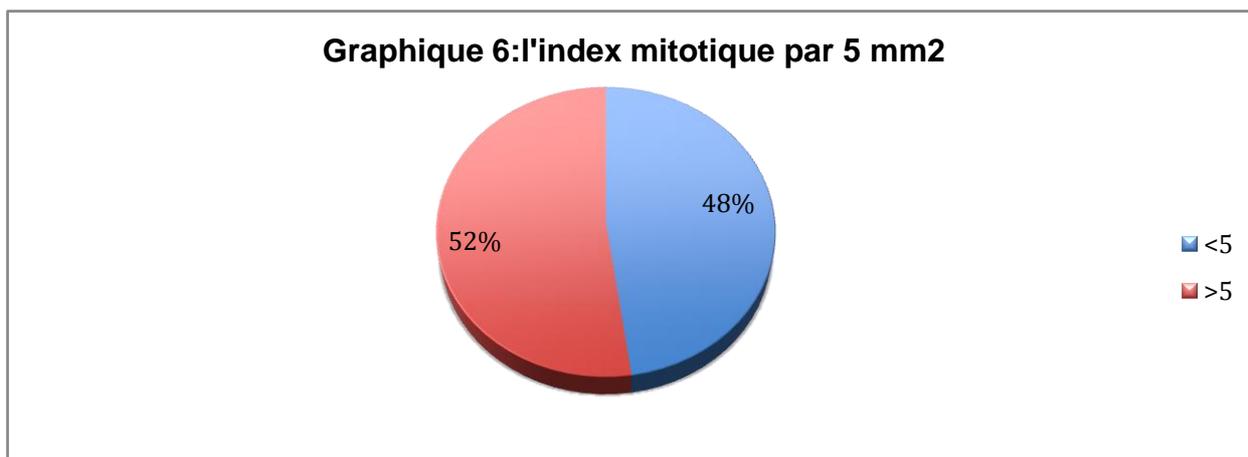
## 6-TAILLE :

En se référant à la classification de Miettinen, la taille de la tumeur était inférieure à 5 cm dans 48,8% des cas (n=21) et supérieure à 5 cm dans 51,2% (n=22 cas).

Dans un seul cas, la taille n'a pu être déterminée (un cas de relecture dont la taille n'était pas communiquée).

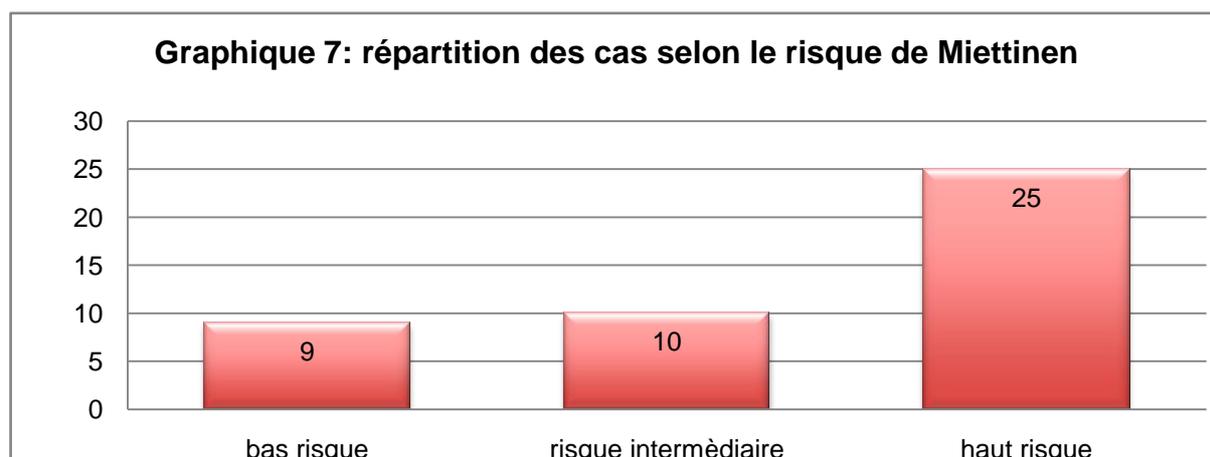
## 7-INDEX MITOTIQUE :

En se référant à la classification de Miettinen, les mitoses étaient supérieures à 5 mitoses/ 5mm<sup>2</sup> dans 52% des cas (n=23) et inférieures à 5mitoses/5mm<sup>2</sup> dans 48% des cas (n=21). (Graphique 6).



## 8-RISQUE METASTATIQUE:

Selon la classification pronostic de Miettinen, 56,8% des tumeurs étaient de haut risque de malignité (n=25), 22,7% (n=10) étaient de risque intermédiaire, et 20,5% (n=9) des tumeurs étaient classées de bas risque. (Graphique 7)

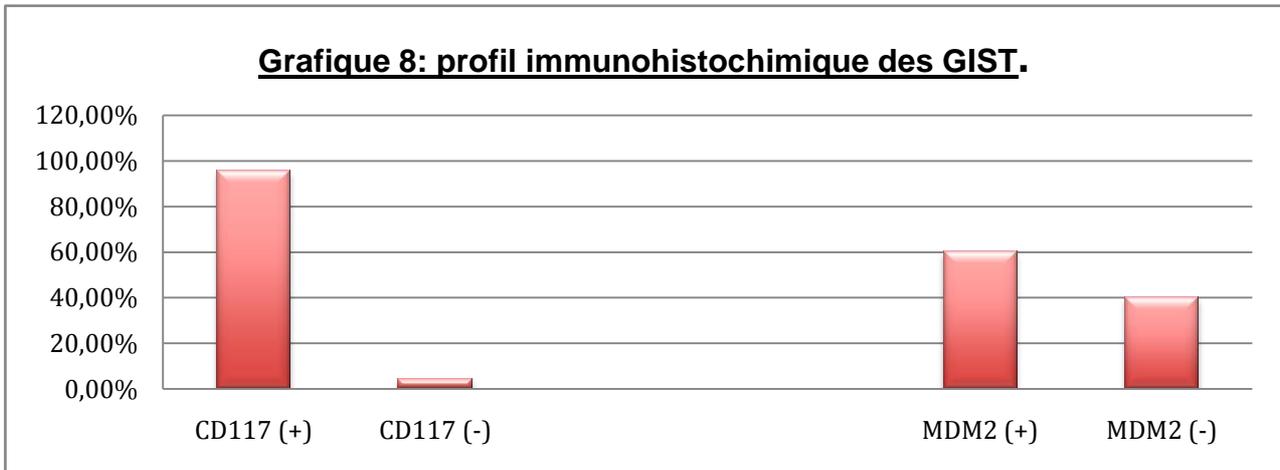


## 9-EXPRESSION DE CD117, DOG1 ET MDM2:

Dans notre série, l'analyse de l'expression du CD117 était faite dans tous les cas: 95,5% (n=42) des tumeurs ont montré une forte expression du CD117, alors que l'immunomarquage à ce marqueur est revenu négatif dans 4,5% (n=2) (graphique 8).

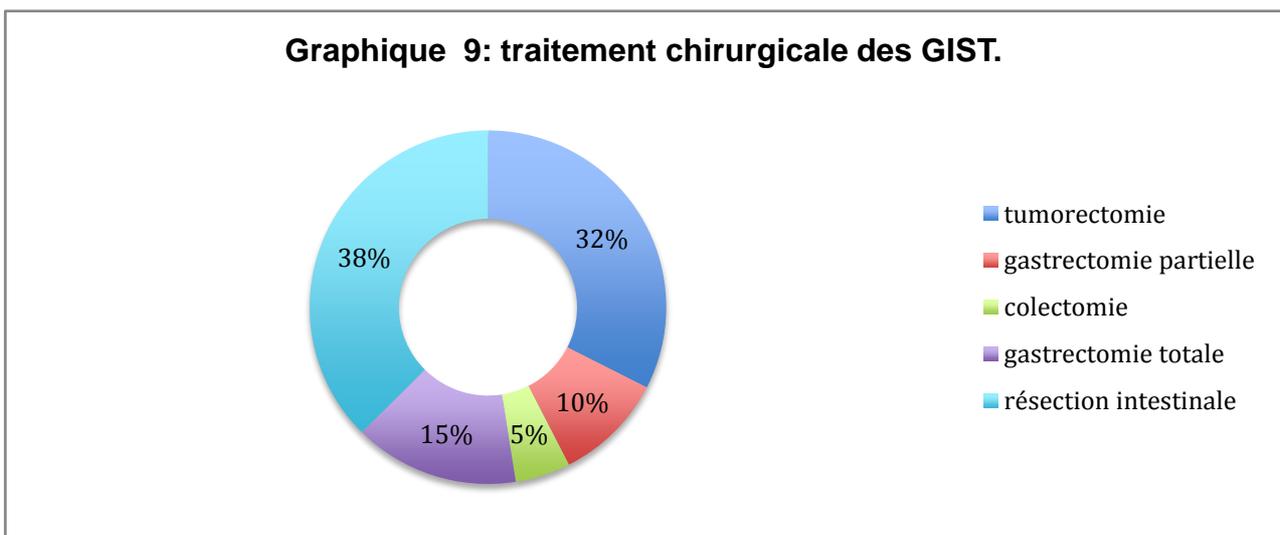
L'expression du Dog1 a été recherché dans 8 cas. Il est revenu positif et sera complété pour le reste des cas.

L'expression de MDM2 a été retrouvée chez 68,4% des patients dont 75% étaient des tumeurs de haut risque de malignité (graphique 8).

