

GIST, mutazioni e resistenze : quali realtà?

Dr. Axel Le Cesne (Istituto Oncologico Gustave Roussy, Villejuif , Francia)

Editoriale

I - GIST e mutazioni

II - Resistenze e mutazioni

- Definizioni della resistenza
- Mutazioni e resistenze primarie
- Mutazioni e resistenze secondarie
- Mutazioni e sunitinib
- Mutazioni e modelli in vitro
- Verso una generalizzazione dell'analisi mutazionale?

III - GIST e resistenze nella pratica clinica

- Casi clinici tipici di GIST trattati con imatinib /sunitinib
- Analisi mutazionale in corso di trattamento: a proposito di un caso clinico

IV - Bibliografia

Editoriale

I tumori stromali gastrointestinali (GIST) sono tumori rari che possono localizzarsi in tutto l'apparato gastrointestinale, la cui incidenza stimata è di circa uno, due nuovi casi per 100.000 abitanti per anno. I GIST rappresentano una entità nosologica particolare dopo la scoperta del loro legame con le cellule di Cajal, quelle che danno il ritmo della motilità intestinale. Sul piano fenotipico le cellule tumorali dei GIST sono caratterizzate dall'espressione del recettore tirosina chinasi c-Kit o PDGFR α in una forma mutata e/o attivata.

Queste mutazioni compaiono precocemente e costituiscono quasi certamente l'evento ontogenetico iniziale della malattia. Le mutazioni del gene KIT osservate nell'80-85% dei GIST sono responsabili di una attivazione spontanea di c-kit indipendentemente dal suo legame col suo ligando specifico, stem cell factor. Queste mutazioni sono riscontrabili nelle cellule germinali nei rari casi di GIST familiari e nella grande maggioranza dei tumori in uno stadio precoce o avanzato, soprattutto nei GIST di piccolo diametro (< 1 cm.) e nei GIST familiari. La grande maggioranza di queste mutazioni si trovano da una parte e dall'altra della regione trans membranaria del recettore, implicata nel processo di dimerizzazione della kinasi, dopo che ad essa si è fissato il ligando. Altre mutazioni attivatrici delle tirosina kinasi sono state riscontrate nei GIST, in particolare sulla catena alfa del recettore del PDGF.

I GIST costituiscono un modello in oncologia dei tumori solidi, rappresentando il primo tumore solido trattato con una terapia orientata sulla anomalia molecolare causa del tumore.

Lo stato mutazionale di KIT /PDGFR influenza la risposta all'Imatinib (ASCO 2004/2005) ma anche la risposta al sunitinib (Sutent[®], Pfizer)

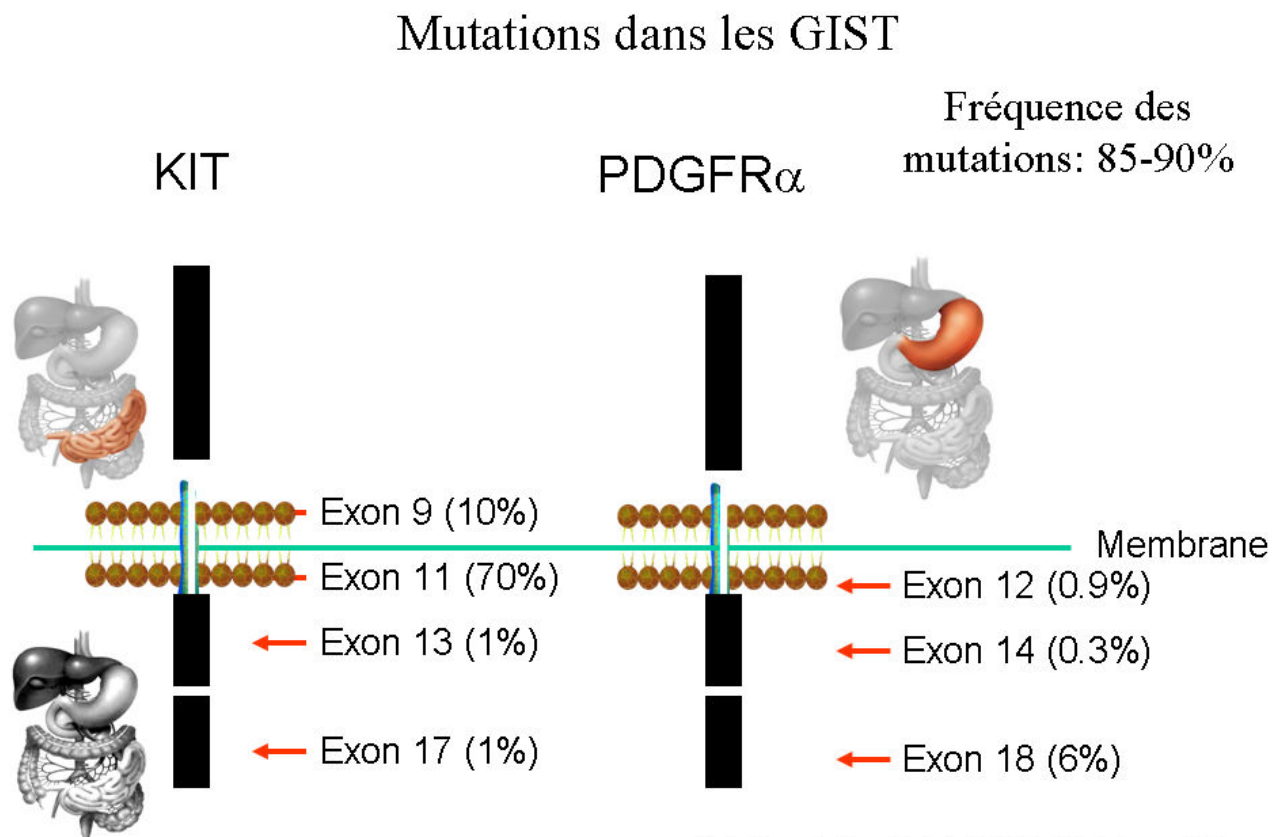
I - GIST E MUTAZIONI

I GIST sono caratterizzati nell'85-90 % dei casi da una mutazione attivatrice nei geni KIT o PDGFR α che codificano per due recettori transmembranicici della famiglia delle tirosina kinasi. Queste mutazioni giocano un ruolo essenziale nell'induzione del processo tumorale e sono osservate nei primi stadi tumorali anche nei microGIST e talvolta fortuitamente (1.,2)

