



RÉSEAU DE  
CANCÉROLOGIE  
MIDI-PYRÉNÉES

Référentiel régional

# Biologie moléculaire

Version 4.2

Décembre 2017

## Table des matières

<b>Chapitre 1 - Introduction</b>	<b>6</b>
1.1. Présentation du référentiel	7
1.2. Groupe de travail biologie moléculaire – <b>Actualisation 2017</b>	8
<b>Chapitre 2 - Généralités sur les méthodes d'analyse des anomalies génomiques</b>	<b>9</b>
2.1. Les anomalies de structures chromosomiques : les translocations	10
2.1.1. Méthodes par extraction des acides nucléiques	10
2.1.2. Méthodes in situ	10
2.2. Amplification et délétion génique	11
2.2.1. Méthodes par extraction des acides nucléiques	11
2.2.2. Méthodes in situ	11
2.3. Les anomalies des gènes : les mutations	12
2.3.1. Méthodes par extraction des acides nucléiques	12
2.3.2. Méthodes in situ	12
2.4. Les nouvelles méthodes d'analyse	12
2.4.1. L'analyse par séquençage haut débit	12
2.4.2. L'analyse par ADN tumoral circulant ou biopsie liquide	13
<b>Chapitre 3 - Financement - <b>Nouveauté 2017</b></b>	<b>15</b>
<b>Chapitre 4 - Prescription en pratique</b>	<b>17</b>
<b>Chapitre 5 - Essais de thérapie ciblée en lien avec la plateforme de génétique des tumeurs</b>	<b>20</b>
5.1. La RCP moléculaire- <b>Nouveauté 2017</b>	21
5.2. Programme de détection prospective des biomarqueurs émergents	21
5.3. Programme AcSé - <b>Actualisation 2017</b>	21
<b>Chapitre 6 - Gynécologie</b>	<b>24</b>
6.1. Infections HPV	25
6.2. Cancer de l'endomètre et syndrome de lynch	26
6.2.1. Cancer de l'endomètre et syndrome de Lynch : test MSI /méthylation promoteur MLH	26
6.2.2. Tableau de synthèse du test	28
6.3. Sarcome du stroma endométrial de bas grade	29
6.4. Carcinome de l'ovaire, de la trompe, du péritoine, de haut grade	30
6.5. Tumeur de la granulosa et mutation FOXL2	31
<b>Chapitre 7 - Hématologie</b>	<b>32</b>
7.1. Syndromes myéloprolifératifs	33
7.1.1. Leucémie myéloïde chronique (LMC)	33
7.1.2. La polyglobulie primitive (PV) ou maladie de Vaquez (MV)	35
7.1.3. La Thrombocytémie Essentielle (TE)	36
7.1.4. La myélofibrose primitive (MF) ou splénomégalie myéloïde chronique	37

<b>7.2. Leucémies aiguës</b>	<b>37</b>
7.2.1. Leucémies aiguës myéloïdes (LAM)	37
7.2.2. Leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL)	39
<b>7.3. Syndromes lymphoprolifératifs</b>	<b>40</b>
7.3.1. La leucémie lymphoïde chronique (LLC)	40
7.3.1. Les lymphomes - <b>Actualisation 2017</b>	40
7.3.2. Le myélome multiple (MM)	49
<b>Chapitre 8 - Mélanome</b>	<b>50</b>
<b>8.1. Mélanome métastatique</b>	<b>51</b>
8.1.1. Thérapie ciblée des mélanomes métastatiques : génotypages BRAF/NRAS/KIT	51
8.1.2. Tableaux de synthèse des tests	53
<b>Chapitre 9 - Neurologie</b>	<b>56</b>
<b>9.1. Génotypage utile à visée thérapeutique, diagnostique et pronostique</b>	<b>57</b>
9.1.1. La recherche de la co-délétion 1p19q à visée thérapeutique	57
9.1.2. La recherche de la co-délétion 1p19q à visée diagnostique et pronostique	57
9.1.3. Génotypage utile à visée pronostique : méthylation du gène MGMT	59
9.1.4. Autres examens utiles	60
<b>Chapitre 10 - orl</b>	<b>61</b>
<b>10.1. Carcinomes épidermoïdes de l'oropharynx HPV+</b>	<b>62</b>
10.1.1. Diagnostic de la tumeur primitive	62
10.1.2. Métastases ganglionnaires cervicales de carcinome épidermoïde sans primitif identifié	62
<b>10.2. Carcinomes nasopharyngés (associés à EBV)</b>	<b>62</b>
10.2.1. Diagnostic	62
10.2.2. Métastases ganglionnaires cervicales de carcinome sans primitif identifié	63
<b>10.3. Carcinomes naso-sinusiens</b>	<b>63</b>
10.3.1. Nouveautés de la classification OMS 2017	63
10.3.2. Carcinome naso-sinusal adénoïde kystique HPV+	63
10.3.3. Carcinome de la ligne médiane NUT+	64
10.3.4. Carcinome INI-1 déficient	64
10.3.5. Adénocarcinome primitif mimant un adénocarcinome rénal	64
<b>10.4. Tumeurs des tissus mous : problèmes diagnostiques dans la localisation tête et cou</b>	<b>64</b>
10.4.1. Variante adamantinoïde du sarcome d'Ewing	64
10.4.2. Glomangiopericytomes	65
<b>10.5. Tumeurs des glandes salivaires</b>	<b>65</b>
<b>10.6. Tableaux de synthèse des tests</b>	<b>67</b>
10.6.1. Amplification EBV	67
10.6.2. Détection HPV	68
10.6.3. Réarrangement du gène de la protéine NUT	69
10.6.4. Recherche du réarrangement du gène EWSR1	70
<b>10.7. Conclusion</b>	<b>70</b>
<b>Chapitre 11 - Pathologie digestive</b>	<b>71</b>

<b>11.1.</b>	<b>Cancer colorectal</b>	<b>72</b>
11.1.1.	Diagnostic du syndrome de Lynch : test MSI /génotypage BRAF/méthylation promoteur MLH1	72
11.1.2.	Traitement adjuvant des cancers colorectaux de stade II : test MSI	74
11.1.3.	Thérapie ciblée des cancers colorectaux métastatiques : génotypage RAS/BRAF	75
11.1.4.	Programme INCa de détection prospective des biomarqueurs émergents	76
11.1.5.	Programme AcSé	76
11.1.6.	Polypose	76
11.1.7.	Tableaux de synthèse des tests	77
<b>11.2.</b>	<b>Gist</b>	<b>82</b>
11.2.1	Génotypage KIT /PDGFRA à visée diagnostique	82
11.2.2	Génotypage KIT/ PDGFRA et traitement par imatinib	82
11.2.3	Tableaux de synthèse des tests	83
<b>11.3.</b>	<b>Cancers gastriques</b>	<b>84</b>
11.3.1	A visée thérapeutique	84
11.3.2	Programme AcSé	85
11.3.3	Tableau des tests	86
<b>11.4.</b>	<b>Cancer œsophage, canal anal</b>	<b>87</b>
11.4.1	Programme AcSé	87
<b>11.5.</b>	<b>Cancer du foie</b>	<b>87</b>
11.5.1	Cholangiocarcinome et le programme AcSé	87
11.5.2	Cancer du foie et le programme AcSé	88
<b>11.6.</b>	<b>Tumeur bénigne du foie</b>	<b>89</b>
11.6.1	Génotypes utiles à la classification des adénomes hépatocellulaires	89
<b>11.7.</b>	<b>Cancer du pancréas</b>	<b>89</b>
<b>11.8.</b>	<b>Tumeurs endocrines</b>	<b>89</b>
<b>11.9.</b>	<b>Lymphomes digestifs</b>	<b>89</b>
<b>11.10.</b>	<b>Sarcomes (Autres que Gist)</b>	<b>89</b>
<b>Chapitre 12 - Pneumologie</b>		<b>90</b>
<b>12.1.</b>	<b>A visée thérapeutique</b>	<b>91</b>
12.1.1	Prescription d'inhibiteurs de tyrosine kinase d'EGFR	91
12.1.2	Prescription d'inhibiteurs de TKI en seconde ligne	91
<b>12.2.</b>	<b>Prescription d'inhibiteurs de ALK et MET</b>	<b>93</b>
<b>12.3.</b>	<b>A visée diagnostique et pronostique</b>	<b>96</b>
<b>12.4.</b>	<b>Les programmes en cours</b>	<b>96</b>
12.4.1	Programme de détection prospective des biomarqueurs émergents dans le cancer du poumon	96
12.4.2	Programme AcSé	99
<b>Chapitre 13 - Sarcome - Actualisation 2017</b>		<b>101</b>
<b>13.1.</b>	<b>Tableaux de synthèse des tests réalisés sur la plateforme de génétique des cancers de Midi-Pyrénées</b>	<b>102</b>
13.1.1	Réarrangement du gène SYT	102
13.1.2	Réarrangement du gène EWSR1 (EWS)	103

13.1.3	Réarrangement du gène DDIT3	105
13.1.4	Réarrangement du gène ALK	106
13.1.5	Réarrangement du gène TFE3	107
13.1.6	Réarrangement du gène ETV6	108
13.1.7	Réarrangement du gène FUS	109
13.1.8	Réarrangement du gène FOXO1A	110
13.1.9	Amplification du gène MDM2	111
13.1.10	Translocation t(17 ;22)(q22 ; q23)	112
13.1.11	Amplification de c-myc	113
13.1.12	Sarcomes du stroma endométrial	114
13.1.13	Mutation du gène de la bêta-caténine (CTNNB1)	115
13.1.14	Génotypage KIT / PDGFRA	116
<b>13.2.</b>	<b>Tableaux de synthèse des tests réalisés à l'Institut Bergonié</b>	<b>117</b>
<b>Chapitre 14 - Sénologie</b>		<b>120</b>
<b>14.1.</b>	<b>A visée thérapeutique</b>	<b>121</b>
14.1.1	Prescription de thérapie ciblée anti <i>HER2</i>	121
<b>14.2.</b>	<b>Génotypage utile au diagnostic</b>	<b>123</b>
<b>14.3.</b>	<b>Génotypage utile au traitement</b>	<b>124</b>
<b>Chapitre 15 - Thyroïde</b>		<b>125</b>
<b>15.1.</b>	<b>Génotypage utile au diagnostic et au traitement</b>	<b>126</b>
<b>15.2.</b>	<b>Programme AcSé</b>	<b>127</b>
15.2.1	Translocation de ALK	127
15.2.2	Mutation de ALK	127
15.2.3	Mutation de MET	127
<b>Chapitre 16 - Urologie</b>		<b>128</b>
<b>16.1.</b>	<b>Cancers du rein</b>	<b>129</b>
<b>16.2.</b>	<b>Cancers de la vessie</b>	<b>130</b>
<b>16.3.</b>	<b>Carcinomes urothéliaux des voies excrétrices</b>	<b>130</b>
<b>16.4.</b>	<b>Cancers de prostate</b>	<b>130</b>
<b>Chapitre 17 - Annexes</b>		<b>131</b>
<b>17.1.</b>	<b>Tableau récapitulatif des examens de biologie moléculaire</b>	<b>132</b>
<b>17.2.</b>	<b>Charte graphique des arbres décisionnels</b>	<b>138</b>
<b>17.3.</b>	<b>Tables des illustrations</b>	<b>139</b>
17.3.1	Arbres décisionnels	139
17.3.2	Tableaux	139
17.3.3	Figures	141

# Chapitre 1 - INTRODUCTION

*Dernière actualisation : Novembre 2016*

## 1.1. PRÉSENTATION DU RÉFÉRENTIEL



« Conforter l'accès aux tests moléculaires. » - Objectif 6 - Action 6.2

Le référentiel de biologie moléculaire Oncomip recense l'ensemble des tests moléculaires disponibles sur la plateforme de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées.