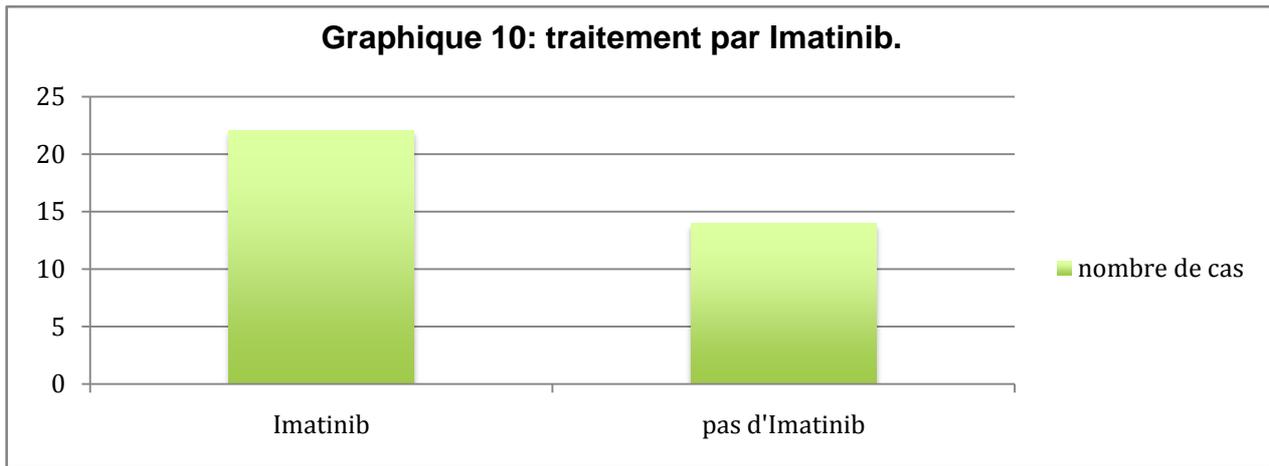


## 10- TRAITEMENT :

Un peu plus des tiers des cas ont bénéficié d'une résection intestinale emportant la tumeur et le deuxième tiers d'une simple tumorectomie. Une gastrectomie totale a été réalisée chez 15% des cas, une gastrectomie partielle chez 10% des cas et une colectomie chez 5% des cas (graphique 9).

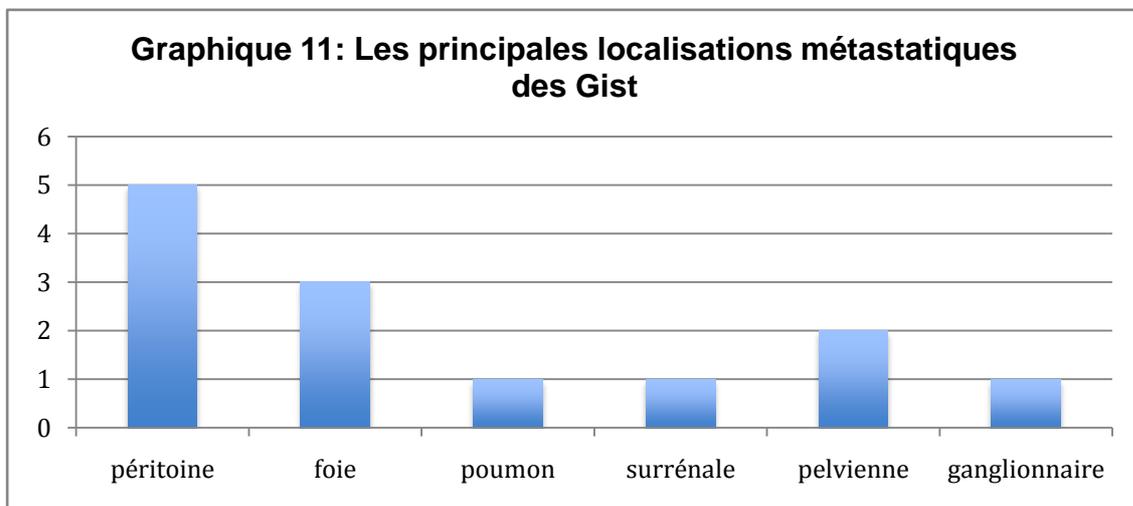


61% des cas ont bénéficié d'un traitement à base d'Imatinib en adjuvant (graphique 10).



## 11- EVOLUTION METASTATIQUE :

Neuf patients sur 44 (soit 20,45%) ont présenté de métastases au cours de notre étude (graphique 11), représentées par les métastases péritonéale, hépatique, pelvienne.



## **B-DONNEES DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE :**

La recherche de mutation de kit et/ou du PDGFRA a été réalisée dans 20 cas.

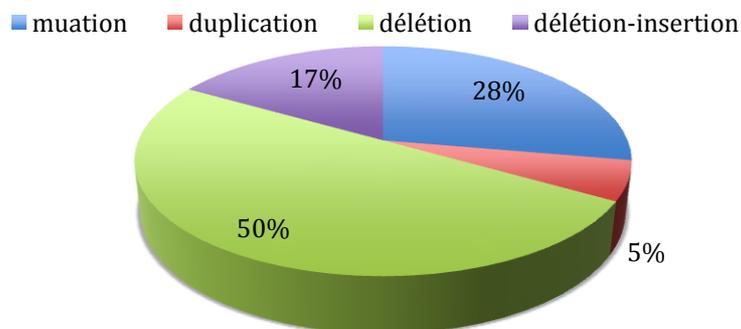
Cette démarche commence par la recherche de mutation de l'exon 11 du KIT, si c'est négatif, c'est les exons 9 du KIT et 18 du PDGFR. Devant la négativité de ces derniers on enchaîne par les exons 12, 13, 14 et 17 (figure 16).

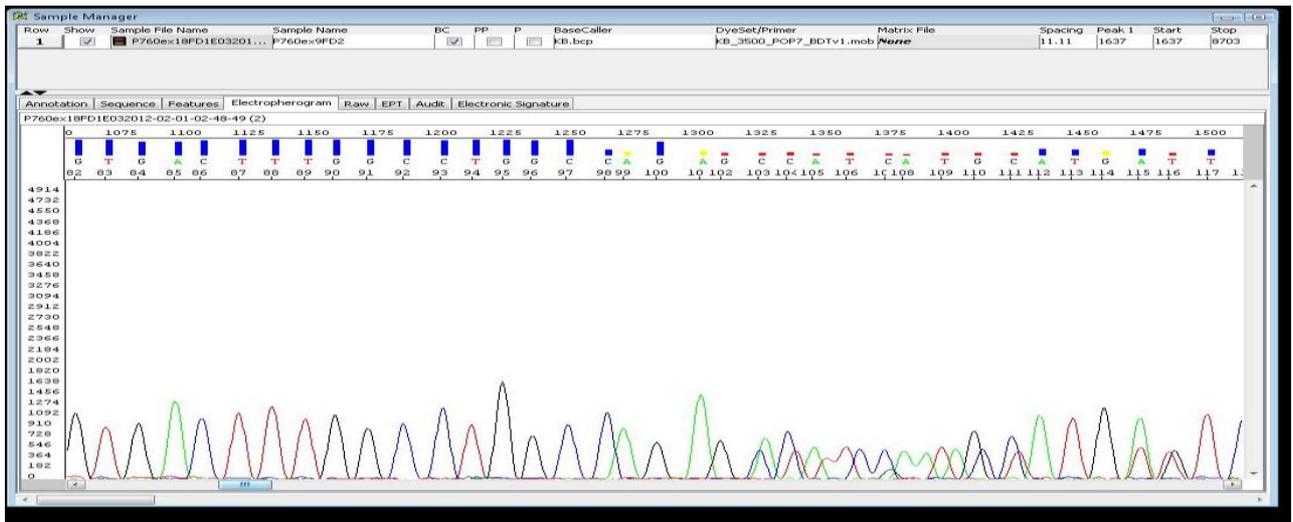
Les mutations retrouvées sont toutes des mutations de l'exon 11 du gène Kit (n=18 cas), 12 délétions, 4 mutations ponctuelles, une double mutation, et une duplication. Pour l'exon 18 du PDGFRA, deux mutations ponctuelles de l'exon 18. (Figure 17) (Graphiques 12 et 13).

**Graphique 12: profil moléculaire des GIST.**



**Graphique 13: le génotypage de l'exon 11.**





**Figure 17: séquençage du gène PDGFRA avec une mutation (délétion).**

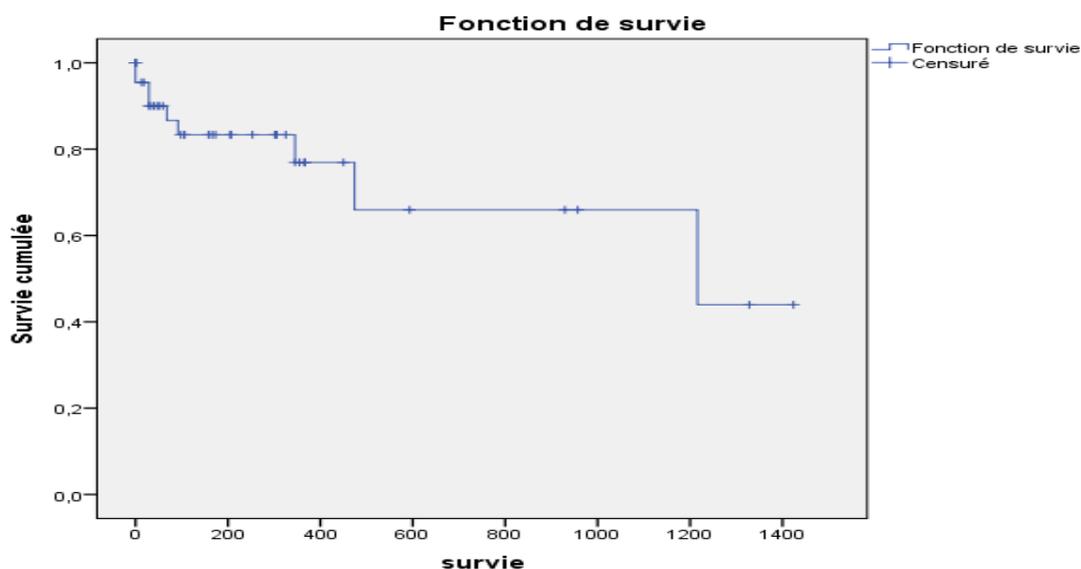
## C-ANALYSE DE LA SURVIE :

La survie a été exploitable chez 37 patients. Un cas de décès a été noté en rapport avec une péritonite post opératoire et six patients ont été perdus de vue.