La grande maggioranza delle mutazioni interessa il gene KIT nel 75-80 % dei GIST. Una mutazione a livello del gene PDGFR α si trova in circa l'8% dei casi. Gli altri casi di GIST che non presentano mutazioni nel gene KIT, di quelle più frequentemente ricercate (esone 9, 11, 13, 17) o nel gene PDGFR α (esone 12, 14, 18): si chiamano GIST 'wild type' (3,4).

Per ordine di frequenza le mutazioni di KIT si ritrovano a livello dell'esone 11 (65%) del 9 (10%), del 13 (1%), del 14 (1%), del 17 (1%) e per PDGFRA esse sono localizzate sull'esone 18 (5%), 12 (1%), 14 (1%) (Figura 1 e 2)

FIGURA 1: FREQUENZA, NATURA E LOCALIZZAZIONE PREFERENZIALE DEI RECETTORI TIROSINA KINASI CHE PRESENTANO UNA MUTAZIONE ATTIVATRICE NEI GIST AVANZATI



Heinrich et al. *Hum Pathol.* 2002;33:484; Science 2003, Corless et al. *JCO* 2006

Le analisi genetiche che hanno precisato le nostre conoscenze sulla natura e l'incidenza di queste mutazioni provengono da pazienti con GIST in fase avanzato. E' molto verosimile che il particolare stato mutazionale dei GIST possa evolvere in funzione dello stadio di malattia dal microGIST di scoperta fortuita (<5mm), al GIST localizzato operabile fino allo stadio metastatico.

La distribuzione di queste mutazioni differisce a seconda della localizzazione dei GIST. Pertanto se le mutazioni sull'esone 11 sono state descritte lungo tutto il tratto digestivo, i GIST che presentano una mutazione sull'esone 9 si osservano soltanto al livello del piccolo intestino (20% delle localizzazioni di tutti i GIST), e i GIST 'Wild type' soltanto a livello della bolla gastrica (3-7)

Caratteristiche "genotipiche" dei GIST	
KIT	75-80% delle mutazioni
Esone 11	Mutazione più frequente (circa 2/3), la più sensibile all'imatinib
Esone 9	Seconda mutazione più frequente (10-15%) meno sensibile all'imatinib
Esone 13 , Esone 17	Mutazioni rare (circa 2%)
PDGFRA	Circa 5-10 % delle mutazioni
Esone 12, esone 14	Mutazioni rare (<2%)
Esone 18	La più frequente delle mutazioni (6%), la mutazione D842V è resistente all'imatinib
"Wild Type"	Assenza di mutazioni KIT/PDGFR (circa il 10%); espressione di IGF1R?
Gist familiare	Mutazione germinale di KIT o di PDGFR
GIST pediatrico	Generalmente non ci sono mutazioni di KIT/PDGFR (IGF1R?)
Triade di Carney	Assenza di mutazioni KIT/PDGFR
NF-1 correlato	Assenza di mutazioni KIT/PDGFR (IGF1R?)

II - Resistenza e mutazioni

1) Definizioni

I chemioterapici convenzionali sono poco efficaci verso i GIST, con un tasso di risposta inferiore al 10 %. La scoperta degli inibitori della tirosina kinasi ha costituito un progresso notevole nel trattamento dei GIST. Attualmente il trattamento primario dei GIST locali avanzati inoperabili o metastatici è l'imatinib mesilato, che è un inibitore selettivo dei recettori tirosino-kinasi KIT e PDGF, che presentano le mutazioni attivanti in più dell'85% dei casi.

1) Che cosa sappiamo oggi della resistenza all'imatinib?

La **resistenza primaria all'Imatinib** è definita dall'assenza di risposta tumorale nei sei mesi successivi al trattamento con l'imatinib. Nei primi studi rappresentavano circa il 10-15 % dei casi; negli ultimi studi questa resistenza primaria non rappresenta che il 5-10% dei casi e ciò è dovuto ad una migliore selezione dei pazienti (tra quelli che hanno le numerose patologie tumorali che esprimono KIT e che erano state considerate a torto come GIST).

La **resistenza secondaria all'imatinib** consiste in una progressione (parziale o generale) che insorge in quei pazienti che hanno presentato inizialmente una risposta al trattamento di durata maggiore di 6 mesi. L'intervallo nella insorgenza di questa resistenza secondaria è nella media di circa 20-24 mesi. Si stima solitamente che il 20% dei pazienti in trattamento con imatinib ogni anno possano sviluppare una resistenza secondaria. La sopravvivenza senza recidiva a tre anni è di circa il 35 % nel più grande studio pubblicato fino ad oggi (studio dell'EORTC, 946 pazienti) o 5% di resistenza primitiva, 20% di pazienti per anno o 65% di conseguenze evolutive nei primi tre anni. E' possibile che l'incidenza di queste recidive oltre i tre anni diminuisca con il tempo(8.9)

2) Quali strategie terapeutiche dobbiamo seguire in conseguenza di una resistenza all'imatinib?

