

GROUPE HOSPITALIER STARTT

(SAINT-ANTOINE – ROTHSCHILD – TENON - TROUSSEAU)

SITE SAINT-ANTOINE 184, rue du Faubourg Saint-Antoine - 75571 PARIS Cedex 12

SERVICE DE PATHOLOGIE : Pr JF.Fléjou - Dr P.Cervera

GENETIQUE MOLECULAIRE : Dr O. Lascols - Dr P.Cervera

Secrétariat : 01 49 28 21 77

Secrétariat : 01 49 28 28 09

BON DE DEMANDE D'EXAMEN EN ONCOLOGIE MOLECULAIRE

PATIENT	<input type="checkbox"/> Monsieur	<input type="checkbox"/> Madame
Nom :	Née :	
Prénom :	Date de naissance : _ _ / _ _ / _ _ _ _	

PATHOLOGISTE DEMANDEUR

NOM :
ADRESSE :

EXAMEN DEMANDE :

EXPRESSION HERB2 (ERBB2)

CONTEXTE DE LA DEMANDE :
DATE DE LA DEMANDE : _ _ / _ _ / _ _ _ _

MATERIEL TRANSMIS : Double du compte-rendu et Lame HES à JOINDRE A LA DEMANDE

FIXATEUR UTILISE* : Formol Formol neutre AFA Autres (préciser): * PAS DE BOUIN

Type de prélèvement : Cytologie Biopsie Pièce opératoire

Site du prélèvement (organe) : Diagnostic histologique :

Référence Laboratoire : Date du prélèvement : _ _ / _ _ / _ _ _ _

Nature (coupes, blocs, lames...) :

PRECISER DANS LA ZONE SELECTIONNEE POUR ANALYSE

% de noyaux de cellules tumorales :

% superficie de plages acellulaires colloïde : nécrose : fibrose :

Pathologiste validant l'analyse morphologique :

CLINICIEN REFERENT (coordonnées précises) : ORDONNANCE A JOINDRE

Nom :
Adresse :

RECOMMANDATIONS DE TRANSPORT ET DELAI DE RENDU DE RESULTAT

Voir fiche pratique

FICHE D'INFORMATIONS PRATIQUES

GROUPE HOSPITALIER STARTT

(SAINT-ANTOINE – ROTHSCHILD – TENON - TROUSSEAU)

SITE SAINT-ANTOINE 184, rue du Faubourg Saint-Antoine - 75571 PARIS Cedex 12

SERVICE D'ANATOMIE ET DE CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES (Pr J-F Flejou)

Contact : Dr P.Cervera Tél : 01 49 28 20 18 Secrétariat : 01 49 28 21 70 Fax: 01 49 28 28 78

LABORATOIRE COMMUN DE BIOLOGIE ET GENETIQUE MOLECULAIRES (Dr O. Lascols)

Contact : Dr P.Cervera Secrétariat : 01 49 28 28 09 Fax : 01 49 28 22 06

Informations pratiques concernant la recherche et l'évaluation de la surexpression de la protéine HER2 par immunohistochimie (IHC) ou d'une amplification du gène HER2 par hybridation in situ fluorescente (FISH) dans les adénocarcinomes de l'estomac

Pour quels patients

Patients atteints d'adénocarcinome gastrique ou de la jonction œso-gastrique, localement avancé et/ou métastatique.

Des informations complémentaires sont disponibles sur la fiche médicale de l'APHP :

« Estomac – adénocarcinome – ERBB2 (HER2) / surexpression – immunohistochimie »

Dans quels buts

Identifier les patients atteints d'adénocarcinome de l'estomac ou de la jonction œso-gastrique éligibles pour un traitement par anticorps anti-HER2 (trastuzumab).

Seuls les patients dont la tumeur présente une surexpression de la protéine Her2 (IHC score 3+) ou une amplification du gène HER2 (rapport HER2/CEN17>2.2 ou un nombre de copies du gène HER2/noyau>6) en première ligne de traitement en situation métastatique, peuvent actuellement bénéficier d'un traitement par anticorps anti-HER2 (Autorisation européenne du 17 décembre 2009).

Sur quels prélèvements

Pièce opératoire ou biopsie de la tumeur primitive ou éventuellement d'une métastase fixée (préférentiellement formol, le liquide de Bouin est formellement exclu) et incluse en paraffine.

Un contrôle histologique préalable doit être fait avant envoi pour s'assurer de la cellularité de l'échantillon tumoral.

Où adresser sa demande

Votre demande sera traitée à l'hôpital Saint-Antoine dans le service d'anatomie et de cytologie pathologiques.