Ce document a été élaboré à partir des références bibliographiques et des recommandations les plus récentes par un groupe de travail pluridisciplinaire (composition indiquée Chapitre 12– Groupe de travail de biologie moléculaire).

Vous trouverez dans ce référentiel :

- ▶ Un chapitre introductif décrivant les différentes anomalies génomiques et les méthodes d'analyses disponibles en Midi-Pyrénées
- ▶ Différents chapitres qui précisent, pour 11 entités anatomo-pathologiques, les indications de tests moléculaires selon leur caractère indispensable ou utile à la prise en charge du patient d'un point de vue diagnostique, pronostique et/ou thérapeutique.

Chaque test est présenté en fin de chapitre sous forme d'un tableau de synthèse qui indique :

- ▶ L'anomalie moléculaire recherchée
- ▶ Le but
- ▶ Les indications
- ▶ La technique
- ▶ Les modalités de préparation du matériel tumoral
- ▶ Le ou les responsables de l'analyse
- ▶ Le délai de réponse

Ce référentiel est utilisable par l'ensemble des professionnels souhaitant prescrire des examens de biologie moléculaire. Il constitue également un document de référence pour les pathologistes.

## 1.2. GROUPE DE TRAVAIL BIOLOGIE MOLÉCULAIRE – ACTUALISATION 2017

Le groupe de travail biologie moléculaire est composé des bio-pathologistes de la plateforme de génétique des tumeurs de Midi-Pyrénées et de professionnels représentatifs de toutes les disciplines médicales et des différentes institutions publiques et privées de la région.

Il est structuré en 11 comités mis en place par pathologie. Pour chacun des comités, un secrétaire (identifié dans le tableau ci-dessous en gras, italique) est en charge de la coordination des travaux. Les animateurs du groupe de travail pilotent l'élaboration du référentiel. Toute proposition de modification peut leur être adressée par mail (cf. Tableau 1).

<b>ANIMATEURS</b>	Anne Gomez-Brouchet	<a href="mailto:Brouchet.Anne@iuct-oncopole.fr">Brouchet.Anne@iuct-oncopole.fr</a>
	Paul Caverivière	<a href="mailto:Paul.caveriviere@wanadoo.fr">Paul.caveriviere@wanadoo.fr</a>
	Hélène Hounieu-Ritoux	<a href="mailto:h.hounieu@ch-montauban.fr">h.hounieu@ch-montauban.fr</a>
	Janick Selves	<a href="mailto:selves.j@chu-toulouse.fr">selves.j@chu-toulouse.fr</a>
	Pascal Wuithier	<a href="mailto:65acp@wanadoo.fr">65acp@wanadoo.fr</a>
<b>DIGESTIF</b>	Yann Bergé, Nicolas Carrère, Corinne Couteau, Jean-Pierre Duffas, Rosine Guimbaud, Guillaume Portier, Frédérique Savagner, <b>Janick Selves</b>	
<b>HEMATOLOGIE</b>	<b>Pierre Bories</b> , Jill Corre, Eric Delabesse, Véronique De Mas, Camille Laurent, Laurence Lamant, Daniel Schlaifer	
<b>GYNECOLOGIE</b>	Monique Courtade, Martine Delannes, Gwenaél Ferron, Laurence Gladieff, Pierre Leguevaque, <b>Eliane Mery</b>	
<b>MELANOME</b>	Christine Chevreau, Ignacio Garrido, <b>Laurence Lamant</b> , Frédéric Lauwers, Nicolas Meyer, Rolland Viraben	
<b>NEUROLOGIE</b>	Alexandra Benouaich-Amiel, Vincent Lubrano, Elisabeth Moyal, Henri Roché, Jean Sabatier, <b>Emmanuelle Uro-Coste</b>	
<b>ORL</b>	<b>Béatrice Barres</b> , Jean Pierre Delord, Michel Rives, Jérôme Sarini, Victor Sarradin, <b>Emmanuelle Uro-Coste</b> , Sébastien Vergez	
<b>PNEUMOLOGIE</b>	Laurence Bigay-Gamé, Laurent Brouchet, Julien Mazières, <b>Isabelle Rouquette</b>	
<b>SARCOMES</b>	Paul Bonneville, <b>Anne Gomez Brouchet</b> , Christine Chevreau, <b>Sophie Le Guellec</b> , Philippe Rochaix, Jérôme Salles de Gauzy, Thibault Valentin	
<b>SENOLOGIE</b>	Florence Dalenc, <b>Raphaëlle Duprez-Paumier</b> , <b>Camille Franchet</b> , Eva Jouve, Anne Pradines, Henri Roché, Charlotte Vaysse	
<b>THYROÏDE</b>	<b>Isabelle Rouquette</b> , Philippe Caron, Laetitia Lacoste-Collin, Anne Decotte, Solange Grunenwald, Claire Renaud, Jérôme Sarini, Elie Serrano, Frédérique Savagner, Slimane Zerdoud	
<b>UROLOGIE</b>	Christine Chevreau, <b>Marie-Laure Quintyn-Ranty</b> , Loïc Mourey, Damien Poussel	
<b>Groupe transversal</b>	Franck Burki, Etienne Chatelut, Etienne Suc, Marie-Hélène Gaspard, Véronique Fabre	

Tableau 1 : membres du groupe de travail



## Chapitre 2 - GÉNÉRALITÉS SUR LES MÉTHODES D'ANALYSE DES ANOMALIES GÉNOMIQUES

---

*Dernière actualisation : Novembre 2016*

Les modifications génomiques responsables de la carcinogenèse peuvent intéresser soit des portions entières de chromosome (translocation, inversion, délétion, amplification) soit un gène (par exemple les mutations ou les méthylations de promoteurs).

Leur mise en évidence fait appel à des techniques:

- ▶ De biologie moléculaire nécessitant l'extraction d'ADN ou d'ARN du tissu tumoral
- ▶ D'hybridation *in situ*

Ce chapitre décrit les anomalies génomiques et les méthodes d'analyses disponibles sur la plateforme de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées.

---

## 2.1. LES ANOMALIES DE STRUCTURES CHROMOSOMIQUES : LES TRANSLOCATIONS

---

La mise bout à bout de deux fragments de chromosomes différents conduit à la formation d'un gène anormal dont le début correspond à une partie du gène porté par le premier chromosome et la fin correspond à une partie du gène porté par le second chromosome. On parle de gène de fusion. Parfois ces gènes de fusion codent pour une protéine hybride ayant une activité oncogène.

### 2.1.1. Méthodes par extraction des acides nucléiques

Ces anomalies peuvent être étudiées **après extraction des ARN messagers par recherche de transcrits de fusion** (ARNm anormaux codés par le gène de fusion). On réalise une RT-PCR (transformation des ARNm en ADNc puis amplification par PCR classique) dont une des deux amorces est située sur le premier gène et la seconde amorce est située sur le second gène. Dans les conditions normales, il n'y a pas d'amplification puisque les deux amorces ne s'hybrident pas sur le même fragment d'ADNc (les deux gènes codent des ARNm différents). En cas de translocation, les deux amorces s'hybrideront sur le même ADNc et il y aura amplification.

La fixation au formol permet en théorie l'extraction d'une petite fraction des ARNm et la sensibilité de la technique permet de détecter les transcrits de fusion. Néanmoins, la sous ou la sur fixation peuvent rendre impossible l'extraction des ARNm.

**Ici encore, la meilleure préservation tissulaire est incontestablement la congélation qui permet l'obtention d'acides nucléiques de très grande taille et de très bonne qualité.**

### 2.1.2. Méthodes *in situ*

Ces anomalies peuvent également être étudiées par technique *in situ* de type FISH. La technique FISH va consister en l'utilisation de deux sondes chromosomiques fluorescentes de couleur différente, par exemple l'une rouge l'autre verte. Elles reconnaissent des régions chromosomiques placées de part et d'autre des points de cassure et permettent la mise en évidence sur coupes tissulaires de la cassure du chromosome et de la fusion des deux chromosomes anormaux.

## 2.2. AMPLIFICATION ET DÉLÉTION GÉNIQUE

Une cellule normale comporte deux exemplaires de chaque chromosome et donc deux exemplaires de chaque gène (en dehors des gènes des chromosomes X et Y chez l'homme). On observe dans certains types tumoraux **des anomalies de nombre de copie de certains gènes**.

Ceci peut correspondre soit à **une amplification** (augmentation du nombre de copies du gène sur un chromosome), soit à **une délétion** (perte d'une partie d'un chromosome) soit à **une aneuploïdie** (anomalie du nombre de chromosomes).

### 2.2.1. Méthodes par extraction des acides nucléiques

Des **techniques de Q-PCR** peuvent être utilisées : elles consistent à extraire l'ADN des cellules et à quantifier par une technique de PCR quantitative (Q-PCR) le nombre de copies du gène d'intérêt (par exemple MDM2) par rapport à un gène de référence. Cette technique, très précise, permet, d'apprécier la quantité de copies du gène présente initialement dans l'ADN. Cette technique présente l'inconvénient de nécessiter l'extraction d'ADN, et de mélanger cellules tumorales et cellules réactionnelles, ce qui peut fausser les mesures.

### 2.2.2. Méthodes in situ

Ces anomalies peuvent être mises en évidence par des **techniques d'hybridation in situ de type FISH, CISH voire SISH** ; il suffit de posséder une sonde marquée se fixant dans la région chromosomique du gène d'intérêt ; il doit normalement y avoir deux copies du gène dans le noyau de la cellule ; si on en observe plus de deux ou moins de deux, c'est qu'il y a un nombre anormal de copies du gène. La différence entre amplification/délétion et aneuploïdie peut être mise en évidence en utilisant une seconde sonde hybridant le centromère du chromosome : on peut ainsi étudier le nombre de copies du gène par rapport au nombre de copies du chromosome d'intérêt.