In caso di progressione documentata della malattia dopo una risposta ad Imatinib, l'aumento della posologia del farmaco da 400 mg al giorno ad 800 mg può portare un beneficio clinico per un terzo dei pazienti ma questo effetto è solitamente di breve durata (mediana circa 15 settimane (10). La chirurgia delle lesioni residue in un contesto di progressione di malattia è da evitare, una piccolissima parte dei pazienti avrebbe beneficio da questa chirurgia detta di salvataggio.

La sola molecola che ha avuto una autorizzazione ad essere messa sul mercato nel 2006 per il trattamento dei GIST non resecabili o delle metastasi dopo aver interrotto il trattamento con imatinib per insorgenza di resistenza o di intolleranza è il sunitinib. Questo farmaco possiede una attività in vitro contro i Gist resistenti all'imatinib. Inoltre, è attivo contro uno spettro più ampio di proteine kinasi di quanto non sia l'imatinib : oltre che KIT e PDGFR α esso inibisce i recettori VEGFR e RET.

2) Mutazioni e resistenze primarie.

La mutazione dei geni che codificano per le proteine KIT e PDGFR α sono predittive della risposta al trattamento con imatinib con le differenti mutazioni associate ai differenti GIST, in base alla loro sensibilità ad imatinib.

I pazienti che hanno una mutazione sull'esone 11 del gene che codifica per la mutazione KIT avranno una risposta migliore all'imatinib con una percentuale di risposta obiettiva in circa il 70-80 % dei pazienti. Per contro altre mutazioni conferiranno una resistenza primaria all'imatinib nei casi seguenti:

- alcuni pazienti (non tutti) che hanno una **mutazione con l'esone 9 di KIT**
- alcuni pazienti che **non presentano mutazioni evidenziabili nelle cellule tumorali** (Wild type)
- più raramente i pazienti portatori di un tumore con mutazioni negli **esoni 13, 14, 17, 18.**
- infine i pazienti che presentano una mutazione **D842V nell'esone 18 di PDGFR α .**

A parte la loro debole sensibilità all'imatinib, la prospettiva dei pazienti che presentano resistenza primaria è significativamente meno buona rispetto a quei pazienti che presentano una "caratteristica molecolare" differente da quelle sopradette (12,13)

Bisogna inoltre sottolineare che alcuni pazienti che presentano mutazione a livello dell'esone 9 di KIT possono rispondere molto bene a dosi basse di imatinib (400 mg) e che paradossalmente alcuni pazienti che hanno una mutazione a livello dell'esone 11 di KIT non beneficiano per nulla dell'imatinib a testimonianza del fatto che i meccanismi che provocano la resistenza primaria possono essere mediati da altri fattori clinici e biologici (3, 14).

Mécanismes induisant une résistance à l'imatinib	
Résistance primaire	Résistance secondaire
- Mutation initiale (mutation sur KIT exon 9, wild type) - Mutations secondaires du KIT	- Mutations secondaires du KIT (exon 13, 14, 17, ou 18) - Activation de différente voie de signalisation autres que le KIT ou PDGFR α induisant une prolifération incontrôlée - Amplification génomique KIT - Surexpression des canaux d'efflux au sein de la tumeur - Mécanismes pharmacologiques * élévation sanguine de l'acide glycoprotéine * élévation de la clairance