Neuf patients sur 44 (soit 20,45%) ont présenté de métastases au cours de notre étude (graphique 11), représentées par les métastases péritonéale, hépatique, pelvienne.

La moyenne de survie sans événement était de 32,47 mois, avec un minimum de 23,86 mois et un maximum de 41 mois.

La figure (18) montre que la survenue de métastase diminue la survie des patients dans notre échantillon.



**FIGURE 18 : l'évolution de la survie dans le temps selon la survenue de métastase**

Une stabilité sans complication a été observée chez 17 cas (soit 38,63%) et 17 patients ont été perdus de vu.

## D-CORRELATION DE LA SURVIE:

### 1-L'analyse de la survie et le sexe :

Les hommes ont une survie meilleure (soit 37,75 mois) par rapport aux femmes (soit 28 mois) (figure 19).

Il n'y a pas d'association significative entre la survie et le sexe ( $P=0,466$ ), du fait du caractère réduit de notre échantillon.

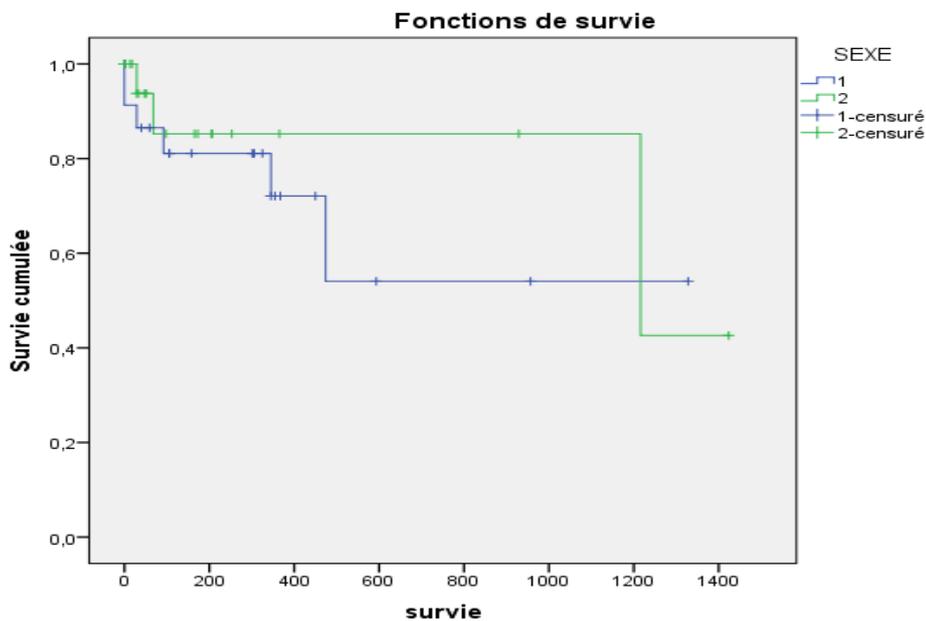
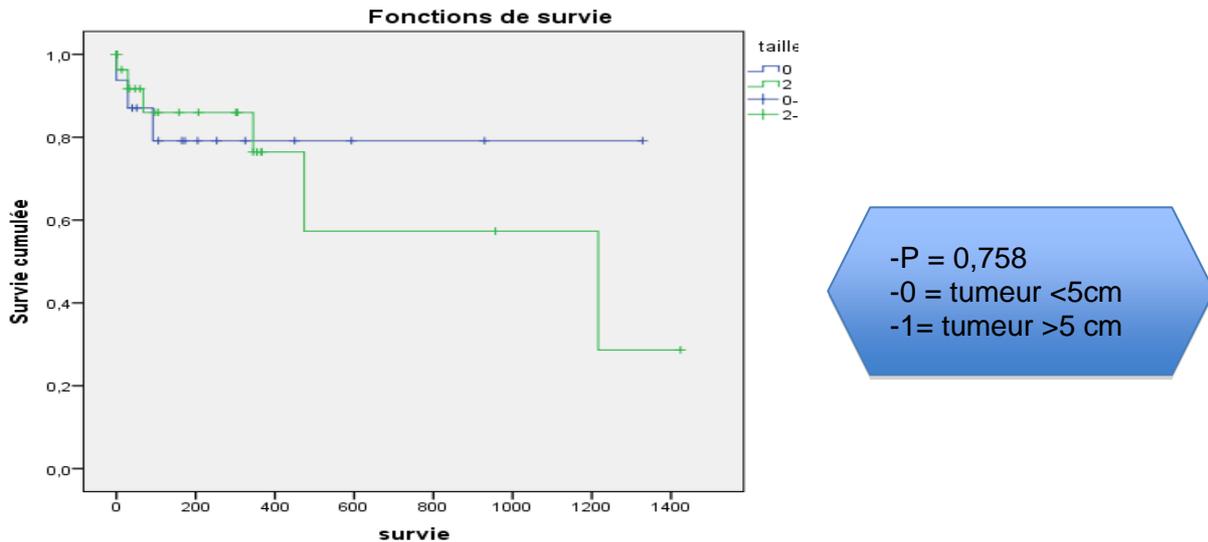


FIGURE 19 : l'analyse de la survie et le sexe.

### 2-L'analyse de la survie et la taille tumorale :

Les tumeurs de taille inférieure à 5 cm ont une survie moyenne (35,33 mois) meilleure par rapport aux tumeurs de taille supérieure à 5 cm (29,51 mois). (Figure 20).

Il n'y a pas d'association significative entre la survie et la taille tumorale ( $P=0,758$ ), du fait du caractère réduit de notre échantillon.

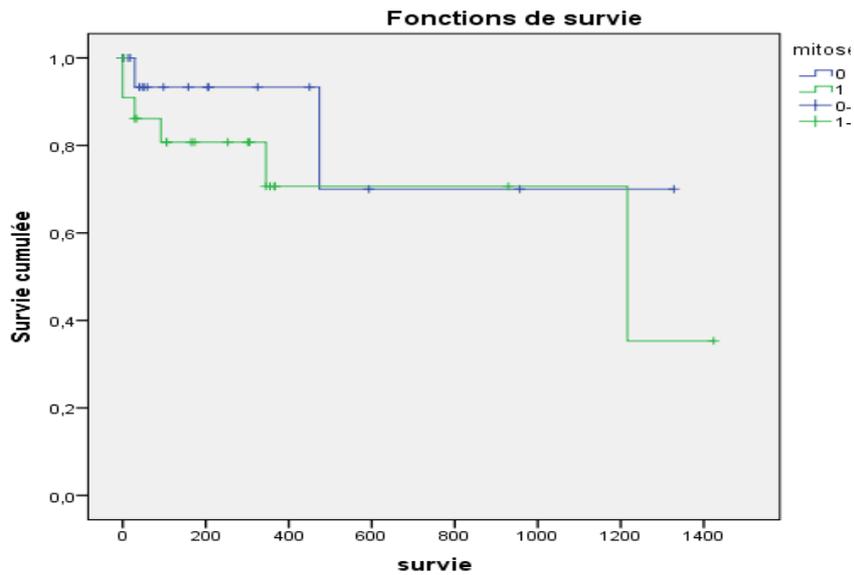


**Figure 20: L'évolution de la survie selon la taille tumorale.**

### 3-L'analyse de la survie et l'index mitotique:

Dans notre échantillon, l'analyse de la survie et l'index mitotique montre que les tumeurs avec un index mitotique est inférieur à 5 mitoses/mm<sup>2</sup> ont une survie moyenne de 34,7 mois légèrement supérieure à celle observée chez les patients avec un index mitotique supérieur à 5mitoses/5mm<sup>2</sup> (32,4 mois). (Figure 21).

Il n'y a pas d'association significative entre la survie et l'index mitotique (P=0,267), du fait du caractère réduit de notre échantillon.