Ces amplifications sont particulièrement utiles dans le diagnostic des liposarcomes bien différenciés pour lesquels il existe une amplification des gènes MDM2 et CDK4. Cette dernière s'accompagne d'une surexpression de la protéine dans les formes dédifférenciées que l'on détecte par immunohistochimie. Cependant, cette surexpression protéique est fréquemment faible voire absente dans les liposarcomes bien différenciés, et seules les techniques de FISH permettent d'affirmer l'amplification du gène et donc le diagnostic.

Pour les anomalies de type amplification/délétion, les techniques FISH semblent à l'heure actuelle de maniement plus aisé et sont réalisables sur tout type de tissu à l'exception de ceux fixés avec de l'acide picrique, mais préférentiellement sur tissu fixé en formol.

## 2.3. LES ANOMALIES DES GÈNES : LES MUTATIONS

Ce sont des anomalies de la séquence génomique portant sur une ou plusieurs bases d'un gène.

### 2.3.1. Méthodes par extraction des acides nucléiques

Pour certains gènes, comme le gène KRAS, les mutations intéressent toujours les mêmes bases « mutation ciblée ». L'étude de la séquence génomique porte sur cette petite portion du gène et il n'est pas nécessaire d'obtenir des ARN ou des ADN de très grande taille. Pour d'autres gènes (C-KIT, EGF-R, P53...), les mutations peuvent se situer à de multiples endroits dans le gène. L'étude de la séquence génomique porte alors sur des portions étendues du gène et nécessite une meilleure qualité des acides nucléiques.

La fixation au formol permet en théorie l'extraction de fragments de 200 à 300 paires de bases, permettant la recherche de mutation à partir de tissus fixés et inclus en paraffine. Néanmoins, la taille des fragments extraits est parfois beaucoup plus petite, surtout en cas de sous ou de sur fixation. Enfin, le formol peut gêner lors des étapes de PCR et être responsable d'erreurs de séquençage.

Une fixation dans le formol, dans de bonnes conditions, permet la recherche de la majorité des mutations ciblées. Pour la recherche des autres mutations, la meilleure préservation tissulaire est incontestablement la congélation qui permet l'obtention d'acides nucléiques de très grande taille et de très bonne qualité.

### 2.3.2. Méthodes in situ

Il n'existe pas à l'heure actuelle de techniques in situ fiables permettant d'étudier les mutations des gènes.

## 2.4. LES NOUVELLES MÉTHODES D'ANALYSE

### 2.4.1. L'analyse par séquençage haut débit

Le Next-Generation Sequencing (NGS) permet une caractérisation moléculaire des tumeurs en détectant et identifiant simultanément des mutations somatiques susceptibles de bénéficier d'indications thérapeutiques spécifiques ou une combinaison de traitements ciblés. Un groupe d'experts coordonné par l'INCa a défini des panels de gènes dédiés au diagnostic, au pronostic et/ou à la thérapeutique<sup>1</sup>. 2 panels sont utilisés au sein de la plateforme régionale de génétique moléculaire des cancers : le panel "tumeurs solides" constitué de 16 gènes (comprenant l'ensemble des mutations délétions et insertions d'intérêt en particulier des gènes EGFR, KRAS, BRAF, NRAS, PI3KCA, ALK, MET et HER2) et un panel "lymphomes et SMP" constitué de 18 gènes.

L'utilisation en routine du séquençage à haut débit sur des tissus diagnostiques inclus en paraffine est effective au sein de la plateforme de génétique moléculaire depuis fin octobre 2016. La technologie utilisée MiqSeq Illumina, permettant en 2 jours de générer l'analyse du panel entier, se décompose en 3 étapes techniques principales et une étape conséquente d'analyse et d'interprétation des données engendrées :

- ▶ la qualification des échantillons et normalisation
- ▶ la préparation des bibliothèques et sa purification
- ▶ le séquençage

Dans ce contexte, le recueil de matériel tumoral de bonne qualité, avec préservation de la morphologie et de l'ADN reste une étape primordiale dans la prise en charge optimale du patient.

<sup>1</sup> [Listes de gènes minimales à analyser dans le cadre d'un usage à visée diagnostique du NGS \(INCa - février 2016\)](#).

Le compte-rendu de génétique moléculaire pour la recherche de mutations somatiques dans les tumeurs solides se réfère aux recommandations par l'INCa publiées en septembre 2016<sup>2</sup>. Il comporte les éléments d'identification du patient, du prélèvement et des données relatives à la prescription, les renseignements anatomo-pathologiques ainsi que les résultats de l'analyse en 3 classes différentes selon que l'impact clinique est connu, que le résultat doit être discuté lors d'une RCP moléculaire et que la valeur prédictive est inconnue à ce jour.

Cette technologie en analysant plusieurs gènes en parallèle, peut avoir pour conséquence l'identification de variant dont la valeur prédictive est inconnue. La mise en place de RCP moléculaire en région peut permettre l'interprétation de ces données moléculaires, de proposer les meilleurs choix thérapeutiques pour les patients et d'étudier leurs impacts sur la prise en charge dans le cadre de la médecine de précision.

#### 2.4.2. L'analyse par ADN tumoral circulant ou biopsie liquide

L'analyse de l'ADN d'origine tumoral qui circule dans le sang de patients porteurs d'une maladie cancéreuse est un outil nouveau dans la prise en charge des tumeurs solides. Il permet, à partir d'un simple prélèvement sanguin, de déterminer le statut mutationnel, de déceler l'existence de mutations prédictives du succès ou de l'échec de thérapies ciblées anticancéreuses, d'identifier et de suivre un mécanisme de résistance et d'anticiper une progression tumorale.

Cette nouvelle méthode est aujourd'hui réservée à la recherche des mutations EGFR dans les cancers du poumon et seulement si l'on ne peut effectuer la recherche sur tissu (matériel épuisé ou biopsie impossible).

- ▶ La primo détermination du statut mutationnel d'EGFR est l'indication la moins fréquente, réservée aux cas où le tissu qui a servi au diagnostic est épuisé.
- ▶ L'indication la plus répandue est la recherche de la mutation de résistance T790M lors de la reprise évolutive d'un patient sous ITK de l'EGFR : la recherche de mutation est faite en première intention sur l'ADN circulant et en cas de résultat négatif on re-biopsie le patient car la sensibilité maximale de la recherche sur ADN circulant se situe autour de 70%, donc inférieure à celle de la recherche sur tissu. (cf. Figure 1 : Stratégie de détection des mutations de résistance à la rechute)

Cette nouvelle analyse devrait permettre de manière non invasive outre la détermination du statut mutationnel, d'envisager un suivi moléculaire de la réponse au traitement, d'anticiper une progression tumorale au diagnostic et/ou à la rechute.

<sup>2</sup> Recommandations de l'INCa Sept 2016 - [MODÈLE DE COMPTE RENDU DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE POUR LA RECHERCHE DE MUTATIONS SOMATIQUES DANS LES TUMEURS SOLIDES](#)

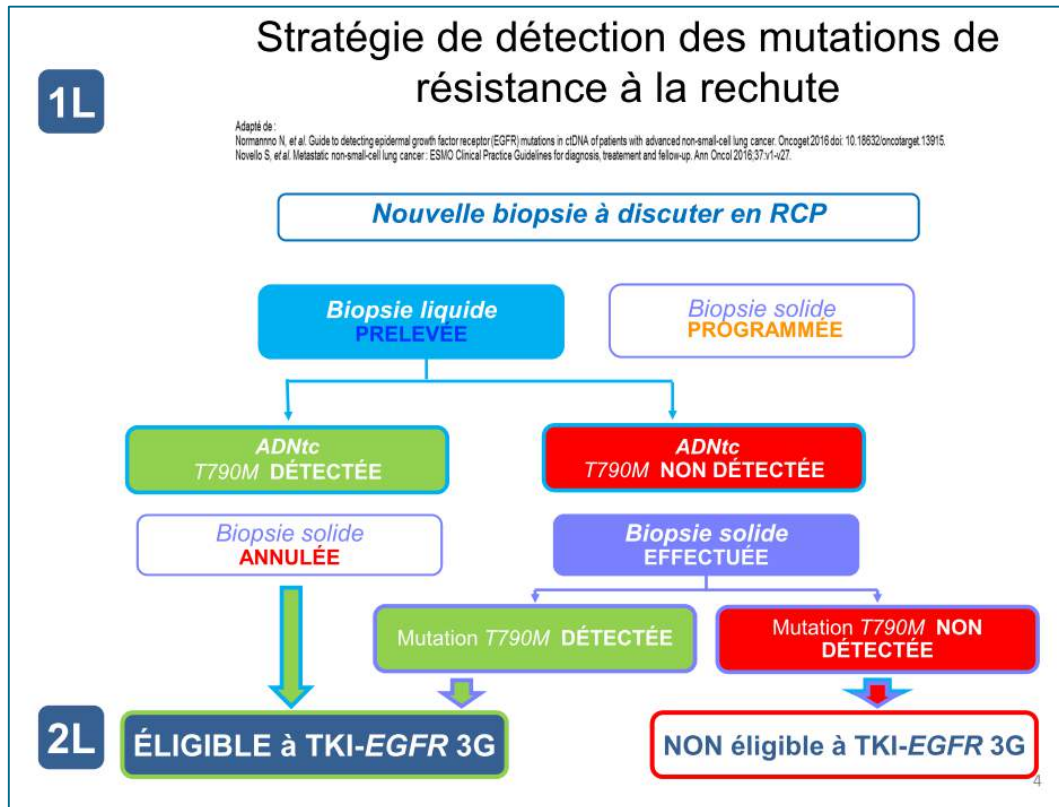


Figure 1 : Stratégie de détection des mutations de résistance à la rechute

## Chapitre 3 - FINANCEMENT - NOUVEAUTÉ 2017

---

Le référentiel des actes innovants hors nomenclature ou RIHN<sup>3</sup> a été mis en place le 31 juillet 2015 par la Direction Générale de l'Organisation des Soins (DGOS) du Ministère de la Santé. Il s'agit d'un nouveau dispositif pour le soutien à l'innovation en anatomie et cytologie pathologiques et en biologie. Le RIHN concerne les actes innovants pour lesquels un intérêt clinique a été démontré. Il est destiné à évaluer les actes « en conditions réelles » et ainsi permettre leur validation et leur inscription à la nomenclature générale. Une liste complémentaire a été également proposée aux sociétés savantes et contient les actes hors nomenclature dont la faisabilité et la validation clinique sont d'ores et déjà démontrées. Ces actes sont soumis à accréditation.

Une seconde version du RIHN a été publiée en janvier 2016 et apporte quelques évolutions avec en particulier la réintroduction de l'acte global incluant la sélection, le désarchivage et le contrôle morphologique d'un échantillon tissulaire en vue d'une analyse moléculaire, une revalorisation de certains actes...