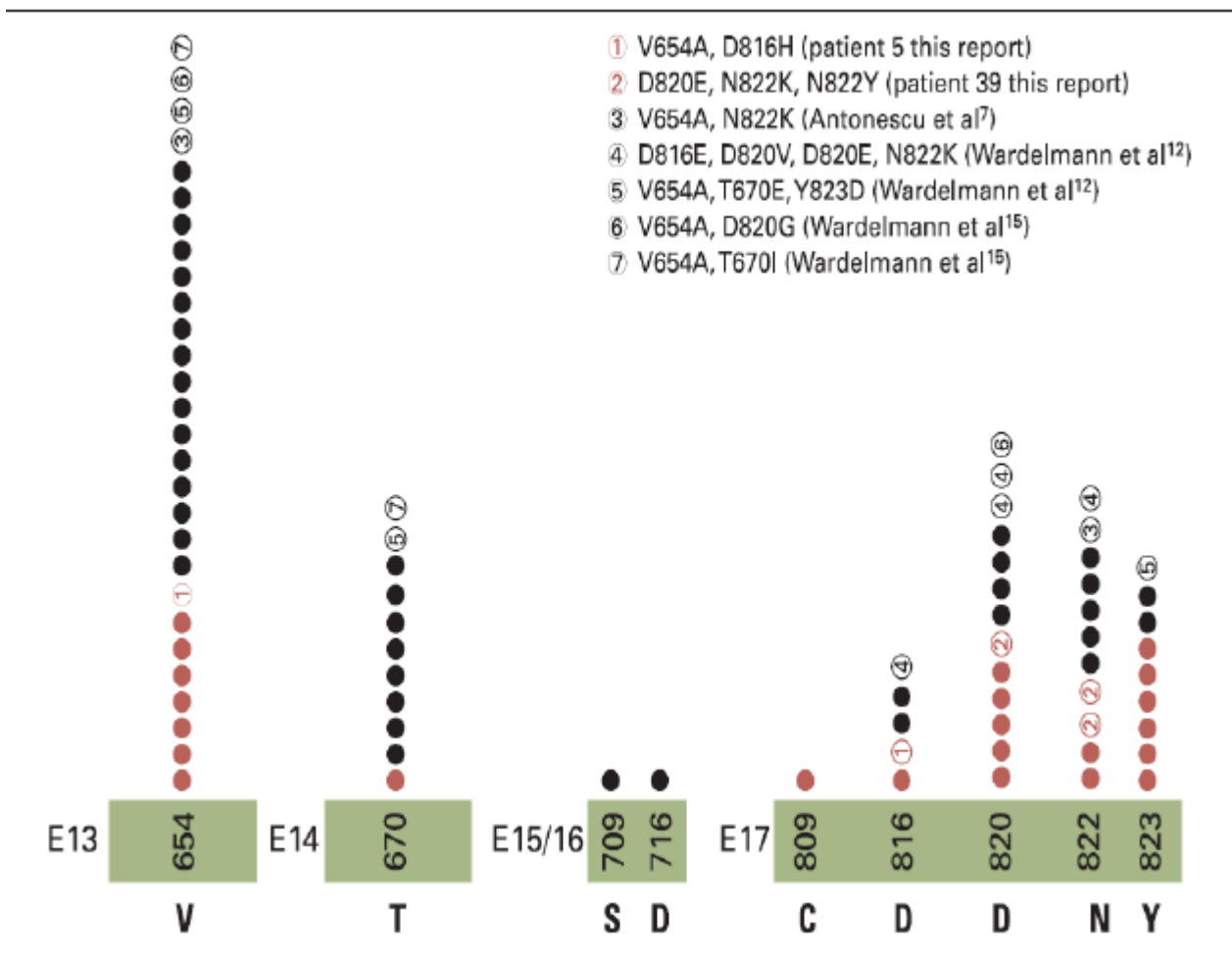
3) Mutazioni e resistenze secondarie

Le resistenze secondarie possono avere differenti cause: non genetiche (farmacodinamiche, farmacocinetiche, non osservanza della dose ottimale di imatinib); genetiche, più frequentemente legate alla comparsa di mutazioni secondarie a livello dei geni KIT o PDGFR α , amplificazione genomica del gene KIT, disregolazione di KIT, attivazione di fattori diversi da KIT o PDGFR α che portano ad una proliferazione cellulare non controllata. Quali che siano i miglioramenti applicati per evitare le cause non genetiche, la maggior parte dei pazienti in terapia con Imatinib sviluppa resistenza secondaria per cause genetiche.

La comparsa di differenti mutazioni secondarie nei GIST tradisce l'eterogeneità e la instabilità genetica che caratterizza i GIST. Il dibattito circa la possibile induzione di queste mutazioni secondarie per effetto di una pressione positiva dell'imatinib o la presenza di queste ultime per effetto del trattamento non è ancora stato risolto.

Queste mutazioni secondarie acquisite inducono resistenza all'imatinib e si osservano più frequentemente nei GIST che presentano una mutazione iniziale a livello dell'Esone 11 di KIT (63% delle nuove mutazioni) e meno frequentemente nei GIST che presentano una mutazione iniziale a livello dell'esone 9 (40% delle nuove mutazioni). Pochissime o quasi nessuna nuova mutazione è stata descritta nei GIST inizialmente Wild Type (5, 14-16).

Considerando tutta la lunghezza del genoma di KIT, la comparsa di queste mutazioni secondarie si osserva principalmente negli esoni 13, 14, 18, e soprattutto 17 (v Fig 4) (5). La maggior parte delle nuove mutazione all'interno di questi esoni possono essere ritrovati su biopsie multiple effettuate sui pazienti resistenti ad imatinib e sulla maggior parte delle metastasi.



Un aspetto interessante è quello dei pazienti che hanno secondariamente acquisito una mutazione a livello dell'esone 13 e 14 e presentano costantemente una mutazione a livello degli stessi codoni di questi esoni (ad es. Valina 654 alanina nell'esone 13 e treonina 670 per isoleucina nell'esone 14) mentre parecchi codoni possono essere alterati nel caso dell'esone 17 (ad es. i codoni 816, 820, 822, 823). Infine, è stata descritta costantemente l'acquisizione di una nuova mutazione a livello dell'esone 18 del recettore PDGFR nei pazienti che avevano inizialmente una mutazione nell'esone 11 di KIT. (11).

In circa il 40% dei pazienti la comparsa di una resistenza secondaria non è stata correlata all'acquisizione di una nuova mutazione. Un'amplificazione di KIT può essere ritrovata in correlazione con queste resistenze secondarie (11,17).

Qualche che sia la natura di queste nuove mutazioni di KIT (vicine alla membrana o nella zona della tasca enzimatica) il recettore KIT fosforilato e attivo sulle vie del segnale intracellulare si comporta indipendentemente dall'Imatinib com'è stato dimostrato su linee cellulari stabilizzate di GIST (18). Soltanto alcuni rari casi di perdita di espressione di KIT sono stati riportati a testimonianza di un meccanismo indipendente di resistenza di KIT (11).

4. Mutazioni e sunitinib

È stato su questa popolazione geneticamente eterogenea di pazienti resistenti (resistenza primaria, secondaria ed intolleranza all'imatinib) che è stato sviluppato il sunitinib (19).

Oltre alla sua notevole efficacia in termini di controllo tumorale e di sopravvivenza dei pazienti sull'insieme di quelli resistenti all'imatinib, si è potuto rapidamente definire che i benefici del sunitinib sono significativamente superiori nei casi di GIST che presentano una mutazione iniziale sull'esone 9 di KIT o che non presentano alcuna mutazione (WT) con una mediana di sopravvivenza senza progressione di malattia da 13 a 15 mesi per queste due coorti di pazienti contro i 5 mesi per i pazienti che presentano GIST con una mutazione sull'esone 11 ($p < 0.01$) vedi Figura 5 (20).