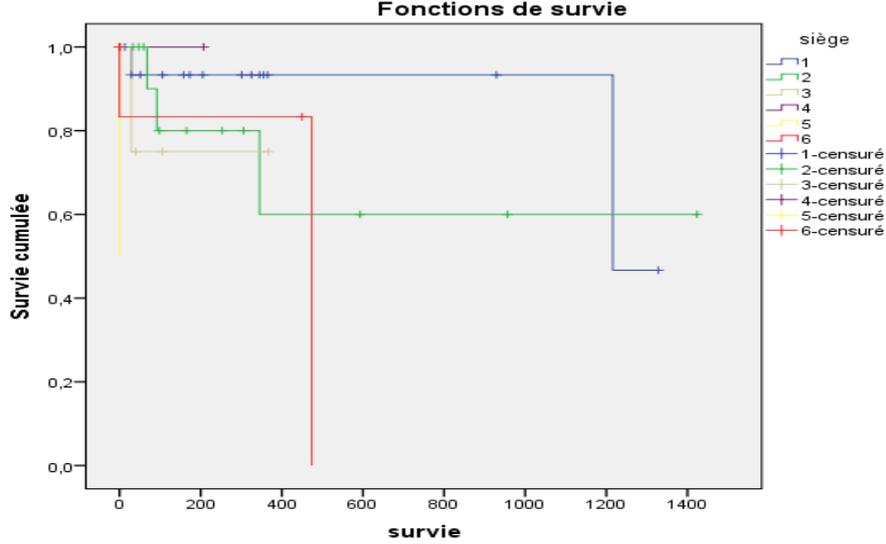
-P = 0,267  
 -0=<5mitoses/5mm2  
 -1=>5mitoses/5mm2

**Figure 21:** L'évolution de la survie selon la taille tumorale.

**4- L'analyse de la survie et le siège de la tumeur :**

Les GIST gastriques ont une survie meilleur par rapport aux autres localisations (figure 22).

Il existe une association significative entre la survie et le siège de la tumeur (P=0,025).



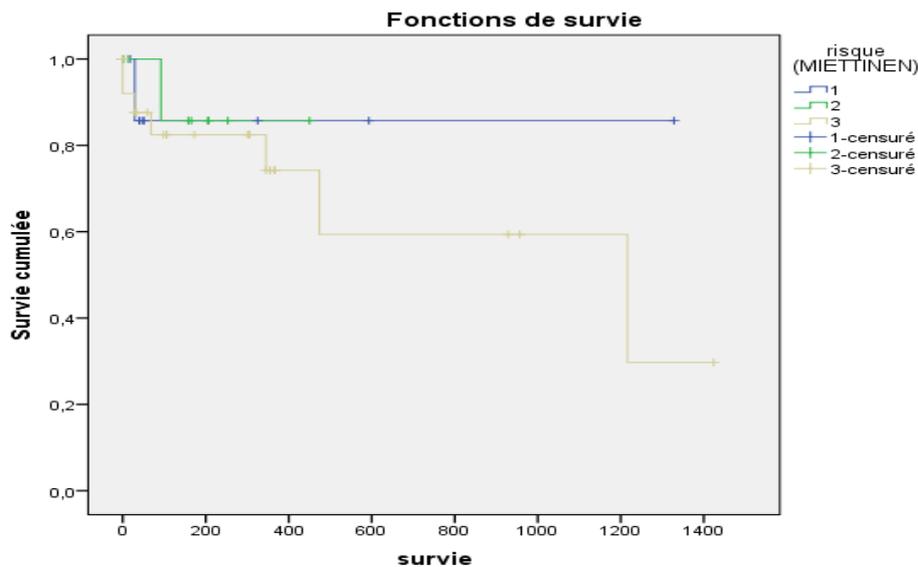
-P = 0,025  
 -1=grêle  
 -2=estomac  
 -3=colon  
 -4=rectum

**Figure 22:** L'évolution de la survie selon le siège de la tumeur.

## 5-L'analyse de la survie et le risque de Miettinen:

Les tumeurs de bas risque et de risque intermédiaire ont une survie meilleure que les tumeurs de haut risque (figure 23).

Il n'y a pas d'association significative entre la survie et le risque de MIETTINEN ( $P=0,668$ ), du fait du caractère réduit de notre échantillon.



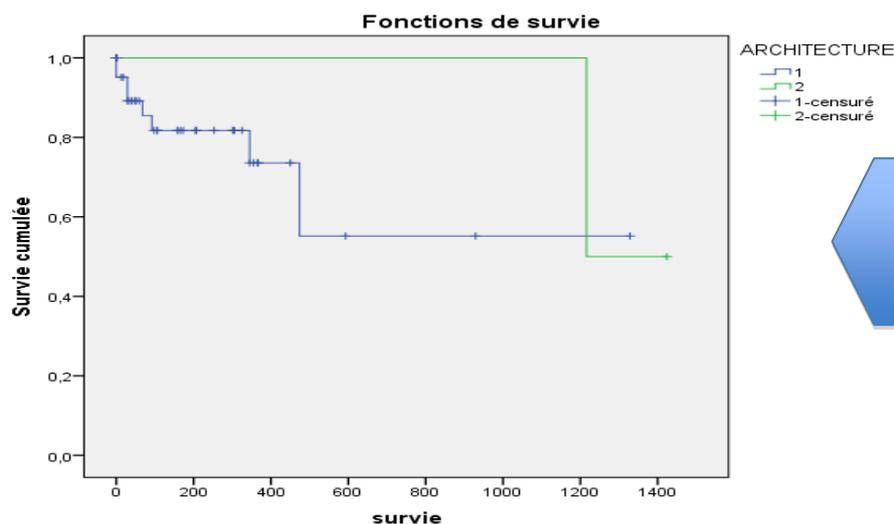
-P = 0,668  
-1=faible risque  
-2=risque intermédiaire

Figure 23 : L'évolution de la survie selon le risque de Miettinen.

## 6-L'analyse de la survie et le type histologique :

Les tumeurs à cellules fusiformes ont une survie (28,52) inférieurs à celle des tumeurs mixtes (soit 44 mois). (Figure 24)

Il n'y a pas d'association significative entre la survie et le type histologique ( $P=0,578$ ), du fait du caractère réduit de notre échantillon.



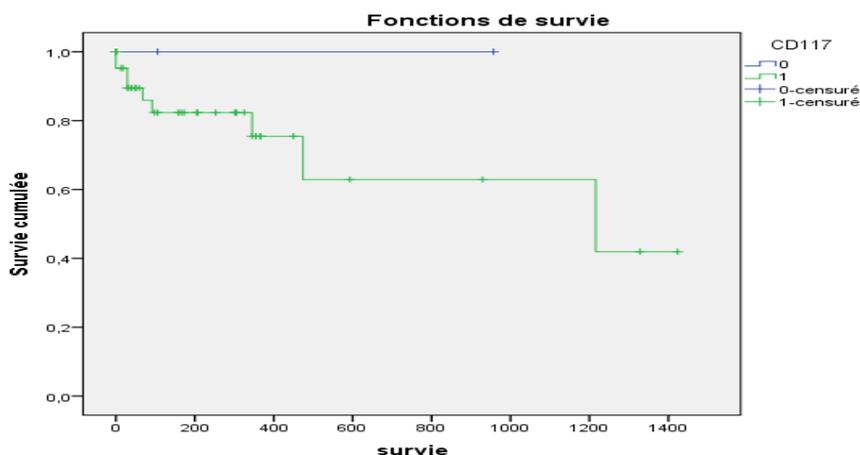
-P = 0,578  
 -1=architecture fusiforme  
 -2=architecture mixte

**Figure 24 : L'évolution de la survie selon le type histologique.**

### 7-L'analyse de la survie et le CD117 :

Les tumeurs CD117 positif ont une survie supérieure (soit 28 mois) à celle des tumeurs CD117 négatif (soit 18 mois) (figure 25).

Il n'y a pas d'association significative entre la survie et l'expression du CD117 (P=0,426), du fait du caractère réduit de notre échantillon.



-P = 0,426  
 -0= CD117 (-)  
 -1= CD117 (+)

**Figure 25 : l'évolution de la survie et le profil immunohistochimique.**

## 8-L'analyse de la survie et le statut mutationnel :

### a- Avec l'exon11 du C-KIT :

Dix huit cas ont une mutation au niveau de l'exon 11 (soit 45%), dont 3 cas ont développé des métastases.

L'analyse statistique montre que les tumeurs avec un exon 11 muté ont une survie moyenne de 34,32 mois supérieure des tumeurs sans mutation de l'exon 11. (Figure 26).

Il n'y a pas d'association significative entre la survie et le statut mutationnel de l'exon 11 ( $P=0,7$ ), du fait du caractère réduit de notre échantillon.