La facturation des actes RIHN est ouverte aux seuls établissements de santé publics ou privés. La cotation de l'acte RIHN est connue et fixée sur la base de 1 AHC = 0,28€. Le financement des actes RIHN repose sur une enveloppe spécifique et sécurisée incluse dans les MERRI. En pratique, pour l'obtention de MERRI, une déclaration au Ministère de la Santé doit être effectuée par l'utilisation d'un outil « FISCHSUP » utilisé par les administrations des établissements de santé.

L'inscription d'un nouveau test au RIHN, portée par un établissement de santé, doit suivre un processus complexe et comporter les éléments suivants :

- ▶ Description précise du test et de son niveau de développement
- ▶ Justification de son intérêt clinique
- ▶ Description des modalités de recueil des informations associées au test

---

<sup>3</sup> [Le référentiel des actes innovants hors nomenclature de biologie et d'anatomocytopathologie \(RIHN\)](#)



## Chapitre 4 - PRESCRIPTION EN PRATIQUE

---

Dernière actualisation : Novembre 2016

Les examens de biologie moléculaire sont réalisés sur prescription médicale.

La prescription peut être effectuée par un oncologue, un spécialiste d'organe ou un pathologiste. Elle se fait directement dans le Dossier Communicant Cancérologie (DCC) soit dans la fiche RCP soit à partir du panneau de contrôle dans l'onglet « Analyses Moléculaires » (cf.

Figure 2).

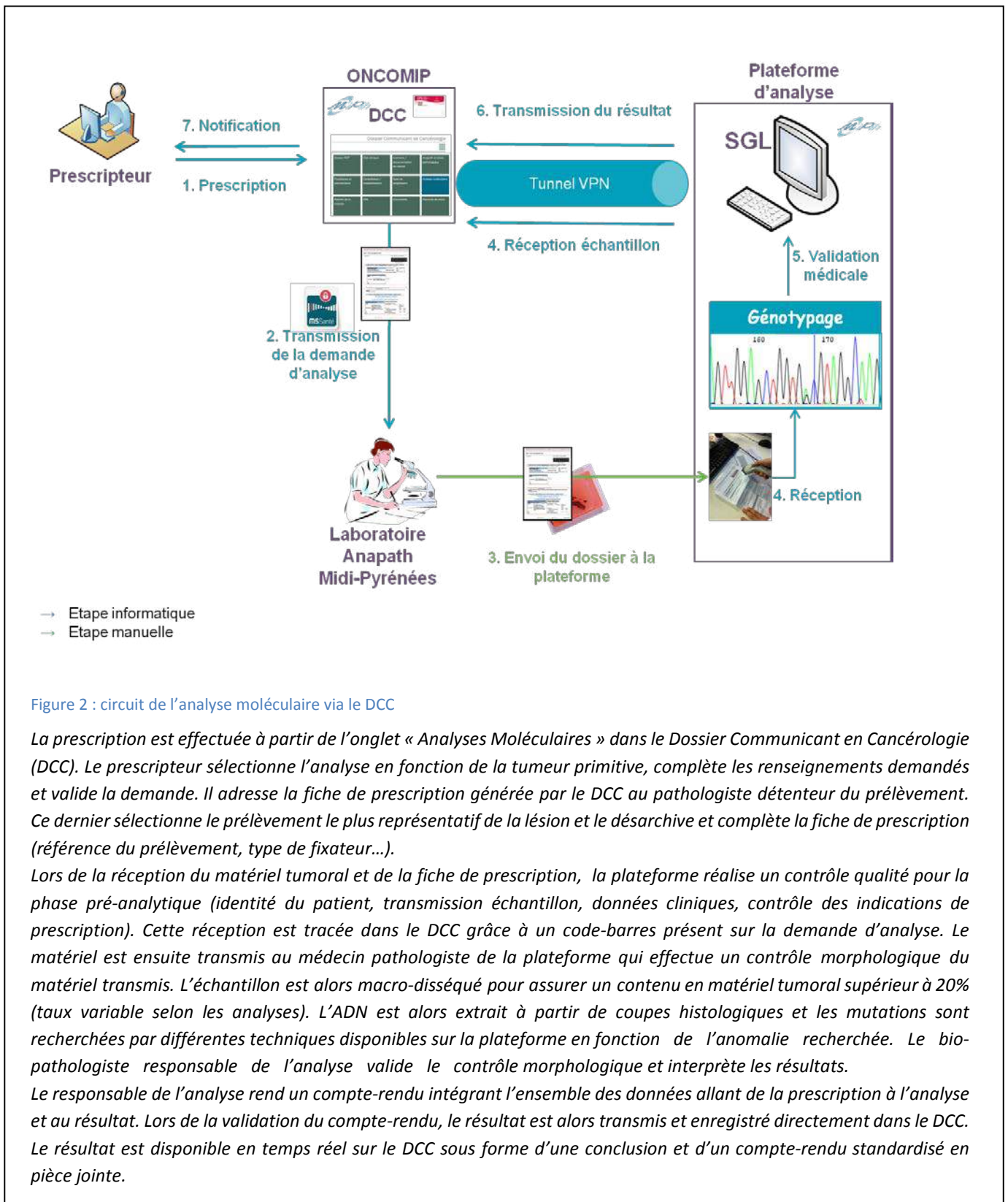
La demande d'examen de biologie moléculaire est :

- ▶ soit immédiate, au cours de la prise en charge initiale du patient
- ▶ soit différée, en fonction de l'histoire de la maladie et de l'évolution des connaissances médicales

Le mode de préparation de l'échantillon dépend du type d'examen à réaliser : la fixation permet de préserver les composantes histologiques nécessaires au diagnostic mais certains fixateurs peuvent endommager des composantes moléculaires. Ainsi, pour certains examens la congélation d'un échantillon tissulaire peut s'avérer indispensable parce qu'elle permet de respecter les principales structures cellulaires et de préserver les acides nucléiques (ADN, ARN) et les protéines.

Les modalités de préparation des échantillons sont décrites, pour chaque type tumoral, dans ce référentiel. Les modalités de cryopréservation des échantillons sont détaillées dans le cahier pratique de la tumorothèque régionale.

La qualité de préparation de l'échantillon conditionne l'interprétation de l'analyse et donc le résultat de biologie moléculaire.



# Chapitre 5 - ESSAIS DE THERAPIE CIBLÉE EN LIEN AVEC LA PLATEFORME DE GÉNÉTIQUE DES TUMEURS

---

*Dernière actualisation : Novembre 2016*

La plateforme de génétique moléculaire de Midi-Pyrénées, labélisée par l'INCa, a pour vocation de réaliser les tests moléculaires innovants pour l'ensemble des patients de la région, quel que soit l'établissement où ils sont pris en charge.

Ces marqueurs, pouvant permettre d'améliorer la prise en charge diagnostique et/ou thérapeutique des patients, peuvent :

- ▶ Fiabiliser le diagnostic
- ▶ Etayer le pronostic
- ▶ Envisager une prise en charge thérapeutique ciblée
- ▶ Assurer le suivi des patients à long terme

De plus, la plateforme réalise également la recherche de biomarqueurs dans le cadre de plusieurs programmes INCa ou de protocoles spécifiques de la région.

## 5.1. LA RCP MOLÉCULAIRE- NOUVEAUTÉ 2017

La RCP moléculaire thorax a été mise en place en 2015. Il s'agit d'une RCP de recours régionale regroupant l'ensemble des cliniciens de la région impliqués et faisant appel aux experts. Elle concerne les situations moléculaires inhabituelles, un type histologique rare ou pour une éventuelle inclusion dans un essai clinique.

Le passage d'un patient en RCP de biologie moléculaire s'effectue exclusivement suite à une demande d'analyse moléculaire auprès de la plate-forme régionale. L'évolution des techniques en biologie moléculaire et en particulier avec l'utilisation du séquençage à haut débit (NGS) en routine permettent une analyse plus complète et l'obtention d'informations supplémentaires pouvant nécessiter un passage en RCP moléculaire.

Actuellement, seuls les patients ayant bénéficiés d'une analyse moléculaire dans les indications liées à une AMM font l'objet d'une analyse plus complète par NGS. La découverte d'une anomalie rare ou dont la valeur prédictive est inconnue enclenche alors une discussion en RCP moléculaire.

## 5.2. PROGRAMME DE DÉTECTION PROSPECTIVE DES BIOMARQUEURS ÉMERGENTS

Ce programme de détection prospective de [biomarqueurs émergents](#) dans le cancer du poumon, dans le cancer colorectal et dans le mélanome, mis en place en 2011 par l'INCa, a pour objectif de permettre aux plateformes d'être immédiatement opérationnelles le jour où des thérapies ciblées dirigées contre ces altérations deviennent disponibles pour les patients. Par ailleurs, les patients identifiés comme porteurs de ces altérations moléculaires peuvent être orientés vers les essais cliniques de ces nouvelles thérapies ciblées et bénéficier ainsi d'un accès anticipé à ces molécules innovantes<sup>4</sup>.

## 5.3. PROGRAMME ACSÉ - ACTUALISATION 2017

L'objectif du programme AcSé (Accès sécurisé à des thérapies ciblées innovantes) développé à l'initiative de l'INCa, avec le soutien de l'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé) est de proposer aux patients atteints de cancers et en situation d'échec thérapeutique, des thérapies ciblant les altérations génétiques présentes dans leur tumeur, solide ou hématologique, indépendamment de l'organe concerné.

<sup>4</sup> Programme pour faciliter l'accès aux thérapies ciblées, INCa MAJ 2014

Le programme AcSé se décline en essais cliniques de phase 2, chaque essai portant sur un seul médicament ciblé, venant d'obtenir une AMM et dont le mécanisme d'action est susceptible de le rendre actif sur des cancers différents. Chaque essai concerne entre 200 et 400 patients selon la fréquence de l'anomalie ciblée dans les différents types de cancers. Les laboratoires développant le médicament mettent à disposition et distribuent gratuitement le traitement pendant toute la durée de l'essai. La recherche des anomalies ciblées doit être demandée à l'occasion de la RCP en respectant les critères ci-dessous :

▶ **Critères d'éligibilité :**

- Patients en situation de maladie localement avancée ou métastatique sans option thérapeutique validée
- Présence de la cible du médicament, QUELLE QUE SOIT l'histologie de la tumeur
- Diagnostic moléculaire doit être réalisé sur une plateforme labélisée INCa

▶ **Critères de non éligibilité :** Patient éligible pour un essai clinique ouvert en France avec une autre thérapie ciblée sur la même cible.

La fiche de prescription préconisée par l'INCa est accessible sur le site d'Oncomip dans la rubrique « [Biologie moléculaire](#) » et disponible via le module de prescription du DCC.