Queste interpretazioni sono state effettuate a partire da mutazioni iniziali (precedenti l'introduzione in terapia dell'imatinib) e non sulle biopsie effettuate prima dell'introduzione in terapia del sunitinib. Tenendo presente le caratteristiche genotipiche di questi pazienti resistenti ad imatinib (nessuna nuova mutazione nel WT, 40% di nuove mutazioni nel gruppo di pazienti con una mutazione iniziale nell'esone 9 e due tipi di nuove mutazioni nel gruppo dell'esone 11) e dei risultati osservati in vitro (come in seguito descritti) l'attività del sunitinib può essere così riassunta:

- superiore a imatinib nei GIST con mutazione iniziale nell'esone 9 o nei WT se viene somministrato come farmaco di prima linea (nessuna o poche nuove mutazioni in questo gruppo di pazienti, meccanismi di resistenza ad imatinib differenti da nuove mutazioni)
- non drammaticamente meno attivo dell'imatinib nei GIST con mutazione iniziale nell'esone 11 (prima della comparsa di cloni resistenti ad imatinib e/o sunitinib).

Queste ipotesi devono essere validate in futuro attraverso studi attualmente in corso per la comparazione del sunitinib e dell'imatinib come farmaci di prima scelta in tutti i GIST avanzati inoperabili.

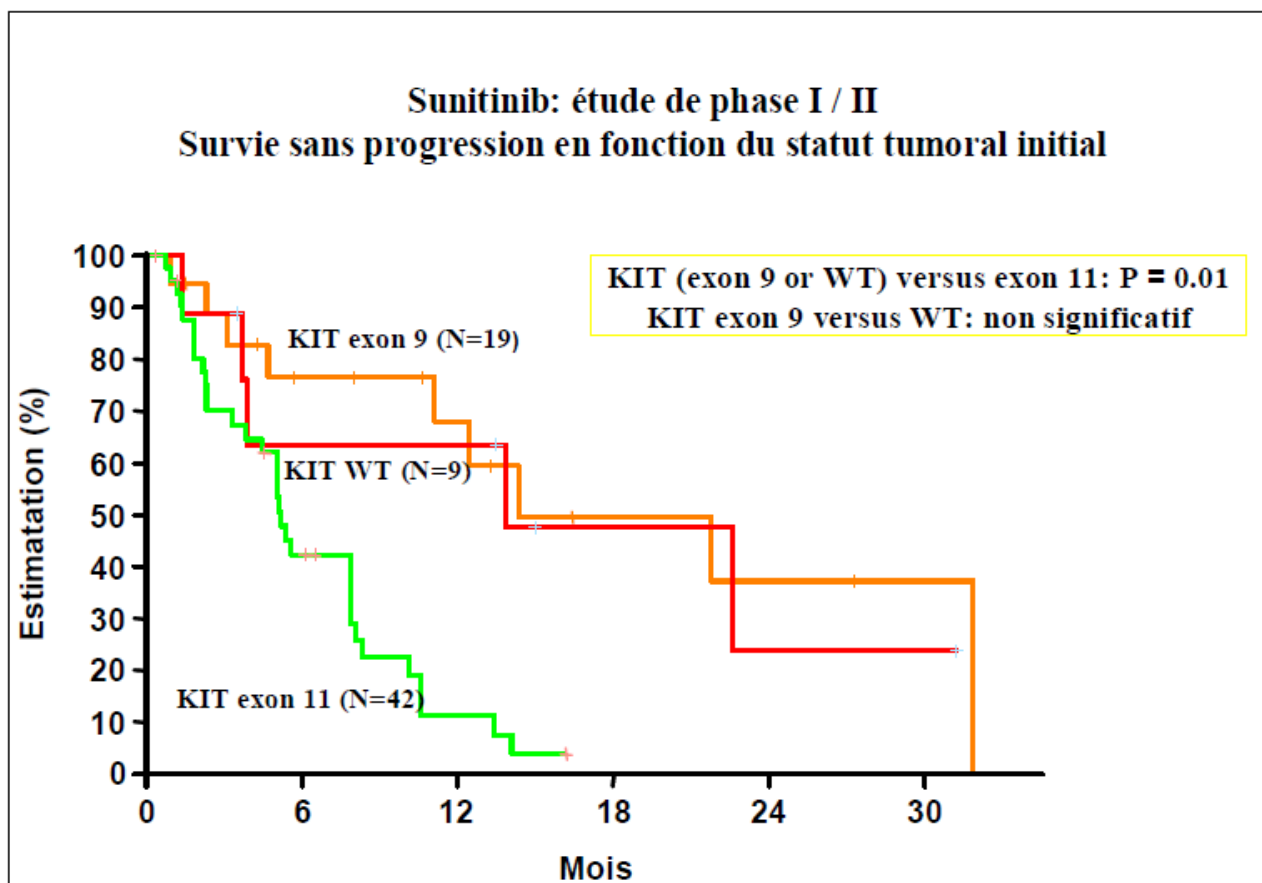


FIGURA 5 : SOPRAVVIVENZA SENZA RECIDIVA DEI PAZIENTI IN TERAPIA CON SUNITINIB IN FUNZIONE DELLA SITUAZIONE MUTAZIONALE DEL GIST (19, 20)

- ESONE 9 DI KIT : SOPRAVVIVENZA SENZA RECIDIVA CON MEDIANA DI 14.3 MESI
- NIENTE MUTAZIONE (WT) 13.8 MESI
- ESONE 11 DI KIT 5.1 MESI

5. Mutazioni e modelli in vitro.

Lo sviluppo di linee cellulari ottenute da GIST resistenti o sensibili ad imatinib ha facilitato considerevolmente la ricerca di nuovi inibitori delle tirosino-chinasi per il trattamento dei GIST (4,5,11,20,21)

La maggior parte delle linee cellulari sensibili (GIST-T1, GIST 882....) o resistenti (GIST 430, GIST 48) ad imatinib ottenuti da pezzi operatori sono state sviluppate e la trasfezione delle mutazioni innate o acquisite in corso di trattamento con imatinib/sunitinib hanno permesso di chiarire meglio i meccanismi di sensibilità/resistenza di queste cellule tumorali di GIST nei confronti degli anti-tirosinocinasici. Alcune linee cellulari con doppie mutazioni sono state ugualmente sviluppate.