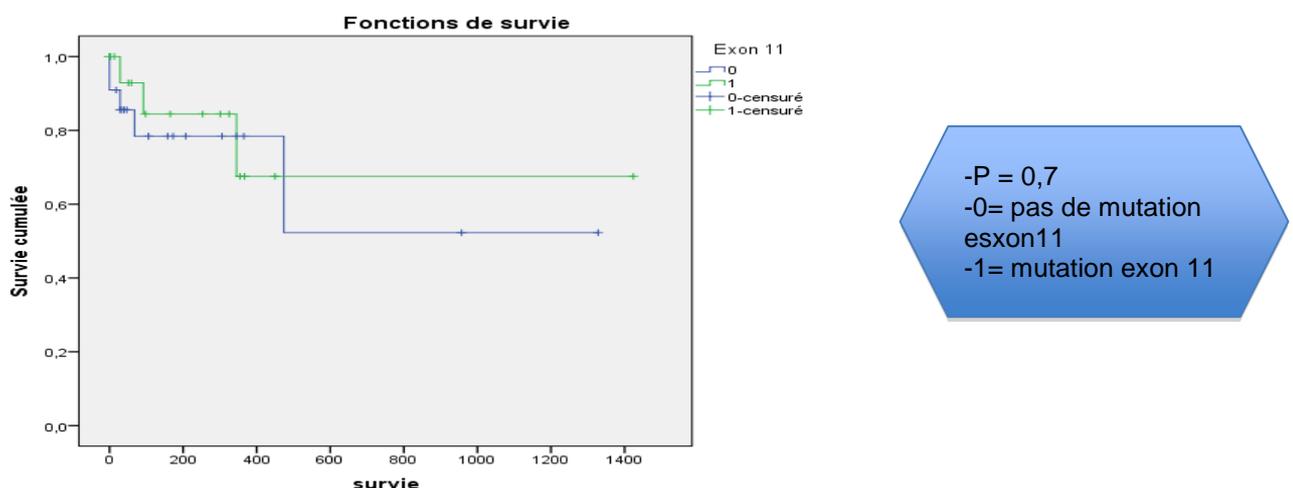


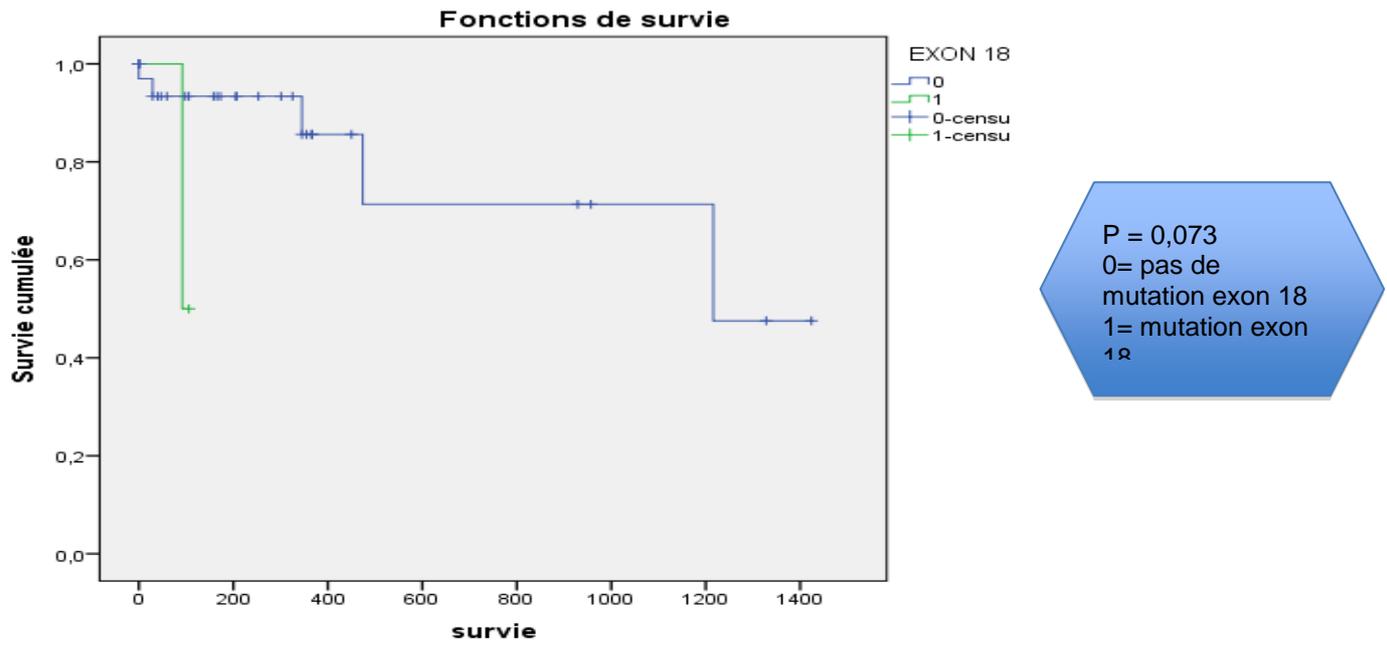
Figure 26: la corrélation entre la survie et le statut mutationnel de l'exon11.

### b- L'exon 18 du PDGFR :

Deux GIST présentaient une mutation de l'exon 18 du PDGFR soit 5% des cas.

L'analyse statistique montre que les tumeurs avec un exon 18 muté ont une survie moyenne de 3,3 mois inférieure à celle des tumeurs sans mutation de l'exon 18 de 35,39 mois. (Figure 27).

Il n'y a pas d'association significative entre la survie et le statut mutationnel de l'exon 18 ( $P=0,073$ ), du fait du caractère réduit de notre échantillon.



**Figure 27:** la corrélation entre la survie et le statut mutationnel de l'exon18 du PDGFR.

Variable	La survie globale	Valeur de P
❖ Sexe :		
• Masculin	• 37,75 mois	• 0,466
• Féminin	• 28 mois	
❖ Siège :		
• Grêle	• 17,54 mois	
• estomac	• 22 mois	
• Colon	• 18 mois	• 0,025
• Rectum	• 7 mois	
• Péritoine	• 15 mois	
• foie	• 15,4 mois	
❖ Taille tumorale :		
• <5cm	• 35,33 mois	
• >5cm	• 29,51 mois	• 0,758
❖ L'index mitotique :		
• >5 mitoses/5mm <sup>2</sup>	• 34,7 mois	
• >5mitoses/5mm <sup>2</sup>	• 32,4 mois	• 0,267
❖ Risque de Miettinen :		
• Bas risque	• 38 mois	
• Risque intermédiaire	• 13,29 mois	
• Haut risque	• 29,57 mois	• 0,668
❖ Type histologique :		
• Fusiforme	• 28,52 mois	
• Mixte	• 44 mois	• 0,578

❖ CD117 :		
• Positif	• 28 mois	• 0,426
• négatif	• 18 mois	
❖ Exon11 de C-kit :		
• Présence de mutation	• 34,32 mois • 27,49	• 0,7
• Absence de mutation		
❖ Exon18 de PDGFR :		
• Présence de mutation	• 3,3 mois • 35,39 mois	• 0,073
• Absence de mutation		

**Tableau 3:** tableau récapitulatif des différentes corrélations entre la survie globale et les différents facteurs clinico-pathologiques.

## E- corrélation entre le type de mutation de l'exon 11 et le CD117:

La recherche de mutation de kit et/ou du PDGFRA a été réalisée dans 20 cas.

38 cas étaient CD117 positifs dont 12 cas avec une délétion de l'exon 11, 5 cas avec une mutation de l'exon 11, et un seul cas présentait une duplication. (Graphique 12) (tableau 4).

Deux cas CD117 négatif, soit 9% des cas ne présentaient pas de mutation au niveau de l'exon 11 de C-KIT dont un cas seul présentait une mutation de l'exon 18 du PDGFR.

Il n'y a pas d'association significative entre le CD117 et le statut mutationnel

de l'exon 11 (P=0,632).

	Exon 11				Total
	Recherche de mutation en cours	Mutation	Délétion	duplication	
CD117 négatif	2	0	0	0	2
CD117 positif	20	5	12	1	38
Total	22	5	12	1	40

**Tableau 4 : l'association entre le statut mutationnel de l'exon 11 et le CD117**

### F- corrélation entre le CD117 et le type histologique :

42 cas étaient CD117 positif, dont 40 cas étaient d'architecture fusiforme et deux cas d'architecture mixte.

Deux cas seulement étaient CD117 négatifs.

Il existe une association significative entre le type histologique et l'expression de CD117 (P<0,05). (Tableau 5 et graphique 13).

	ARCHITECTURE			Total
	Epithéloïde	Fusiforme	Mixte	
CD117 0 Effectif	1	1	0	2
CD117 1 Effectif	0	40	2	42
Total	1	41	2	44

**Tableau 5: l'association entre le statut mutationnel de l'exon 11 et le CD117**

## G- corrélation entre le MDM2 et les critères clinico-pathologiques:

La surexpression de MDM2 a été retrouvée chez 68,4% des patients dont 75% étaient des tumeurs de haut risque de malignité selon la classification de Miettinen.

Corrélation significative de la surexpression de MDM2 avec l'index mitotique élevé, le stade localement avancé, le caractère métastatique ( $P < 0,05$ ) (tableau 6).

La surexpression du MDM2					
Variable	Oui %		Non %		Valeur de P
<b>*Taille tumorale</b>					
< 5cm	48,8				52,4
0,09					
>5 cm	52,2				47,6
<b>*L'index mitotique</b>					
< 5m/50 CFG	48				70 (14)
0,05					
> 5 m/50CFG	52				30 (6)
<b>*Risque</b>					
Haut risque	56,8				42,9
Risque intermédiaire	22,7				28,6
0,1					
Faible risque	20,5				28,6
<b>*caractère localement avancé</b>					
Non	36,4				85,7
0,01					
oui	63,6				14,3

**Tableau 6: corrélation entre les critères clinico-pathologiques et la surexpression du MDM2**

# V-DISCUSSION

Les GIST sont les tumeurs mésoenchymateuses les plus fréquentes du tube digestif. Elles constituent le premier exemple de tumeurs solides traitées efficacement avec un anti-oncogène spécifique.

Notre étude a permis d'établir en plus des caractéristiques épidémiologiques et cliniques de ces tumeurs, une étude phénotypique et génotypique détaillée.

Les résultats épidémiologiques de notre série rejoignent ceux de la littérature.

L'âge médian dans les séries les plus larges est compris entre 55 et 65 ans [14], concernant le sexe ratio, les études ne mentionnent aucune différence de sexe ratio, d'autres notent une discrète prédominance féminine comme dans notre série [14,54].

La répartition topographique rapportée dans la littérature montre une prédominance des localisations gastriques 50 à 70%, suivie de l'intestin grêle (20–30%), le colon et le rectum (10%) [23,24] alors que dans notre série les localisations gastriques et de l'intestin grêle sont les plus fréquentes de l'ordre de 37%, suivie par foie, le colon et le péritoine.