Ces essais permettront de déterminer, si des signes d'efficacité probants sont observés, dans quelles nouvelles indications le médicament devrait être développé par le laboratoire. A l'inverse, ils permettront, si aucun signe d'efficacité n'est observé dans certaines tumeurs, d'éviter de nouveaux essais thérapeutiques inutiles.

Le premier essai porte sur le **crizotinib**. Il est coordonné par Unicancer et cofinancé par la Fondation ARC pour la recherche sur le cancer. Il a été ouvert au niveau national en juillet 2013. La plateforme réalise la recherche des anomalies des gènes ALK, MET, ROS1 depuis février 2014 selon les critères définies par le programme AcSé. Un deuxième essai clinique **AcSé Vemurafenib**, a été lancé en octobre 2014. La plateforme recherche dans le cadre de cet essai, les anomalies du gène BRAF (cf. Tableau 2).<sup>5</sup>

Le troisième essai, **AcSé-ESMART**, a été lancé en juin 2016 et est entièrement dédié aux enfants et aux adolescents. Il s'agit du premier essai clinique de phase précoce en oncologie pédiatrique qui a pour objectif sur trois ans de tester plusieurs molécules innovantes au sein d'un seul et même essai.

Deux nouveaux essais, **AcSé nivolumab** et **AcSé pembrolizumab**, ont été lancés en mai 2017 dans le cadre du programme **AcSé "immunothérapie et cancers rares"**. Ces essais cliniques visent à évaluer deux agents anti-PD1 dans le traitement de certains cancers rares. Ils concernent à ce jour 11 types de cancers rares (cohortes) et devraient permettre d'inclure sur trois ans près de 550 patients atteints de cancer rares et en échec thérapeutique. Ils sont promus par UNICANCER, coordonnés par Gustave Roussy et financés par l'Institut et La Ligue contre le cancer.

<sup>5</sup> [AcSé Moléculaire : Modalités pratiques pour le criblage moléculaire, INCa Version 13 – 28 avril 2017](#)

AcSé Moléculaire	AcSé crizotinib					AcSé vemurafenib	AcSé Immuno thérapies	
	ALK		MET		ROS	BRAF		
Gènes	Trans	Ampli	Mut.	Ampli	Mut	Trans	Mutation	Test MSI
<b>Anomalies</b>								
<b>Localisations</b>								
Cholangiocarcinome et cancer des voies biliaires						X	X	X
Cancer colorectal					X			
<b>Endomètre</b>								X
Cancer gastrique et adénocarcinome de l'œsophage				X				X
Cancer du foie				X	X Cancer foie pédiatrique			
<b>GIST</b>							X	
Glioblastome				X				X
Histiocytose du groupe L - adultes <sup>6</sup>							X	
<b>Intestin grêle</b>								X
<b>Leucémie à tricholeucocytes</b>							X	
<b>Leucémie lymphoïde chronique</b>							X	
Mélanome Tumeur spitzoïde	X					X	AMM	
<b>Myélome multiple</b>							X	
Neuroblastome <sup>7</sup>		X	X					
Tumeur de l'ovaire				X			X	X
CBNPC non épidermoïde	AMM	X			X	AMM	X	
Cancer poumon sarcomatoïde					X			
<b>Cancer de la prostate</b>							X	
Cancer du rein	X	X			X			
Rhabdomyosarcome		X					X	
Sarcomes		X					X	
Cancer de la Thyroïde	X		X		X		X	
T myofibroblastique Inflammatoire	X					X		
Cancer de la vessie et des voies urinaires							X	X

Tableau 2 : Les anomalies moléculaires recherchées dans le cadre des programmes AcSé

<sup>6</sup> Les recherches de mutations de BRAF de cette pathologie sont centralisées dans le laboratoire de l'hôpital Ambroise Paré de la plateforme de l'AP-HP.

<sup>7</sup> Ces analyses sont centralisées dans les laboratoires de l'IGR, Curie et CLB. Les résultats d'anomalies chromosomiques sont confirmés par CGHarray.

## Chapitre 6 - GYNÉCOLOGIE

*Dernière actualisation : Novembre 2016*

### COMITE

Monique Courtade  
Martine Delannes  
Ghislaine Escourrou  
Gwenaël Ferron  
Laurence Gladiéff  
Pierre Leguevaque  
*Eliane Mery*



## 6.1. INFECTIONS HPV

La recherche du virus HPV est utile à la prise en charge du patient et se fait sur prélèvement cytologique en milieu liquide ou sur milieu dédié. Elle fait partie des recommandations de l'HAS pour les frottis ASC-US (pour lesquels elle représente l'une des 3 options de suivi).

En France, le dépistage des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus est basé sur la réalisation régulière de frottis cervico-utérins (FCU) par étalement sur lame (FCU conventionnel) ou recueil en milieu liquide (différents milieux selon les firmes). Les réponses cytologiques sont formulées selon la classification internationale de Bethesda 2001. Ce dépistage par FCU a permis de diminuer considérablement le nombre de cancers invasifs du col de l'utérus. Il est recommandé par l'HAS chez les femmes de 25 à 65 ans y compris chez les patientes vaccinées pour l'HPV (le vaccin ne couvre pas tous les sous-types d'HPV et la couverture vaccinale est insuffisante).

Les frottis conventionnels ont une excellente spécificité mais leur sensibilité reste insuffisante. L'utilisation du FCU en phase liquide a permis d'améliorer la qualité de l'échantillon, de diminuer le nombre de frottis ininterprétables et d'augmenter la performance du dépistage. De plus, il est possible de réaliser un test HPV sur le même prélèvement.

En effet, les cancers du col de l'utérus (99.7%) sont liés à une infection par un papillomavirus oncogène (HPV16-18 en majorité, mais il existe d'autres sérotypes oncogènes). La détection des HPV oncogènes peut se faire grâce à différents tests tels que l'Hybrid Capture ou par PCR (il existe plusieurs trousse de détection sur le marché). Il peut être réalisé sur le même prélèvement que celui de l'examen cytologique si le frottis a été recueilli en milieu liquide (à condition que le milieu de recueil soit validé pour le test utilisé). Le test HPV peut être également réalisé sur un prélèvement dédié (milieu de conservation adapté pour les tests de biologie moléculaire) en complément d'un FCU par étalement.

**A ce jour la réalisation du test HPV fait partie des recommandations de l'HAS pour les frottis ASC- US** car elle représente une des trois options de suivi des patientes. D'autres indications du test HPV sont en cours d'évaluation tel que le suivi après conisation. A ce jour, le test HPV n'est pas indiqué en dépistage primaire. La technique est disponible en Midi-Pyrénées dans le centre spécialisé (IUCT Oncopole Toulouse) ainsi que dans certains laboratoires et cabinets de pathologie privés.

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Mise en évidence de la présence d'un virus HPV
<b>BUT</b>
<b>DIAGNOSTIQUE</b>
Mise en évidence de la présence d'un virus HPV
<b>INDICATIONS</b>
Présence d'ASC-US sur frottis cervico-utérin (recommandations HAS)
<b>TECHNIQUE</b>
Technique PCR HPV / Hybrid capture
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Type de prélèvement : frottis en milieu liquide ou prélèvement en milieu dédié</li> </ul>
<b>Modalités de fixation</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Fixation : liquide fixateur fourni par l'industriel (frottis en milieu liquide) si validé pour les tests HPV</li> <li>Conservation : milieu dédié validé pour les tests HPV</li> </ul>

Tableau 3 : Mise en évidence de la présence d'un virus HPV

## 6.2. CANCER DE L'ENDOMÈTRE ET SYNDROME DE LYNCH

### 6.2.1. Cancer de l'endomètre et syndrome de Lynch : test MSI /méthylation promoteur MLH

Il n'existe à l'heure actuelle aucune recommandation à la recherche d'une instabilité microsatellitaire dans le cadre d'un syndrome de Lynch. Cette recherche est utile (accord d'experts) chez les patientes de moins de 50 ans ou ayant des antécédents personnels ou familial au premier degré d'un cancer colorectal ou du « spectre HNPCC » (endomètre, intestin grêle, urothélium, voies biliaires, estomac, ovaire).

L'instabilité microsatellitaire s'observe dans 30 à 40 % des cancers de l'endomètre, essentiellement des adénocarcinomes endométrioïdes, de type I. L'identification d'un cancer de l'endomètre de phénotype RER+ conduit alors à proposer une consultation d'oncogénétique. La réalisation des tests moléculaires somatiques « de 2ème ligne » pour les cancers avec perte d'expression de MLH1/PMS2 en immunohistochimie n'est pas clairement établie et, à l'heure actuelle, se fait par analogie aux CCR (méthylation du promoteur du gène MLH1, mais pas de recherche de mutation BRAF car absente dans les cancers de l'endomètre).

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, la recherche d'instabilité microsatellitaire est réalisée selon la stratégie proposée dans l'arbre décisionnel ci-dessous.

La recherche de mutations constitutionnelles (germinales) est effectuée sur les leucocytes sanguins. Cette recherche est toujours réalisée dans le cadre d'une consultation d'oncogénétique par un laboratoire agréé (cf. contacts ci-dessous)