I risultati degli esperimenti in vitro condotti su queste linee cellulari hanno fornito delle indicazioni sul concetto di resistenza legata alle mutazioni ma hanno anche permesso di razionalizzare gli studi clinici sui nuovi trattamenti terapeutici dei GIST e soprattutto sull'impiego del sunitinib:

- le linee cellulari che presentano una mutazione dell'esone 11 sono sensibili sia ad imatinib che a sunitinib, in contrasto con un'idea

precedente che il sunitinib fosse principalmente efficace sui GIST WT o su quelli che presentano una mutazione nell'esone 9 di KIT;

- la presenza di una mutazione classicamente resistente ad imatinib (W654A o T6701 sull'esone 11) non altera l'efficacia del sunitinib;
- la presenza di una mutazione a livello dell'esone 17 conferisce resistenza ad imatinib ed a sunitinib (21);
- gli studi *in vitro* condotti sulle linee cellulari divenute resistenti ad imatinib (inizialmente esone 11) per aver acquisito una mutazione a livello degli esoni 13 e 14 (tasca dell'ATP sul recettore) mostrano che questi GIST diventano sensibili al sunitinib;
- per contro, i GIST con una nuova mutazione a livello dell'esone 18 (regione catalitica del recettore) divengono resistenti anche al sunitinib (21);
- altre mutazioni di KIT sono state ritrovate nelle lesioni progressive operate nei pazienti in corso di trattamento con sunitinib (L738V).

Quali possono essere le conseguenze di queste indagini sulla sensibilità/resistenza in vivo del sunitinib?

Come per l'imatinib, la situazione mutazionale dei geni KIT e PDGFR α permette di predire la risposta tumorale al trattamento con sunitinib. I pazienti suscettibili di rispondere meglio al sunitinib presentano le seguenti caratteristiche :

- GIST non pre-trattati con imatinib che presentano una mutazione nell' esone 11, 9 o WT;
- GIST pre-trattati con imatinib che hanno una mutazione nell'esone 9 o WT;
- GIST pre-trattati con imatinib che hanno una mutazione iniziale sull'esone 11 e che ne hanno acquisita una secondaria sull'esone 13 o 14.

L'effetto anti-VEGF del sunitinib non è affatto sufficiente per ribaltare tutte le resistenze secondarie all' imatinib dal momento che KIT rimane attivo, la presenza di mutazioni (iniziali o secondarie) a livello della regione catalitica distale del recettore KIT/PDGFR (esoni 17 e 18) conferiscono alle cellule tumorali resistenza al sunitinib.

5. Verso una generalizzazione dell'analisi mutazionale.

Anche se questo approccio è sperimentale e riservato a studi con un forte potenziale translazionale (di possibile applicazione clinica) sembra evidente che queste analisi mutazionali dei GIST possano in prossimo futuro indirizzare la prima linea di scelta del trattamento terapeutico soprattutto se le lesioni neoplastiche sono facilmente accessibili al prelievo bioptico.

I pazienti che devono essere operati per un GIST localizzato beneficeranno sempre di più di queste analisi e il trattamento ulteriore in caso di recidiva potrà ancora meglio essere adattato alla situazione mutazionale della lesione. La situazione mutazionale dei GIST localizzati sembra differire un po' dalle nostre conoscenze acquisite dalle analisi genetiche effettuate nelle lesioni metastatiche. Se la percentuale di GIST che presentano una mutazione dell'esone 11 è di circa il 65-70% quale che sia lo stadio tumorale (micro-GIST fino a GIST avanzate) (2), le mutazioni a livello dell'esone 18 del PDGFR α si osservano nel 25 % dei GIST gastrici (esclusivamente gastrici) resecati. Parallelamente è stato riscontrato che i GIST gastrici che presentano una mutazione del gene PDGFR α appartengono a gruppi i pazienti a rischio molto limitato di recidiva, sulla base della classificazione di Fletcher del 2002. (22)

E' anche altamente probabile che le frequenze ed i tipi di mutazioni nei GIST cambino in funzione dello stadio di malattia, della popolazione studiata e che i pazienti che traggono beneficio da un farmaco anti-tirosinochinasi in una situazione metastatica non siano quelli stessi che ne avrebbero beneficiato in una situazione preventiva.

Lo studio delle mutazioni potrà dunque divenire assolutamente indispensabile, in un prossimo futuro, per definire l'algoritmo decisionale del trattamento terapeutico.

III. GIST e resistenza nella pratica clinica.

UN CASO CLINICO: Uomo di 66 anni senza particolari precedenti.

Maggio 2001: resezione completa di un GIST gastrico di 7 cm con indice mitotico 6/50 HPF. Si tratta, quindi, di un GIST a rischio elevato di recidiva secondo la classificazione di Fletcher nel 2002.

Follow-up regolare per 2 anni con TAC addominale e pelvica ogni 3 mesi secondo le linee guida internazionali.

Giugno 2003: comparsa di parecchi noduli epatici alla TAC, inizio della terapia con imatinib a 400 mg/die.