→ Le prélèvement sera réceptionné, validé et préparé pour l'analyse moléculaire :

Référent : **Dr Pascale Cervera** (01 49 28 20 18 ; pascale.cervera@sat.aphp.fr)

Laboratoire : Service d'anatomie et cytologie pathologiques

Hôpital Saint-Antoine
184, rue du faubourg Saint-Antoine
75571 Paris cedex 12
Réception : 01 49 28 48 47

Que faut-il envoyer

- le bloc tumoral le plus riche en cellules tumorales (par rapport aux cellules totales de l'échantillon)
- le compte rendu d'anatomo-pathologie correspondant au prélèvement
- le Bon de demande d'examen (téléchargeable sur le site) dûment rempli, comportant notamment les **coordonnées complètes des correspondants** pour leur assurer une bonne transmission des résultats.

Quel est le délai de rendu de l'analyse

A partir de la réception du prélèvement en anatomie pathologique, un délai maximum de **15 jours** est à prévoir. Le résultat est adressé aux pathologiste demandeur et clinicien(s) référent(s) qui seront mentionnés dans le Bon de demande d'examen. Le résultat est signé par le référent anatomo-pathologistes.

En cas de situation d'urgence, la mention **URGENT** sur le Bon de demande d'examen permet de réduire le délai de rendu au maximum.

Le bloc tumoral vous sera réadressé secondairement.

Quelles techniques utilisons-nous

- **En première intention** : détection immunohistochimique avec l'anticorps A0485 (Dako) et utilisation de témoins externes. Le score d'immunomarquage est évalué selon les recommandations publiées par Rüschoff et al. (2010), différentes selon qu'il s'agit d'une biopsie ou d'une pièce opératoire.
- **Dans un second temps** : si le score d'immunomarquage est évalué à 2+, une technique d'hybridation in situ est réalisée recherchant une amplification du gène HER2 comparée au centromère du chromosome 17 (Kit FISH pharmDx de Dako, utilisation d'un hybridizer avec un temps de digestion d'au moins 3 minutes). Les résultats sont donnés selon les recommandations de l'ASCO (Wolff, 2007).

FICHE MEDICALE

Pathologie	Analyse
Estomac / Adénocarcinome	ERBB2 (HER2) / surexpression - <i>ERBB2 (HER2)</i> / amplification

But : Accès à une thérapie ciblée

Identifier les patients atteints d'adénocarcinome de l'estomac ou de la jonction oesogastrique éligibles pour un traitement par anticorps anti-HER2 (trastuzumab).

Seuls les patients dont la tumeur présente une surexpression (IHC score 3+) ou une expression équivoque (IHC score 2+) avec amplification d'ERBB2 (ERBB2/CEN17 supérieure ou égale à 2; nombre de copies ERBB2/noyaux > 6) en première ligne de traitement en situation métastatique, peuvent actuellement bénéficier d'un traitement par anticorps anti-ERBB2 (Autorisation Européenne du 17 décembre 2009).

Indications

Analyse nécessaire : pour tous les adénocarcinomes de l'estomac ou de la jonction oesogastrique en situation métastatique.

Analyse recommandée : pour tous les adénocarcinomes de l'estomac ou de la jonction oesogastrique localement avancés (stade AJCC – TNM 7^{ème} édition 2010 ≥ IB) ou récidivants.

Analyse exploratoire : sans objet.

Recommandations générales concernant les prélevements

ATTENTION : ces informations restent générales et le demandeur d'analyses doit se référer aux « Bon de demande et Fiche d'informations pratiques » avant d'envoyer son échantillon.

- **Nature des prélevements tumoraux :**
 - pièce opératoire ou biopsie de la tumeur primitive ou d'une métastase.
- **Type du prélevement :**
 - fixé en formol tamponné de préférence, pendant moins de 48h (éventuellement en AFA)
 - convient pour l'IHC, la FISH, la CISH et les études moléculaires sur l'ADN.
 - la fixation en AFA doit être précisée (pour adapter les techniques).
- **Analyses avant envoi :**
 - Contrôle histologique préalable avant envoi pour s'assurer de la cellularité de l'échantillon tumoral.

Principales techniques utilisées et validées

ATTENTION : ces informations restent générales et chaque site d'analyse peut utiliser des techniques qui lui sont spécifiques (cf Fiche d'informations pratiques).

1. **En première intention** : détection immunohistochimique avec anticorps validés (herceptest ou CB11 ou 4B5). Résultats donnés selon les recommandations de l'ASCO pour le cancer du sein (Wolff 2007), modifiées pour l'estomac (Hofman 2008) :

Sur pièce opératoire :

- a. **Score 3+** considéré comme positif : >10% de cellules tumorales avec marquage membranaire intense, en cadre (complet) ou baso-latéral,
- b. **Score 2+** considéré comme équivoque : >10 % de cellules tumorales avec marquage membranaire modéré, en cadre (complet) ou baso-latéral,
- c. **Score 1+** considéré comme négatif : >10 % de cellules tumorales avec marquage membranaire faible (généralement partiel),
- d. **Score 0** considéré comme négatif : absence de marquage, ou marquage de < 10% de cellules tumorales.