#### CONTACT

CONSULTATION D'ONCOGENETIQUE

**Pr Rosine Guimbaud**

IUCT Oncopole Toulouse

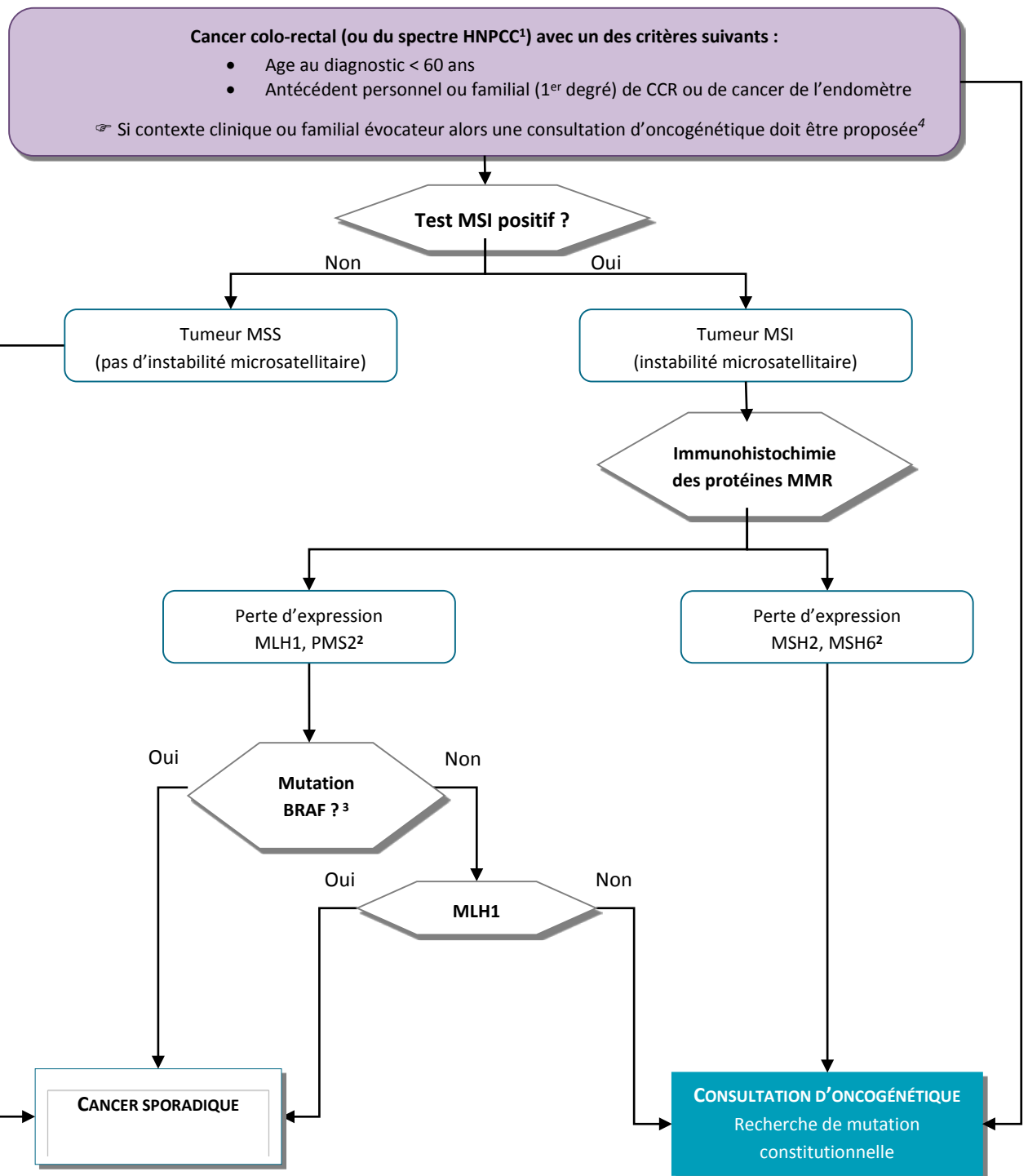
☎: 05.31.15.52.21

LABORATOIRE D'ONCOGENETIQUE

**Pr Gilles Favre & Dr Christine Toulas**

IUCT Oncopole Toulouse

☎: 05.31.15.52.20



**Arbre décisionnel 1 : schéma diagnostique du cancer de l'endomètre lié au syndrome de Lynch**

<sup>1</sup>L'extinction de MSH2 et/ou MSH6 est spécifique du syndrome de Lynch contrairement à l'extinction de MLH1 qui s'observe aussi dans les tumeurs MSI+ sporadiques. <sup>2</sup> Parmi les tumeurs MSI+ avec perte d'expression de MLH1 en immunohistochimie, une analyse supplémentaire est utile pour distinguer les formes sporadiques des syndromes de Lynch : la méthylation du promoteur de MLH1 observée seulement dans les cancers sporadiques. <sup>3</sup> Un contexte clinique ou familial très évocateur doit orienter vers une consultation d'oncogénétique première. Les modalités de réalisation des tests vous sont présentées dans le **Tableau 4** (page 23).

## 6.2.2. Tableau de synthèse du test

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLECULAIRE</b>
<b>Instabilité micro satellitaire dans les cancers de l'endomètre (ou autres cancers du spectre HNPCC)</b>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b> Identifier les patients porteurs d'un syndrome HNPCC
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Age au diagnostic &lt; 50 ans</li> <li>• Antécédent personnel de CCR ou de cancer de l'endomètre</li> <li>• Antécédent familial (1er degré) de CCR ou de cancer de l'endomètre</li> </ul>
<b>TECHNIQUES</b>
<p><b>Technique MSI</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraction ADN de la tumeur (avec macrodissection de la zone le plus riche en cellules tumorales) et ADN du tissu normal</li> <li>• Génotypage 5 séquences microsattellites consensus par PCR Pentaplex de ces séquences microsattellites (instabilité microsattellitaire ou MSI si au moins 2 microsattellites instables sur cinq)</li> </ul> <p><b>Technique corollaire (IHC)</b></p> <p>En complément de la recherche d'instabilité microsattellitaire ou pour les cas avec très peu de cellules tumorales ou fixateur ne permettant pas d'étude en biologie moléculaire avec les 4 anticorps : anti- MLH1, anti-MSH2, anti-MSH6 et anti-PMS2.</p>
<b>MODALITES DE PREPARATION DU MATERIEL TUMORAL</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : exérèse chirurgicale ou biopsie</li> <li>• Type de tumeur: tumeur primitive endométriale ou métastase.</li> <li>• Quantité de matériel: choisir un bloc riche en cellules tumorales (&gt; 20% de cellules tumorales) avec une zone non tumorale ou un bloc de tissu normal souvent nécessaire (profil d'instabilité difficile à établir en absence de comparaison avec l'ADN normal).</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Instabilité microsattellitaire : tumeur congelée ou fixée formol et incluse en paraffine (pas d'acide picrique, autres fixateurs que le formol déconseillés).</li> <li>• Immunohistochimie : tumeur fixée et incluse en paraffine uniquement (non réalisable sur tissu congelé): fixateur gold standard = formol, interprétation parfois difficile pour les autres fixateurs (AFA, Bouin, substitut du formol)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Plateforme hospitalière de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées, labellisée et soutenue par l'INCa - Responsables : Pr J. Selves, D. Grand
<b>DELAI DE REPONSE</b>
8 à 10 jours

Tableau 4 : Instabilité micro satellitaire dans les cancers de l'endomètre (ou autres cancers du spectre HNPCC)

### 6.3. SARCOME DU STROMA ENDOMÉTRIAL DE BAS GRADE

Le sarcome endométrial de bas grade de l'utérus présente dans 50 à 80 % une translocation JAZF1 / JAZ1 avec gène de fusion. Cette translocation n'est observée que dans le sarcome endométrial de bas grade et non dans les autres sarcomes utérins, elle est donc diagnostique. Elle peut se mettre en évidence par technique FISH.

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Translocation du gène JAZF 1
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b> Sarcome du stroma endométrial de bas grade de l'utérus
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• sarcome endométrial de bas grade de l'utérus : diagnostic positif ou différentiel avec les autres sarcomes utérins</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH)</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• <b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>• <b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Tumeur fixée et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Dr Eliane Mery Lamarche
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 à 10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 5 : Translocation du gène JAZF 1

## 6.4. CARCINOME DE L'OVAIRE, DE LA TROMPE, DU PÉRITOINE, DE HAUT GRADE

La recherche des mutations somatiques des gènes BRCA 1 et 2 dans les carcinomes de l'ovaire (sauf carcinome séreux de bas grade et mucineux), de la trompe, du péritoine, de haut grade, réalisée à partir d'un prélèvement tissulaire, permet de déterminer le statut mutationnel de la tumeur en vue d'un accès à un traitement de maintenance par Olaparib pour les indications suivantes :

- ▶ Patientes présentant un carcinome de l'ovaire, de la trompe ou du péritoine, de haut grade,
- ▶ En rechute chimio-sensible (> 6 mois),
- ▶ Sensible à une nouvelle ligne de traitement avec platine,
- ▶ Dont le statut constitutionnel BRCA est négatif ou inconnu.

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Mutation somatique des gènes BRCA dans les carcinomes de l'ovaire, de la trompe, du péritoine, de haut grade
<b>BUT</b>
Marqueur thérapeutique pour envisager un traitement de maintenance par olaparib
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinome de l'ovaire, de la trompe ou du péritoine, de haut grade</li> <li>• En rechute chimio-sensible (&gt; 6 mois)</li> <li>• Sensible à une nouvelle ligne de traitement avec platine</li> <li>• Dont le statut constitutionnel BRCA est négatif ou inconnu</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraction ADN de la tumeur (avec macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>• Séquençage haut débit</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : exérèse chirurgicale ou biopsie</li> <li>• Type de tumeur : tumeur de l'ovaire, de la trompe ou du péritoine, de haut grade</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales (&gt;30%)</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur fixée et incluse en paraffine (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Plateforme hospitalière de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées, labellisée et soutenue par l'INCa. Responsables : Dr Eliane Mery / Dr Claire Illac</li> <li>• Laboratoire d'Oncogénétique, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Dr Christine Toulas</li> </ul>
<b>Délai de réponse</b>
21 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 6 : Mutations somatiques des gènes BRCA

## 6.5. TUMEUR DE LA GRANULOSA ET MUTATION FOXL2

Les tumeurs de la granulosa représentent moins de 5 % des tumeurs de l'ovaire. Elles sont divisées en 2 catégories :

- ▶ tumeur de la granulosa juvénile (TGJ)
- ▶ tumeur de la granulosa adulte (TGA)

La tumeur de la granulosa adulte est souvent de petit stade et de bon pronostic. Le risque de récurrence est de 10 % pour les petits stades, avec des récurrences imprévisibles, parfois très tardives, plus de 20 à 30 ans après. Pour des stades supérieurs le risque est de 20 à 30 %.

Le gène FOXL 2 code pour un facteur de transcription qui est sélectivement exprimé dans les follicules ovariens adultes. La mutation p. C134W de l'exon 1 du gène FOXL 2 est retrouvée dans 95 % des TGA, 15 % des thécomes, et plus rarement (<10%) dans les TGJ. Elle n'est pas retrouvée dans les autres cancers de l'ovaire, ni d'autres organes (Shah p 2009, Jamieson 2012).

Sa recherche peut être très utile pour le diagnostic, notamment le diagnostic différentiel entre TGA à cellules fusiformes et fibrothécome. La recherche sur la plateforme se fait par technique Taqman recherche de la mutation : c.402 C>G ; p 134 c>W de l'exon 1 du gène FOXL2. La protéine FOXL 2 peut être évaluée par IHC. Elle est présente dans les cellules de la granulosa normales ou tumorales, mais aussi dans d'autres tumeurs du stroma et des cordons sexuels.