Febbraio 2005: stabilità volumetrica dei noduli valutati tramite TAC addominale e pelvica ogni 3 mesi secondo i criteri RECIST; risposta tissutale secondo i criteri CHOI (23) con un aspetto pseudocistico delle lesioni epatiche residue.



Settembre 2005: comparsa di un nodulo tumorale alla periferia di un nodulo pre esistente a testimonianza di una resistenza parziale con acquisizione di una nuova mutazione nelle cellule del nodulo iniziale (24): aumento della dose di imatinib a 800 mg/die (10).



Dicembre 2005: la TAC addominale e pelvica mostra una diminuzione delle dimensioni del nodulo



Marzo 2006: comparsa di noduli peritoneali e aumento del numero e delle dimensioni delle metastasi epatiche che indicano una progressione generalizzata della malattia; inizio del trattamento con sunitinib alla dose di 50 mg/die per 4 settimane su 6.

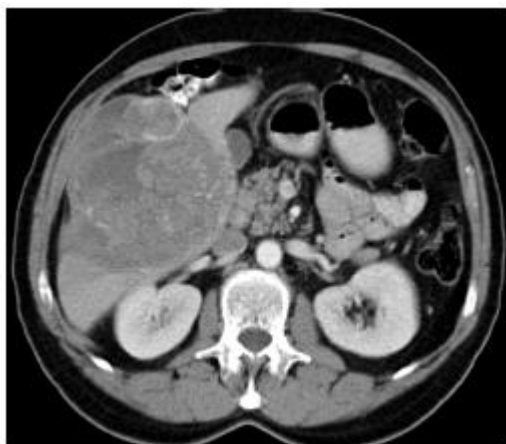
Maggio 2006: stabilità volumetrica delle lesioni e risposta tissutale con la comparsa di una zona di necrosi radiologicamente evidente (risposta secondo i criteri CHOI)



Marzo 2007: si mantiene la stabilità volumetrica delle lesioni, prosegue la risposta tissutale con un ingrandimento della zona di necrosi radiologicamente evidente.



Settembre 2007: aumento delle dimensioni e del numero delle metastasi epatiche per effetto di una nuova mutazione resistente ad imatinib e sunitinib. Ingresso del paziente in uno schema terapeutico sperimentale.



Exemple de l'hétérogénéité des GIST et évolutivité des mutations sous imatinib et sunitinib

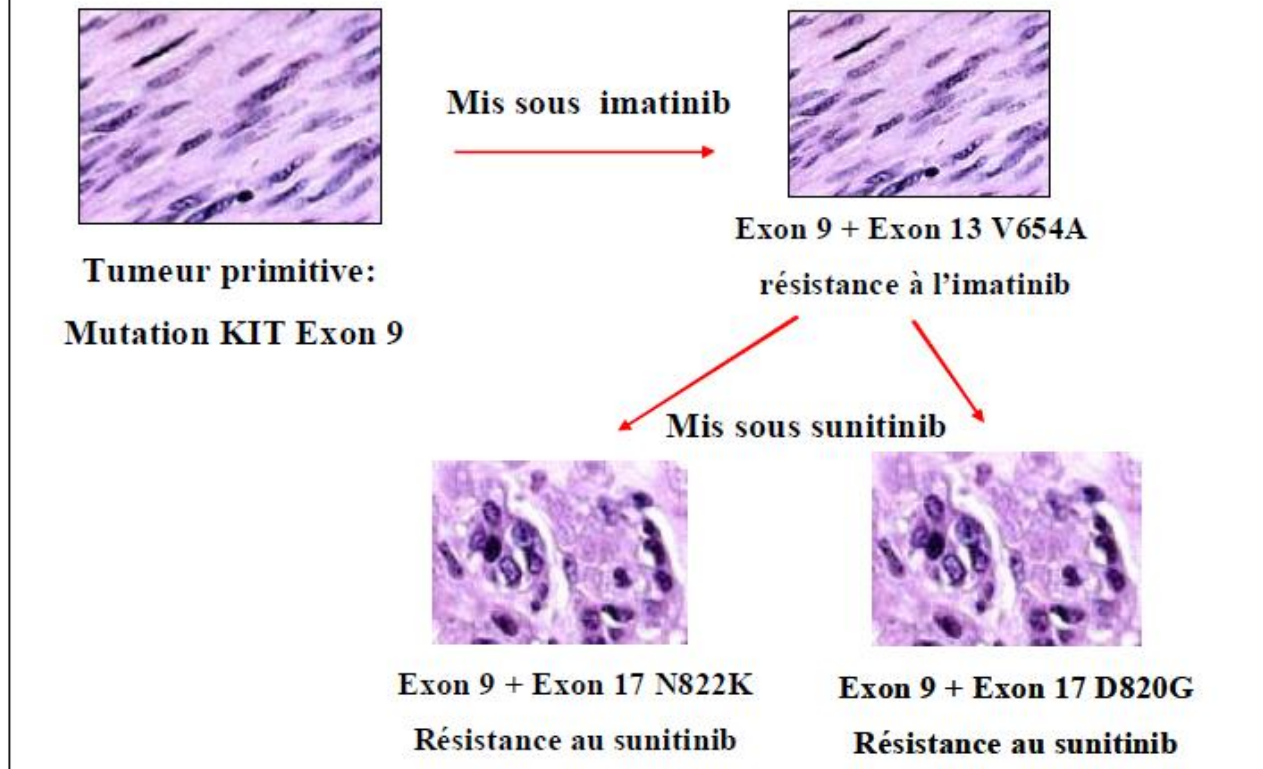


Figura VI. Esempio di acquisizione in vivo di nuove mutazioni in corso di trattamento con anti-tirosinocinasici (a partire da biopsie tumorali) in un paziente con GIST avanzato che aveva inizialmente una mutazione a livello dell'esone 9 di KIT):