Sur biopsie :

- sont considérés comme positifs 3+ tous les cas avec des groupes de cellules cohésives ayant un marquage membranaire intense, en cadre (complet) ou baso-latéral quel que soit le pourcentage de cellules tumorales marquées.
- sont considérés comme positifs 2+ tous les cas avec des groupes de cellules cohésives avec marquage membranaire modéré, en cadre (complet) ou baso-latéral, quel que soit le pourcentage de cellules tumorales marquées.

2. **En cas de résultat équivoque** de l'IHC (score 2+), une seconde technique est nécessaire :

Il s'agit habituellement d'une technique d'hybridation *in situ* recherchant l'amplification du gène ERBB2 sur le chromosome 17. La FISH est une hybridation *in situ* fluorescente, la CISH et la SISH sont des hybridations *in situ* chromogéniques (Papouchado 2010). Résultats donnés selon les recommandations de l'ASCO (Wolff 2007) :

- i. **cas amplifié** : > 6 copies de ERBB2 /noyau (en l'absence de sonde centromérique du chr 17) OU un rapport nombre de copies ERBB2 / nombre de copies du chr 17 (sonde centromérique sur chr 17) > 2,2.
- ii. **cas non amplifié** : < 4 copies de ERBB2 /noyau OU un rapport ERBB2 / CEP 17 < 1,8
- iii. **cas demeurant équivoque** : copies ERBB2>4 mais <6 ou ERBB2/CEP17>1,8 mais <2,2

Délai moyen de rendu de résultat

7 à 14 jours

Informations complémentaires

Contexte scientifique :

Le gène *ERBB2* (*HER2*) est situé sur le bras long du chromosome 17 et code pour un récepteur membranaire de la famille du récepteur de l'EGF ayant une activité tyrosine kinase lorsqu'il se dimérisé. Il active alors des cascades de phosphorylations intracellulaires,

induisant la prolifération, la survie, et la mobilité cellulaire et stimulant l'angiogenèse. La protéine ERBB2 est surexprimée dans 15 à 20% des cancers du sein, presque toujours à cause d'une amplification du gène *ERBB2* (multiplication du nombre de copies de ce gène). Elle est également surexprimée dans environ 15 à 20% des cancers de l'estomac, plus souvent dans les cancers bien différenciés de type « intestinal » de Lauren, et dans les cancers de la jonction oeso-gastrique. Il faut noter que l'expression en immunohistochimie est souvent hétérogène dans les cancers de l'estomac, et qu'elle peut être baso-latérale, la membrane apicale restant négative dans les cancers différenciés. La corrélation entre la surexpression de *ERBB2* au niveau membranaire et l'amplification au niveau génomique est excellente dans le cancer du sein, mais elle est moins bien établie dans le cancer de l'estomac. Le bénéfice d'un traitement par Trastuzumab associé à la chimiothérapie a été montré dans les adénocarcinomes de l'estomac et de la jonction oeso-gastrique localement avancés, récidivants, ou métastatiques, dans un essai de phase III (Van Cutsem, ASCO 2009). Ce traitement dispose donc d'une autorisation européenne dans l'indication métastatique en première ligne, pour les cancers surexprimant la protéine *ERBB2* (3+ en immunohistochimie), et pour les tumeurs équivoques en immunohistochimie (2+) et présentant une amplification du gène *ERBB2*.

Références (sur les indications et les techniques)

1. Hofmann M et al.
Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study.
Histopathology. 2008;52:797-805.
2. Papouchado BG et al.
Silver in situ hybridization (SISH) for determination of HER2 gene status in breast carcinoma: comparison with FISH and assessment of interobserver reproducibility.
Am J Surg Pathol. 2010 ;34(6):767-76.
3. Van Cutsem E, et al.
Efficacy results from the ToGA trial: A phase III study of trastuzumab added to standard chemotherapy (CT) in first-line human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced gastric cancer (GC).
ASCO 2009.
4. Wolff AC et al.
American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer.
J Clin Oncol. 2007;25(1):118-45.

Auteurs

- | | |
|--|----------------|
| • Rédacteurs V1 : J-F Fléjou, K Leroy, P. Laurent-Puig | le 21/07/2010 |
| • Relecteurs : S. Chaussade, JF Fléjou, C. Guettier | le 10/08/2010 |
| • Validation Comité de Coordination | le 06/10 /2010 |