Le diagnostic précis des GIST est devenu indispensable depuis l'avènement d'une thérapie spécifique, d'où la nécessité de déterminer la meilleure stratégie diagnostique.

Les biopsies ne sont contributives que dans 15–30% des cas [12]. Il n'existe pas de consensus quant à la nécessité d'établir un diagnostic préopératoire par une micro biopsie, celle-ci reste néanmoins recommandée par la plupart des experts [46].

En pratique la biopsie n'est utile que lorsque l'exérèse d'une tumeur n'est pas envisagée, et dans le cadre d'une tumeur métastatique d'emblée ou

localement évoluée à fin de définir un traitement médical. Les risques potentiels des biopsies sont essentiellement l'essaimage et l'hémorragie [46].

Les biopsies doivent être réalisées par une équipe expérimentée. Elles peuvent être réalisées par voie endoscopique, écho endoscopique, percutanée ou chirurgicalement [46].

Dans notre série les biopsies étaient réalisées par voie écho-endoscopique scanno-guidée dans 25% des cas (n=11), elles étaient positives dans tous des cas.

L'étude au microscope optique retrouve les trois types histologiques, fusiforme, épithélioïde, et mixte avec une prédominance marquée du type histologique à cellules fusiforme de 93% plus élevé que les fréquences rapportées dans la littérature.

L'immunohistochimie est une étape indispensable au diagnostic. Le CD117 constitue un marqueur incontournable du diagnostic des GIST. Il est exprimé dans 95% des cas [14]. 5% des GIST sont CD117 négatifs [14].

Dans notre série le CD117 était positif dans 95,5% des cas et négatif dans 4,5% des cas. Nos résultats sont superposables aux données de la littérature.

La surexpression de MDM2 a été retrouvée chez 68,4% des patients dont 75% étaient des tumeurs de haut risque de malignité selon la classification de Miettinen.

Il existe une corrélation significative de la surexpression de MDM2 avec l'index mitotique élevé, le stade localement avancé, le caractère métastatique ( $P < 0,05$ ).

Cette surexpression pourra par la suite être utilisée comme facteur pronostic dans les GIST.

Une étude menée par une équipe italienne (LUIGI TORNILLO et al en 2005) a démontré que l'amplification des gènes de MDM2 et de CCND1 est associé à un

risque de malignité plus élevé ce qui concorde avec notre série [91].

L'étude moléculaire des GIST occupe actuellement une place de plus en plus importante, la recherche de mutations est actuellement recommandée pour les GIST kit négatif [46].

Environ 80 % des GIST présentent une mutation du gène KIT, le plus souvent au niveau de l'exon 11 de situation juxta-membranaire dans les deux tiers des cas, plus rarement au niveau de l'exon 9 extra-cellulaire, exceptionnellement au niveau de l'exon 13 ou de l'exon 17. Environ 10 % des cas présentent une mutation au niveau du gène PDGFRA, le plus souvent au niveau de l'exon 18 et plus exceptionnellement au niveau des exons 12 ou 14 [76].

Environ 10 % des GIST ne montrent pas de mutation de KIT ou de PDGFRA. Les GIST survenant chez l'enfant, dans le cadre d'une neurofibromatose de type I ou d'une triade de Carney, sont habituellement non mutées. Une faible proportion de GIST sporadiques non mutées KIT ou PDGFRA montre une mutation de BRAF [76].

Dans notre étude 20 cas ont fait l'objet d'une étude moléculaire. La biologie moléculaire a permis d'une part de confirmer le diagnostic de GIST dans 50% des cas (soit 20 cas) et d'autre part en cas de récurrence locorégionale ou métastatique, de bénéficier d'une thérapeutique ciblée adaptée au profil mutationnel de leurs tumeurs.

Romagnoli et ses collaborateurs ont fait une analyse moléculaire d'une série de 55 cas de GIST. 66% des cas (soit 37 cas) présentaient une anomalies de l'exon 11 dont 19 délétions (51%), 12 mutations (soit 33%), 3 délétion-insertion (8%) et 3 duplications (8%) [93].

Dans notre série, les mutations de l'exon 11 sont retrouvées dans 45% cas, 5% des cas ont présenté une mutation de l'exon 18 du PDGFR (tableau 7). Les

anomalies de l'exon 11 sont réparties comme suivant : 50% des cas de délétion (n=9), 28% de délétion insertion (n=3), 17% de mutation (n=5) et 5% de duplication (n=1) ce qui rejoint les données de la littérature. (Tableau 8).

<u>Type de mutation de l'exon 11 du gène C-kit</u>	<u>Notre série</u>	<u>Série de Battocho et al [92].</u>	<u>Série de Romagnoli [93].</u>
Délétion	50%	39%	51%
Délétion–insertion	17%	10%	8%
Mutation ponctuelle	28%	41%	33%
Duplication	5%	10%	8%

**Tableau 7:** les différents types de mutation selon d'autres séries internationales

<u>Type de mutation</u>	<u>Notre série</u>	<u>Série de Battocho et al [92]</u>	<u>Série de Romagnoli [93]</u>
Mutation de l'exon 11 de C-kit	45%	52%	66%
Mutation de l'exon 9 de C-kit	0%	19%	3,63%
Mutation de l'exon 18 de PDGFR	5%	13%	0%

**Tableau 8:** les sous-type de mutation de l'exon 11 dans d'autres séries.

Du fait de l'effectif réduit, l'existence de corrélations entre les facteurs pronostiques, le statut mutationnel et l'évolution des patients n'a pas pu être confirmée (tableau9).

Notre travail représente une ébauche à la mise en place d'un registre hospitalier des GIST, au sein du CHU HASSAN II de Fès et donne déjà une idée sur les particularités épidémiologiques, anatomopathologiques et moléculaires.

Ce travail a quand même l'avantage d'être parmi les premiers travaux sur les GISTS au Maroc.

Le recueil des données sera poursuivi en incluant également les cas des cabinets et cliniques privées de la région afin de mettre en place un registre régional des GIST.

corrélation	Survie dans notre série	P	Survie dans la série de Glabbeke et al[94].	P
Mutation de l'exon 11	34,32 mois	0,7	60 mois	0,04
Pas de mutation de l'exon 11	27,49 mois	0,7	43mois	0,04

**Tableau 9: comparaison de la survie et le statut mutationnel de l'exon 11.**

# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Les tumeurs stromales digestives représentent les tumeurs mésoenchymateuses les plus fréquentes du tractus digestif.

Leur symptomatologie est peu spécifique, dominée par l'hémorragie digestive et la douleur abdominale.

L'aspect histologique est souvent évocateur. Le recours à l'immunohistochimie est nécessaire pour obtenir un diagnostic définitif.

Leur évaluation pronostique n'est pas toujours aisée. Les paramètres prédictifs les plus discriminants de malignité sont : la taille de la tumeur et son index mitotique.

La résection chirurgicale est le traitement de choix des tumeurs localisées.

L'imatinib est un exemple de thérapie ciblée, (inhibiteur sélectif de la tyrosine-kinase), pour les GISTs localisées, non résecables et métastatiques.

La surveillance prolongée est nécessaire du fait du risque de récurrence même d'une tumeur à un potentiel de malignité réduit.

Les avancées récentes dans la connaissance, la prise en charge des tumeurs stromales digestives et l'arrivée des thérapeutiques ciblées spécifiques, exigent d'établir une meilleure stratégie diagnostique et de définir les éléments du pronostic et de prédiction de réponse au traitement à fin d'aider le clinicien à la sélection des patients et au choix thérapeutique.

Le pathologiste y joue un rôle primordial par la confirmation du diagnostic en se basant sur des outils classiques comme l'histologie et l'immunohistochimie mais aussi par le conditionnement et la conservation des tissus tumoraux pour l'analyse moléculaire.

A travers cette série du CHU qui illustre la prise en charge multidisciplinaire de ce type de tumeur, un projet d'étude moléculaire sera poursuivi, ainsi que la réalisation du premier registre régional des GIST permettra une meilleure prise en

charge des malades en ciblant ceux qui vont répondre à la thérapeutique ciblée.

# **BIBLIOGRAPHIE**

- [1] T.Golden and A.P.Stout.Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract and retroperitoneal tissues, SurgGynecolObstet (73) 1941:784–810.
- [2] Martin JE, Bazin P, Feroldi J, Cabanne F. Intramuralmyoidetumors of the stomach, microscopicconsideration of 6 cases. Ann AntPathol (Paris),1960 (5):484–97.
- [3] A.P Stout.bizarresmooth muscle tumors of the stomach, Cancer,15,(1962):400– 409.
- [4] H.D.Appelman, Helwig EB. Cellular leiomyomas of the stomach, in 49 patients. Archpathollab Med 101 (1977): 373–377.
- [5] M.T Mazur and H.B.Clark. Gastricstromaltumors. Reappraisal of histogenesis, Am J Surg pathol,7,1983: (507–519).
- [6] G.A.Herrera, Dm.Pinto, W.E.Grizzle, S.G. Han. Malignantsmallbowelneoplasm of enteric plexus derivation (plexosarcoma light and electromicroscopicstudyconfirming the origin of the neoplasm, Dig Dis Sci,29,1984: 275–284.
- [7] Walker P, Dvorak AM.Gastrointestinalautonomic nerve (GAN) tumor. Ultrastructuralevidence for a newlyrecognizedentity.archpathollab med,1986 ;110 (4)309–16.
- [8] Min KW. Small intestinal stromaltumorswithskenoidfibers. Clinicopathological, immunohistochemical and ultra structural investigatins. Am J Surgpathol1992;16;145–155.
- [9] Hirota, Isozakik, Moriyama y, Hashimoto k, Nishida t et al. Gain of function mutations of c–kit in humangastrointestinalstromaltumors. Science.1998,23: 279 (5350): 577–80.
- [10] Sarlomo–Rikala M, Kovatich AJ, BaruseviciusA, Miettinen M. CD117: a sensitive marker for gastrointestinalstromaltumorsthatis more specifictan CD34.