<b>UTILE</b>
<b>Anomalie moléculaire</b>
<b>Mutation du gène FOXL2</b>
<b>But</b>
<b>Marqueur diagnostique des tumeurs de la granulosa adulte</b>
<b>Indications</b>
Tumeur de la granulosa adulte : diagnostic positif ou différentiel avec les tumeurs ovariennes « sex cord like » ou à cellules fusiformes
<b>Technique</b>
Taqman
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<b>Modalités de prélèvement</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul>
<b>Modalités de fixation</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Tumeur fixée et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA)</li> </ul>
<b>Laboratoire</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Dr Eliane Mery Lamarche
<b>Délai de réponse</b>
7 à 10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 7 : Mutation du gène FOXL 2

## Chapitre 7 - HÉMATOLOGIE

*Dernière actualisation : juillet 2011*

***Actualisation 2017 de sous chapitres Lymphomes et Myélomes multiples***

### COMITE

*Pierre Bories*

Jill Corre

Eric Delabesse

Véronique De Mas

Laurence Lamant

Camille Laurent

Daniel Schlaifer

*Examens réalisés au laboratoire de Génétique des Hémopathies de l'IUCT Oncopole Toulouse pour la prise en charge de cancers hématologiques en Midi-Pyrénées.*



## 7.1. SYNDROMES MYÉLOPROLIFÉRATIFS

### 7.1.1. Leucémie myéloïde chronique (LMC)

#### 7.1.1.1 Définition

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est une hémopathie maligne appartenant au groupe des syndromes myéloprolifératifs. Elle est caractérisée par la présence d'un marqueur chromosomique au niveau des cellules hématopoïétiques, le chromosome de Philadelphie. Celui-ci est en fait le raccourcissement du bras long du chromosome 22, conséquence de la translocation chromosomique t(9;22)(q34.1;q11.2). Le produit du gène chimérique BCR-ABL : la protéine BCR-ABL a une forte activité tyrosine kinase et est responsable de la transformation leucémique.

Cette protéine est devenue la cible d'un inhibiteur puissant, l'Imatinib, dont l'activité thérapeutique importante a profondément transformé la prise en charge thérapeutique et le pronostic de cette hémopathie.

#### 7.1.1.2 Epidémiologie

En France, l'incidence de la LMC est estimée à 1 à 2 nouveaux cas / 100 000 habitants et par an, soit environ 900 nouveaux diagnostics par an en France et environ 40 en Midi-Pyrénées. L'âge moyen du diagnostic est de 54 ans et touche 1,4 homme pour 1 femme. Cinquante pour cent des cas sont des diagnostics fortuits, 97 % en phase chronique, 1,6 % en phase accélérée, 1,4 % en phase blastique d'emblée. La prévalence est susceptible d'augmenter en raison de la diminution nette observée du taux de mortalité au moins au cours des 5 premières années après le diagnostic.

#### 7.1.1.3 Physiopathologie et prise en charge

La prise en charge a dramatiquement été modifiée suite à l'arrivée d'inhibiteurs spécifiques de la fonction tyrosine kinase (ITK) de BCR-ABL, d'abord l'imatinib (GLIVEC®) puis le Dasatinib (SPRYCEL®) et le Nilotinib (TASIGNA®).

Les marqueurs indirects de réponse au traitement sont constitués des réponses cytologique, cytogénétique et moléculaire. Les suivis moléculaires et cytogénétiques permettent d'ajuster le traitement (augmentation de doses ; passage à un autre inhibiteur). Les recommandations du groupe European Leukemia Net, basées sur des critères de pronostic établis et sur un suivi régulier, ont été publiées<sup>8</sup>.

La réponse au traitement initial (en général imatinib à 400 mg/j) est classée en trois groupes : réponse optimale ; réponse sub-optimale aboutissant éventuellement à une augmentation de dose ou un changement de traitement (ITK de 2ième génération); échec conduisant à un changement de traitement.

Pour rappel,

- ▶ **La réponse hématologique complète (CHR)** est définie quand les plaquettes sont < 450 G/L, les globules blancs < 10 G/L, absence de myélémie, les polynucléaires basophiles < 5% et l'absence de rate. Elle doit être évaluée toutes les 2 semaines jusqu'à son obtention puis tous les 3 mois après obtention.
- ▶ **La réponse cytogénétique** est évaluée par un caryotype standard analysant plus de 20 métaphases réalisé sur la moelle. Cet examen est coté à la nomenclature des actes de biologie médicale, donc remboursable. Il est réalisé à 3 et 6 mois puis tous les 6 mois jusqu'à obtention de la réponse cytogénétique complète puis tous les 12 mois après obtention de la réponse cytogénétique complète :

<sup>8</sup> Recommandations du groupe European Leukemia Net <http://www.leukemia-net.org> (Blood, 2006;108:1809 ; Actualisation JCO, 2009 ; 27 : 6041)

- La réponse cytogénétique complète (CCyR) est caractérisée par l'absence de mitose Ph1+.
- La réponse cytogénétique partielle (PCyR) est définie par la présence de mitoses Ph1+ de 1 à 35%.

Les deux réponses constituent une réponse cytogénétique majeure. L'absence de réponse cytogénétique est définie par un nombre de mitoses Ph1+ supérieur à 95%.

- ▶ **La réponse moléculaire** est définie par la quantification du transcrite de fusion BCR-ABL1 résultant de la fusion des gènes BCR situé sur le chromosome 22 et ABL1 situé sur le chromosome 9.

Dans la leucémie myéloïde chronique, les points de cassure principaux sont situés au niveau des exons historiquement appelés b2 et b3 de BCR (en fait exons 13 et 14 de BCR) et a2 de ABL1 (correspondant réellement au second exon). Il existe des points de cassure moléculaires plus rares. La protéine de fusion résultant de cette translocation aboutit à une activité tyrosine kinase constitutive cytoplasmique, ayant une fonction transformante. Le suivi moléculaire par PCR quantitative a une sensibilité de l'ordre de 5 logs et représente la seule méthode de suivi après obtention de la réponse cytogénétique complète. Ce suivi est réalisé sur l'ARN, acide nucléique fragile. Il est donc très important de transmettre l'échantillon de sang le plus rapidement au laboratoire en charge de cette analyse avec risque de dégradation de l'échantillon (<24heures). La quantification du transcrite BCR-ABL est gratuite, elle est prise en charge par l'INCA.

En pratique, le transcrite de fusion BCR-ABL1 doit être caractérisé au diagnostic afin d'utiliser une méthode de PCR quantitative spécifique. Cette recherche se fait sur le sang. Les cellules mononucléées sont recueillies après séparation sur FICOLL<sup>®</sup> puis l'ARN est extrait. Un ADN complémentaire est ensuite réalisé. La technique de recherche de tous les transcrits BCR-ABL1 en une PCR a été publiée dans British Journal of Haematology<sup>9</sup>.

Le suivi moléculaire du niveau d'expression de BCR-ABL1 par PCR quantitative s'effectue sur le sang tous les 3 mois jusqu'à réponse moléculaire majeure (< 0,1%) puis ensuite au moins tous les 6 mois. La technique de quantification des transcrits BCR-ABL1 a été publiée dans deux articles de Leukemia<sup>10,11</sup>.

Les résultats de suivi moléculaire sont rendus associés à un graphe de suivi reprenant l'ensemble des points de suivi moléculaire. Le taux de BCR-ABL1 au diagnostic est de l'ordre de 100% (rapport BCR-ABL1/ABL1). Les résultats de suivi sont soit :

- ▶ **positifs** avec un rapport exprimé en pourcentage de la quantité de transcrite de fusion BCR-ABL1 sur la quantité de transcrite normal ABL1 (ce dernier transcrite étant utilisé dans ce cas comme indicateur de qualité, ABL1 étant exprimé à un niveau constant dans les cellules hématopoïétiques)
- ▶ **positifs non quantifiables** quand la précision de la mesure est diminuée (valeur très faible, en-dessous de 0,01%);
- ▶ **négatifs**.

La réponse moléculaire majeure (MMR) est définie à un rapport inférieur à 0,1%. L'ensemble des indicateurs de suivi de la leucémie myéloïde chronique permet de classer le patient en 3 groupes selon les modalités du tableau 8 ci-dessous.

<sup>9</sup> Typical essential thrombocythaemia does not express bcr-abelson fusion transcript. *Br J Haematol*, 2002,116(4):812-816.

<sup>10</sup> Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) - a Europe against cancer program. *Leukemia*. 2003 Dec; 17(12): 2474-86

<sup>11</sup> Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. *Leukemia*. 2003 Dec; 17(12): 2318-57).

	Réponse optimale	Réponse sub-optimale	Echec	Alerte
Diagnostic				Haut risque Anomalies CG associées au Ph1
3 mois	CHR Minor CyR ( $\leq 65\%$ )	No CyR ( $>95\%$ )	< CHR	
6 mois	PCyR ( $\leq 35\%$ )	< PCyR ( $>35\%$ )	No CyR ( $>95\%$ )	
12 mois	CCyR (0)	< CCyR ( $>1\%$ )	< PCyR ( $>35\%$ )	<MMR ( $>0,1\%$ )
18 mois	MMR ( $\leq 0,1\%$ )	< MMR ( $>0,1\%$ )	< CCyR (0)	
A tout moment	MMR stable ou diminuant	Perte MMR ( $>0,1\%$ ) Mutation	Perte CHR Perte CCyR Mutation Anomalies CG associées au Ph1	Augmentation BCR-ABL Anomalies CG non associées au Ph1

Tableau 8 : Classement en fonction de la réponse moléculaire pour le suivi de la LMC

La recherche d'une mutation BCR-ABL est recommandée chez les patients en réponse sub-optimale ou en échec de traitement, ainsi que lors du passage aux ITK de 2<sup>ème</sup> génération.

## 7.1.2. La polyglobulie primitive (PV) ou maladie de Vaquez (MV)

### 7.1.2.1 Définition

La maladie de Vaquez ou polyglobulie primitive (polycythemia vera des anglo-saxons) est un syndrome myéloprolifératif résultant de l'expansion clonale d'une cellule souche hématopoïétique pluripotente, à l'origine d'une prolifération non régulée du tissu myéloïde prédominant sur la lignée érythrocytaire.

### 7.1.2.2 Epidémiologie

Son incidence est faible, de l'ordre de 3 cas pour 100.000 habitants, selon une étude épidémiologique réalisée en Italie du Nord. Il s'agit d'une pathologie du sujet âgé avec un âge médian au diagnostic proche de 60 ans. Très rare avant 40 ans, elle est tout à fait exceptionnelle chez l'enfant. Le sexe ratio est voisin de 1.

### 7.1.2.3 Physiopathologie et prise en charge

La pathogénie de la maladie de Vaquez est longtemps restée inexpliquée, jusqu'au printemps 2005, où plusieurs groupes de chercheurs ont décrit la présence dans les cellules myéloïdes des patients atteints, d'une mutation unique récurrente et activatrice dans le gène de la Janus Kinase JAK2.

Cette mutation JAK2V617F confère aux lignées cellulaires une hypersensibilité et une indépendance vis-à-vis de diverses cytokines dont l'érythropoïétine.

Retrouvée dans 95% des cas de maladie de Vaquez (et avec une fréquence moindre dans la thrombocytémie essentielle et la myélofibrose primitive), elle a ouvert la voie à un diagnostic moléculaire

précis de la maladie de Vaquez. D'autres mutations plus rares de JAK2, situées dans l'exon 12, ont été retrouvées dans moins de 5% des cas de maladie de Vaquez.