- Acquisizione sotto imatinib di una nuova mutazione nell'esone 13 (valina 654A). Inefficacia del trattamento con imatinib a 800 mg/die
- Trattamento con sunitinib 50 mg/die 4 settimane su 6: risposta iniziale.
- Acquisizione in corso di trattamento con sunitinib di nuove mutazioni differenti (2 metastasi differenti) nell'esone 17 di KIT
- Il paziente diventa resistente ad imatinib ed anche a sunitinib
- Arruolamento del paziente in uno schema terapeutico sperimentale.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Kawanowa et al. *Hum Pathol* 37:1527-3, 2006
- 2) Agaimy et al. *Am J Surg Pathol* 32:867-73, 2008
- 3) Heinrich MC, Corless CL, Demetri GD, Blanke CD, von MM, Joensuu H et al. Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. *J.Clin.Oncol.* 2003; 21:4342-9.
- 4) Corless CL, Schroeder A, Griffith D, Town A, McGreevey L, Harrell P et al. PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors: frequency, spectrum and in vitro sensitivity to imatinib. *J Clin.Oncol.* 2005; 23:5357-64.
- 5) Heinrich MC, Corless CL, Blanke CD, Demetri GD, Joensuu H, Roberts PJ et al. Molecular correlates of imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors. *J.Clin.Oncol.* 2006; 24: 4764-74.
- 6) Monges G, Coindre J, Scoazec J, Bouvier A, Blay J, Loria-Kanza Y et al. Incidence of gastrointestinal stromal tumors (GISTs) in France: Results of the PROGIST survey conducted among pathologists. *ASCO Meeting Abstracts* 2007; 25:10047.
- 7) Rubin BP, Heinrich MC, Corless CL. Gastrointestinal stromal tumour. *Lancet* 2007; 369:1731-41.
- 8) Verweij J, Casali PG, Zalcberg J, Le Cesne A, Reichardt P, Blay JY et al. Progression-free survival in gastrointestinal stromal tumours with high-dose imatinib: randomised trial. *Lancet* 2004; 364:1127-34
- 9) Blanke CD, Rankin C, Demetri G et al.: Phase III dose-randomized, intergroup trial assessing imatinib mesylate at two dose levels in patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing the kit receptor tyrosine kinase: S0033. *J Clin Oncol* 26: 626-632, 2008
- 10) Zalcberg JR, Verweij J, Casali PG, et al. Outcome of patients with advanced gastro-intestinal stromal tumours crossing over to a daily imatinib dose of 800 mg after progression on 400 mg. *Eur J Cancer* 41(12):1751-1757, 2005
- 11) Debiec-Rychter M, Cools J, Dumez H, Sciot R, Stul M, Mentens N et al. Mechanisms of resistance to imatinib mesylate in gastrointestinal stromal tumors and activity of the PKC412 inhibitor against imatinib-resistant mutants. *Gastroenterology.* 2005; 128:270-9.
- 12) Debiec-Rychter M, Dumez H, Judson I, Wasag B, Verweij J, Brown M et al. Use of c-KIT/PDGFRα mutational analysis to predict the clinical response to imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumours entered on phase I and II studies of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *Eur.J Cancer* 2004; 40:689-95.
- 13) Van Glabbeke MM, Owzar K, Rankin C, Simes J, Crowley J, GIST Meta-analysis Group. (Comparison of two doses of imatinib for the treatment of unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors (GIST): A meta-analysis based on 1.640 patients. *ASCO Meeting Abstracts* 2007; 25:10004.

- 14) 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
- 15) Wardelmann E, Thomas N, Merkelbach-Bruse S, Pauls K, Speidel N, Buttner R et al. Acquired resistance to imatinib in gastrointestinal stromal tumours caused by multiple KIT mutations. *Lancet Oncol.* 2005; 6:249-51
- 16) Wardelmann E, Merkelbach-Bruse S, Pauls K et al. Polyclonal evolution of multiple secondary KIT mutations in gastrointestinal stromal tumors under treatment with imatinib mesylate. *Clin Cancer Res.* 2006; 12:1743-9
- 17) Tabone S, Theou N, Wozniak A et al. KIT overexpression and amplification in gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *Biochim.Biophys.Acta* 2005;1741:165-72
- 18) Bauer S, Duensing A, Demetri GD, Fletcher JA. KIT oncogenic signaling mechanisms in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor: PI3-kinase/AKT is a crucial survival pathway. *Oncogene* 2007;
- 19) Demetri GD, van Oosterom AT, Garrett CR et al. Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of imatinib: a randomised controlled trial. *Lancet* 2006; 368:1329-38.
- 20) Heinrich MC, Maki RG, Corless CL et al. Sunitinib (SU) response in imatinib-resistant (IM-R) GIST correlates with KIT and PDGFRA mutation status. *ASCO Meeting Abstracts* 2006; 24:9502
- 21) Heinrich MC, Corless CL, Liegl B et al. Mechanisms of sunitinib malate (SU) resistance in gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *ASCO Meeting Abstracts* 2007; 25:10006
- 22) DeMatteo RP et al. *Ann Surg Oncol.* 2007; 14:1-2.
- 23) Choi H, Charnsangavej C, Faria SC et al. Correlation of computed tomography and positron emission tomography in patients with metastatic GIST treated at a single institution with imatinib mesylate: proposal of new computed tomography response criteria. *J.Clin.Oncol.* 2007; 25:1753-9.
- 24) Shankar S, Vansonnenberg E, Desai J et al. Gastrointestinal stromal tumor: new nodule-within-a-mass pattern of recurrence after partial response to imatinib mesylate. *Radiology* 2005; 235:892-8.