ModPathol1998; 11:728–34.

[11] Kindblom LG, Remotti HE, Aldenborg F, Meis, Kindblom JM. Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cell of Cajal. Am J Pathol 1998 May 152 (5): 1259–69.

[12] F. Clère, E. Carola, C. Halimi, A. De Gramond, S. Bonvalot, Y. Panis, F. Carnot. Actualités sur les tumeurs stromales gastrointestinales: à partir de sept observations de tumeurs malignes. Rev Méd Int 2002; 23 :499–507.

[13] J. Morelle, F. Maassarani, P. Francois, R. Dekeuleneer: Avancés récentes dans la compréhension et la prise en charge des tumeurs stromales gastrointestinales. Louvain médical 2004, vol. 123, n<sup>o</sup>2, pp. s66–s74.

[14] Laurent Doucet. Définition, données récentes en anatomopathologie et biologie moléculaire des tumeurs stromales gastro-intestinales. Bull cancer 2006; 93 :S157– 65.

[15] P Karila-Cohen , T Petit , J Teissier et S Merran. Tumeur stromale digestive. J Radiol 2004;85:1911–4

[16] Y. Mochizuki, Y. Kodera, S. Ito et al. Treatment and Risk Factors for Recurrence after Curative Resection of Gastrointestinal Stromal Tumors of the Stomach. M.D. J. World J. Surg. 28, 870–875, 2004.

[17] S. Sekkate, M. Kairouani, H. Abahssain et al. Tumeurs stromales gastro-intestinales. Gastroenterologie. La presse médicale 2012;41: 917–924.

[18] LG. Kindblom, J. Meis–Kindblom, P. Bummig et al. Incidence, prévalence, phenotype and biological spectrum of gastrointestinal stromal cell tumors (GIST) – a population– based study of 600 cases. Ann Onco 2002; 13(Suppl. 5) :157 [Abstr Book of the 27th ESMO Congr].

[19] M. Benesch, E. Wardelmann, A. Ferrari et al. Gastrointestinal stromal tumors

(GIST) in children and adolescents : a comprehensive review of the current literature. *Pediatr Blood Cancer* 2009;53 :1171–9.

[20] RP. DeMatteo, JJ. Lewis, D. Leung et al. Two Hundred Gastrointestinal Stromal Tumors: Recurrence Patterns and Prognostic Factors for Survival. *ANNALS OF SURGERY* 2000, Vol. 231, No. 1, 51–58.

[21] S. Mukherjee, M. Sawyer, R.A. Decker. Gastrointestinal stromal tumor; *E medicinemedscape* Mar 4, 2008.

[22] André J. Balaton, Jean-Michel Coindre, Frédérique Cvitkovic. Tumeurs stromales digestives. *Gastroenterol Clin Biol* 2001;25:473–482.

[23] WI. Staiger, U. Ronellenfitsch, G. Kaehler et al. The Merendino procedure following preoperative imatinib mesylate for locally advanced gastrointestinal stromal tumor of the esophagogastric junction. *World Journal of Surgical Oncology* 2008, 6:37.

[24] J. Do<sup>^</sup>mont, A. Le Cesne. Les multiples emplois de l'imatinib dans les tumeurs solides. *Oncologie* 2006 ;8: 801–807.

[25] J. Morelle, F. Maassarani, P. Francois et al: Avancés récentes dans la compréhension et la prise en charge des tumeurs stromales gastrointestinales. *Louvain médical* 2004, vol. 123, no2, pp. s66–s74.

[26] M. Montemurroa, S. Dirnhoferb, M. Bornercet al. Diagnostic et traitement des GIST (Gastrointestinal Stromal Tumor) Recommandations d'un groupe pluridisciplinaire d'experts. *Forum Med Suisse* 2008;8(30–31):544–549.

[27] P. Szanto, A. Barbus, N. Al Hajjaret al. Gastric Stromal Tumor: A Rare Cause of Upper Gastrointestinal Bleeding. *J Gastrointest Liver Dis* december 2007 ; Vol.16 No 4, 441–443.

[28] Kreiker J, Daou R, Aftimos G. Tumeurs stromales gastriques Présentation de deux cas avec étude immunohistochimique. *Revue de la littérature. J Méd Lib*

2002 ; 50 (5-6) : 226-236.

[29] Ruy Cruz Jr, Rodrigo Vincenzi, Bernardo M Ketzer et al. Spontaneous intratumoral bleeding and rupture of giant gastric stromal tumor (> 30 cm) in a young patient. *World Journal of Surgical Oncology* 2008 ; 6:76.

[30] Colin P. White, Jerry S. McGrath. Gastrointestinal stromal tumour as a cause of hematemesis. *Can J Surg* 2008; Vol. 51, No. 3.

[31] S. Bonvalot. Mise au point Traitement chirurgical des GIST à l'heure du Glivec®. *Annales de chirurgie* 2005; 130 :144-151.

[32] Tae Hyeon Kim, Suck Chei Choi, Chang Soo Choi et al. Hemoperitoneum secondary to a ruptured gastric stromal tumor. *GASTROINTESTINAL ENDOSCOPY*: 2006 ; Vol 63, No. 7.

[33] M. F. Cegarra- Navarro, M. A. Corral de la Calle, E. Girela- Baena et al. Ruptured gastrointestinal stromal tumors: radiologic findings in six cases. *Abdom Imaging* 2005 ; 30:535-542.

[34] Carney JA. Gastric stromal sarcoma, pulmonary chondroma and extra adrenal paraganglioma (Carney triad): natural history, adenocortical component and possible familial occurrence. *Mayo Clin Proc* 1999; 74:543-52.

[35] J. Diment, E. Tamborini, P. Casali, et al. Carney triad: case report and molecular analysis of gastric tumor. *Human Pathology* 2005; 36, 112-116.

[36] Miettinen M, Fetsch JF, Sobin LH, Lasota. Gastrointestinal stromal tumors in patients with neurofibromatosis 1: a clinicopathologic and molecular genetic study of 45 cases. *Am J Surg Pathol* 2006; 30:90-6.

[37] C. O'Riain, CL. Corless, MC. Heinrich, D. Keegan et al. Gastrointestinal stromal tumors: insights from a new familial GIST kindred with unusual genetic and pathologic features. *Am J Surg Pathol* 2005;

29:1680–3.

[38] Frederick P. Li, Jonathan A. Flecher, Michael C. Heinrich. Et al. Familial GIST syndrome: Phenotypic and molecular features in a Kindred. *J Clin Oncol* 2005; 23(12) 2735– 43.

[39] T. Ishii, Y. Kuyama, M. Obara, M. Yamanaka et al. Gastrointestinal Stromal Tumor of the Stomach. *Internal Medicine* 1997; 36:392– 397.

[40] Bengt Nilsson, Per Bümming, Jeanne M. Meis-Kindblom, Anders Odén, Aydin Dortok et al. Gastrointestinal Stromal Tumors: The Incidence, Prevalence, Clinical Course, and Prognostication in the Preimatinib Mesylate Era. *CANCER* February 15, 2005; Volume 103 / Number 4.

[41] Ting Liu, Carlynn Willmore–Payne BS, Lester J. Layfield et al. A gastrointestinal stromal tumor of the stomach morphologically resembling a neurofibroma: demonstration of a novel platelet–derived growth factor receptor á exon 18 mutation. *Human Pathology* 2008 ; 39, 1849–1853.

[42] Afonso Ribeiro, Stephen Vernon, Pablo Quintela. EUS–guided trucut biopsy with immunohistochemical analysis of a gastric stromal tumor. *GASTROINTESTINAL ENDOSCOPY* 2004 ; vol 60, NO. 4.

[43] B. LANDI, Ch. CELLIER. Tumeurs stromales gastriques : qu’apporte l’écho–endoscopie à l’heure de la biologie moléculaire. *Acta Endoscopica* 2004 vol 34 – N° 1.

[44] Samlani–Sebbane Z, Diffaa A, Charaf K, Rabbani K, Narjis Y, El Mansouri F et al. Le GIST rectal : à propos de deux observations et une revue de la littérature. *J Afr Hépatol Gastroentérol.* 2011; 5(1): 60–62.

[45] Chu D, Lacouture ME, Weiner E, Wu S. Risk of hand–foot skin reaction with the multitargeted kinase inhibitors sunitinib in patients with renal cell and non–

renalcellcarcinoma: a meta-analysis. ClinGenitourin Cancer 2009;7:11-19.

[46] J,Y.Blay. S.Bonvalot. Consensus meeting for the management of GIST. Report of the GIST consensus,2004 ;under the anspices of ESMO.

[47]D. Bensimhona, P. Soyer,, J.-P. Broulandb, M. Boudiafa Y. Fargeaudoua, R. Rymera.Tumeurs stromales digestives : rôle de la tomodensitométrie avant et après traitement Gastrointestinalstromaltumors. Gastroentérologie Clinique et Biologique 2008; 32, 91—97.

[48] Van deuAbeelee AD, Badawi RD.use of positron emissiontomography in oncologyaanditspotentialrole to assessresponse of gastrointestinalstromaltumorsafterimatinibmesylatetreatment: a quantitativeanalysisrelatedwith FDG PET findings. Am J, Raeutgenol2004; 183: 1619- 28.

[49] J. Fayette, P. méeus, I. Ray-Coquard, D.Ranchère et al. Traitement médical des tumeurs stromales gastro-intestinales localisées et avancées : standards thérapeutiques. Bull Cancer 2006;93 :S173-80.

[50] H. Bouzourene. Rôle du pathologiste dansla prise en charge des tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST). Revue Médicale Suisse 2009; 5,1505-1507.

[51] Miettinen M, Sobin LH, Lasota J.Gastrointestinalstromaltumors of the stomach: a clinicopathologic, immunohistochemical and moleculargeneticstudy of 1765 cases with long-termfollow-up. Am j surgpathol2004;29:52-68.

[52] EMILEA JF, Bacheta JB, Tabone-Eglingerd S, Brahimia S. Histologie et pathologie moléculaire des tumeurs stromales gastrointestinales. Rev Fr Lab2008(N°398).

[53] Muna Sabah, Mary leader and Elaine Kay.gastrointestinalstromaltumors: an update. Current diagnostic pathology (11) 6;2005:400-410.

[54] B.Petitjean, S Beaulieu, A Mouboutin-Sanchez, A Bergue.Tumours stromales

digestives EMC gastroenterology.2003; 9-027-A-15.

[55] **Dei Tos AP, Laurino L, bearzi I, Messerini L, Farinati F.** Gastrointestinalstromaltumors: the histology report. DigLiver DIS 2011;435 :S304-9.

[56] **CD Fletcher and J.A Fletcher.**

Testing for kit CD117 in gastrointestinalstromaltumor: anotherhercect test. Am J clin pathol 118(2002):163-164.

[57] **MJ. Rios-Moreno, S.Jaramillo, S. Pereira Gallardo et al.**

Gastrointestinalstromaltumors (GISTs): CD117, DOG-1 and PKCo expression. Is thereanyadvantage in usingseveral markers?.Pathology - Research and Practice 208 (2012) 74-8.

[58] **M. Miettinen, Z.F. Wang, J. Lasota.** DOG1 antibody in the differentialdiagnosis of gastrointestinalstromaltumors. A study of 1840 cases, Am. J. Surg. Pathol. 33 (2009) 1401-1407.

[59] **West RB, Coruss CL, Cheu X, Rubin BP, Subramanian S, Montgomery K, et al.** The novel marker, DOG 1, isexpressedubiquitously in GIST irrespective of Kit or PDGFRA mutant status Am J Pathol2004: 164: 107- 13.

[60] **T. Karaa, E. Serinsoza, R. BozdoganArpacia et al.** Contribution of DOG1 expression to the diagnosis of gastrointestinalstromaltumors. Pathology - Research and Practice 209 (2013) 413-417.

[61] **Blay JY, Blomqvist C.** Gastrointestinalstromaltumors: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol(2012) 23 (suppl 7).

[62] **Miettinen, M. and J. Lasota,**Gastrointestinalstromaltumors: review on morphology, molecularpathology, prognosis, and differentialdiagnosis. ArchPatholLab Med, 2006. 130(10): p. 1466-78.

- [63] STROOBANTS S., GOEMINNE J., SEEGER M., DIMITRIJEVIC S., DUPONT P., NUYTS J, ET AL. 18 FDG-Positron emission tomography for the early prediction of response in advanced soft tissue sarcoma treated with imatinib mesylate (Glivec). *Eur. J. Cancer*, 2003 ; 39 : 2012 – 20.
- [64] Italiano A, Bui B. Aspects moléculaires et stratégies thérapeutiques des tumeurs stromales gastro-intestinales. *Bull Cancer* 2008 ; 95 : 107–16.
- [65] Blume-Jensen P., Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature*. 2001, 411: 355–365.
- [66] Christopher L, Corless, Jonathan A, Fletcher and Micheal C. Heinrich. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J clin oncol* volume 22 (18), 2004 ; 3816–3825.
- [67] Heikki Joensuu, Peter Hohenberger, Christopher L Corless. Gastrointestinal stromal tumour. *Lancet*, 2013; 382: 973–83.
- [68] Blay JY. Targeted therapies of cancer : not lost in translation. *Bull Cancer* 2006; 93 : 799–804.
- [69] Genevay M, Gengler C, Guillou L. Detection of chromosomal abnormalities in soft tissue sarcomas : which sarcomas ? which abnormalities ? how ? why ?. *Bull Cancer* 2007: 781–92 ; (9+4).
- [70] Agaimy A, Pelz AF, Corless CL, Wünsch PH, et al. Epithelioid gastric stromal tumours of the antrum in young females with the Carney triad : a report of three new cases with mutational analysis and comparative genomic hybridization. *Oncol Rep* 2007; 18 : 9–15.
- [71] de Raedt T, Cools J, Debiec-Rychter M, Brems H, Mentens N, Sciot R. Intestinal neurofibromatosis a subtype of familial Gist and results from a dominant activating mutation in PDGFRA. *Gastroenterology* 2006 ; 131 : 1907–12.
- [72] Y. Bergé, N. Carrere, C. Couteau, JP. Duffas, et al. Référentiel de Biologie Moléculaire Oncomip, pathologie digestive .2014, Version 3 ,57–101.

- [73] JF Emile et al. Epidémiologiemoléculaire des GIST. 2006.
- [74] A. Battochio, S. Mohammed, D. Winthrop, et al. Comparison of DHPLC and DNA Sequencing Methods Using a Single Population–Based Cohort. *Am J Clin Pathol*, 2010;133:149–155
- [75] S. Arifi. Les tumeurs stromales digestives : Aspects biologiques et anatomopathologiques (a propos de 10 cas). 2007.
- [76] J.–M. Coindre. Biologie moléculaire des sarcomes. *Bull du cancer*, 2010, vol 97, N°11 :1337–1345.
- [77] Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo–Rikala M, et al. Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N Engl Med*, 2001;344 :1052–6.
- [78] Dagher R, Cohen M, Williams G, et al. Approval summary: imatinib mesylate in the treatment of metastatic and/or unresectable malignant gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 2002;8:3034–3038.
- [79] Heinrich MC, Corless CL, Blanke CD, *et al.* Molecular correlates of imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Onco* 2006; 24 : 4764–74.
- [80] De Giorgi U. KIT mutations and imatinib dose effects in patients with gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Onco* 2007; 25:1146–7.
- [81] Tamborini E, Pricl S, Negri T, Lagonigro MS, *et al.* Functional analyses and molecular modeling of two c–Kit mutations responsible for imatinib secondary resistance in GIST patients. *Oncogene* 2006 ; 25 : 6140–6.
- [82] Wardelmann E, Merkelbach–Bruse S, Pauls K, Thomas N, et al. Polyclonal evolution of multiple secondary KIT mutations in gastrointestinal stromal tumors under treatment with imatinib mesylate. *Clin Cancer*

Res2006 ; 12 : 1743–9.

[83] Antonescu CR, Besmer P, Guo T, Arkun K, Hom G, Koryotowski B, et al. Acquired resistance to imatinib in gastrointestinal stromal tumor occurs through secondary gene mutation. *Clin Cancer Res* 2005 ; 11 : 4182–90.

[84] Mahadevan D, Cooke L, Riley C, Swart R, Simons B, Della Croce K, et al. A novel tyrosine kinase switch is a mechanism of imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors. *Oncogene* 2007 ; 26 : 3909–19.

[85] TUMEURS stromales GASTRO-INTESTINALES (GIST) Referentiel nord pas de calais .Version 6 aout 2008 .Réseau Régional de Cancérologie Onco Nord Pas de Calais.

[86] DR Axel le Cesne. Sarcome et tumeurs stromales digestives. ASCO 2006.

[87] A. Le Cesne. Tumeurs stromales gastro-intestinales (TSGI). Actualités de l'ASCO 2008. *Oncologie* (2008) 10: 472–477.

[88] Demetri GD, von Mehren M, Antonescu CR, DeMatteo RP, Ganjoo KN, Maki RG, et al. NCCN Task Force report: update on the management of patients with gastrointestinal stromal tumors. *J Natl Compr Canc Netw* 2010; 8 Suppl 2: S1–41.

[89] Polkowski M, Butruk E. Submucosal lesions. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2005; 15: 33–55.

[90] Le Cesne A, Landi B, Bonvalot S et al. Recommandations pour la prise en charge des tumeurs stromales gastro-intestinales. *Hépatogastro* 2005 ; 5 : 377–9.

[91] L. Tornillo, G. Duchini, V. Carafa, et al. Patterns of gene amplification in gastrointestinal stromal tumors (GIST). *Laboratory Investigation*. 2005, 85 ; 921–931.

- [92] A. Battochio, S. Mohammed, D. Winthrop, et al. Detection of c-KIT and PDGFRA Gene Mutations in Gastrointestinal Stromal Tumors Comparison of DHPLC and DNA Sequencing Methods Using a Single Population-Based Cohort. *Am J Clin Pathol* 2010;133:149–155.
- [93] S. Romagnoli, D. Graziani, M. Bramerio, et al. Immunohistochemical profile and c-kit mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Pathology - Research and Practice* 201 (2005) 71–81.
- [94] V. Glabbeke, K. Owzar, C. Rankin, et al. GIST Meta-analysis Group. (MetaGIST). Comparison of two doses of imatinib for the treatment of unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors : A meta-analysis based on 1,640 patients. *J Clin Oncol* 2007 ; 25(suppl 18S) : 10004.