La recherche de mutations de JAK2 se fait sur l'ADN extrait du sang total. En cas de recherche de mutations dans le contexte d'une maladie de Vaquez, la mutation JAK2 V617F est d'abord recherchée (95% de positivité dans les vraies maladies de Vaquez). La mutation JAK2 V617F a la particularité d'être présente à des taux très variables allant de 2 à 100%. La méthode moléculaire par discrimination allélique a été décrite dans Blood<sup>12</sup>. Cette méthode est très sensible et identifie tous les niveaux de mutation de JAK2 V617F. En cas de détection de cette mutation, le résultat est rendu positif associé à une estimation du taux de cette mutation (faible, intermédiaire et fort). Le niveau de mutation n'est pas associé à une valeur pronostique.

En cas de négativité, la recherche de mutations de l'exon 12 de JAK2 est réalisée. La méthode utilisée a été développée dans le laboratoire d'hématologie<sup>13</sup>

### 7.1.3. La Thrombocytémie Essentielle (TE)

#### 7.1.3.1 Définition

La thrombocytémie essentielle est un syndrome myéloprolifératif chronique caractérisé par une prolifération prédominante de la lignée mégacaryocytaire.

#### 7.1.3.2 Epidémiologie

Son incidence est estimée à 1,5 nouveaux cas pour 100000 habitants / an. Le nombre de patients atteints serait de 400 environ / million d'habitants.

#### 7.1.3.3 Physiopathologie et prise en charge

En l'absence de critères « pathognomoniques » de cette affection, le diagnostic de thrombocytémie essentielle s'appuie sur un ensemble de tests dont l'ordre et le choix dépendent du contexte clinique et de la complexité du diagnostic.

Il faut aussi noter que le diagnostic peut se poser en urgence en cas de manifestations cliniques hémorragiques ou thrombotiques majeures. Le taux de plaquettes ne peut à lui seul distinguer une hyper-plaquetdose réactionnelle inflammatoire d'une vraie thrombocytémie essentielle. Le bilan initial cherche à apporter des arguments en faveur du diagnostic de syndrome myéloprolifératif, en particulier la recherche de la mutation JAK2 V617 F qui est positive dans environ 50% des vraies thrombocytémies essentielles. Cette recherche se fait également sur le sang, de manière identique à celle décrite dans le chapitre polyglobulie primitive. En cas de négativité et dans le contexte de thrombocytémie essentielle, une recherche d'une mutation du récepteur à la thrombopoïétine, MPL W515, est réalisée sur le même échantillon d'ADN que celui utilisé pour la recherche de la mutation JAK2 V617F. La mutation MPL W515 est retrouvée dans environ 3% des thrombocytémies essentielles. La méthode utilisée est une méthode très sensible de discrimination allélique que nous avons publiée dans le journal Human Pathology<sup>14</sup>.

<sup>12</sup> X-inactivation-based clonality analysis and quantitative JAK2V617F assessment reveal a strong association between clonality and JAK2V617F in PV but not ET/MMM, and identifies a subset of JAK2V617F-negative ET and MMM patients with clonal hematopoiesis. *Blood*. 2006 May 15;107(10):4139-41

<sup>13</sup> *PLoS One*. 2010 Jan 26;5(1):e8893

<sup>14</sup> Detection of the MPL W515L mutation in bone marrow core biopsy specimens with essential thrombocythemia using the TaqMan assay. *Hum Pathol*. 2007 Oct;38(10):1581-2

## 7.1.4. La myélofibrose primitive (MF) ou splénomégalie myéloïde chronique

### 7.1.4.1 Définition

La myélofibrose primitive est un syndrome myéloprolifératif chronique caractérisé par une myélofibrose évolutive et une métaplasie myéloïde hépatosplénique.

### 7.1.4.2 Epidémiologie

C'est le plus rare des syndromes myéloprolifératifs (incidence de 3 à 7 nouveaux cas/million d'habitants/an) touchant essentiellement des sujets âgés (âge moyen au diagnostic entre 60 et 65 ans).

### 7.1.4.3 Physiopathologie et prise en charge

Le bilan moléculaire cherche à apporter des arguments en faveur du diagnostic de syndrome myéloprolifératif, en particulier la présence de la mutation JAK2 V617 F qui est positive dans environ 60% des vraies splénomégalies myéloïdes. Cette recherche se fait également sur le sang. En cas de négativité et dans le contexte de splénomégalie myéloïde, une recherche d'une mutation du récepteur à la thrombopoïétine, MPL W515, est réalisée et retrouvée dans environ 10% des cas.

---

## 7.2. LEUCÉMIES AIGUES

---

### 7.2.1. Leucémies aiguës myéloïdes (LAM)

#### 7.2.1.1 Définition

Les LAM sont un groupe hétérogène d'hémopathies malignes caractérisées par la prolifération clonale de précurseurs myéloïdes anormaux et une altération de l'hématopoïèse normale. La classification OMS retient comme seuil l'infiltration de la moelle osseuse par plus de 20 % de blastes non lymphoïdes.

#### 7.2.1.2 Epidémiologie

L'incidence de la LAM chez l'adulte est de 5 à 8/100.000 par an en Europe ; elle augmente avec l'âge, surtout après 50 ans. Le taux de mortalité est de 4 à 6/100.000 par an. L'âge médian au diagnostic d'une LAM est de 65 ans.

#### 7.2.1.3 Physiopathologie et prise en charge

Le diagnostic de LAM nécessite un examen des frottis sanguins et médullaires par des cytologistes experts. Le bilan minimal doit comporter une étude morphologique et cytochimique, un immunophénotypage, une étude cytogénétique de la moelle (caryotype et FISH) et une étude en biologie moléculaire (réarrangements géniques résultant des anomalies chromosomiques).

#### ► Transcrits de fusion

La recherche de transcrits de fusion dans les LAM conditionne le pronostic et le suivi au cours de la prise en charge thérapeutique. La présence de transcrits de fusion est identifiée au caryotype et validée par biologie moléculaire (FISH ou PCR).

- Des transcrits de fusion de bon pronostic sont retrouvés en particulier PML-RARA (leucémie promyélocytaire) et à un moindre degré CFBF-MYH11 et AML1-ETO.

- Des transcrits de fusion de mauvais pronostic peuvent être identifiés comme les réarrangements impliquant MLL, les transcrits de fusion CALM-AF10 et DEK-CAN.

L'analyse des transcrits est réalisée après séparation des cellules mononucléées et extraction de l'ARN ; l'ARN est ensuite converti en ADN complémentaire. Les transcrits de fusion au diagnostic sont recherchés selon le protocole européen<sup>15</sup> publié par Van Dongen JJM and all.

#### ▶ Mutations ponctuelles

De nombreuses LAM n'ont pas d'anomalie détectable au caryotype (LAM à caryotype « normal ») mais présentent des mutations ayant une forte valeur pronostique comme les duplications en tandem de la tyrosine kinase FLT3 (FLT3 ITD) associées à un mauvais pronostic en l'absence de mutation concomitante de NPM1 (insertion de 4 bases au niveau de l'exon 12 de NPM1). Cette dernière mutation est de bon pronostic en l'absence de mutation de FLT3 ITD. Les mutations de CEBPA sont associées à un meilleur pronostic.

De nouvelles mutations sont caractérisées par le séquençage complet des génomes de LAM et ont des valeurs potentielles dans la prise en charge future des patients (mutations de KRAS ou de NRAS, par exemple) ou sont également associées à un mauvais pronostic comme la mutation de l'aspartate 816 de la tyrosine kinase KIT (KIT D816).

La recherche de ces mutations ponctuelles se fait sur l'ADN extrait des cellules mononucléées sur un échantillon ayant au-moins 25% de cellules blastiques. La méthode de recherche des mutations de NRAS et KRAS est actuellement publiée dans Blood<sup>16</sup>. La méthode de recherche de mutations de CEBPA est celle décrite dans Nature Genetics<sup>17</sup>.

#### ▶ Suivi moléculaire

Une fois un transcrite de fusion identifié, l'étude de la maladie résiduelle au cours du suivi du patient peut être réalisée sur la moelle et/ou sur le sang. Les cibles suivies par PCR quantitative sont :

- BCR-ABL1
- CFBF-MYH11
- AML1-ETO
- PML-RAR

Le suivi moléculaire est réalisé selon les mêmes modalités que celles indiquées pour le suivi moléculaire de la leucémie myéloïde chronique<sup>18 - 19</sup>.

<sup>15</sup> Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Report of the BIOMED-1 concerted action: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. [Leukemia, 1999;13\(12\):1901-1928](#).

<sup>16</sup> TET2 mutation is an independent favorable prognostic factor in myelodysplastic syndromes (MDS). [Blood. 2009 Oct 8;114\(15\):3285-91](#)

<sup>17</sup> Dominant-negative mutations of CEBPA, encoding CCAAT/enhancer binding protein-alpha (C/EBPalpha), in acute myeloid leukemia. Pabst T, Mueller BU, Zhang P, Radomska HS, Narravula S, Schnittger S, Behre G, Hiddemann W. [Tenen DG. Nat Genet. 2001 Mar;27\(3\):263-70](#)

<sup>18</sup> Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) - a Europe against cancer program. [Leukemia. 2003 Dec; 17\(12\): 2474-86](#)

<sup>19</sup> Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. [Leukemia. 2003 Dec; 17\(12\): 2318-57](#).

## 7.2.2. Leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL)

### 7.2.2.1 Définition

Les LAL sont des proliférations malignes aboutissant à l'accumulation clonale dans la moelle, le sang et éventuellement d'autres organes, de cellules immatures de la lignée lymphoïde, arrêtées au stade de lymphoblastes de la voie normale de différenciation.

### 7.2.2.2 Epidémiologie

1,5 nouveau cas pour 100 000 habitants / an, soit environ 1000 nouveaux cas de LAL par an en France. Elle représente 80% des leucémies aiguës de l'enfant et 20% de l'adulte, avec 2 pics de fréquence : chez l'enfant de 2 à 10 ans (75% des cas sont diagnostiqués avant 6 ans) et chez l'adulte à partir de 50 ans.

### 7.2.2.3 Physiopathologie et prise en charge

Le diagnostic de LAL nécessite l'évaluation de frottis sanguins et médullaires associés aux études de MPO, d'immuno-phénotypage, de cytogénétique et de biologie moléculaire.

#### ► Transcrits de fusion

L'existence d'un chromosome de Philadelphie (Ph1) ou d'un transcrit de fusion BCR-ABL doit être connue dans les 5 premiers jours du diagnostic car elle oriente précocement la prise en charge.

Pour un patient pris en charge à visée curative, la recherche des transcrits de fusion E2A-PBX1 doit être effectuée en biologie moléculaire en cas d'échec du caryotype ou de caryotype normal dans les LAL de la lignée B, la t(1;19) pouvant être cryptique.

Pour les LAL T, une FISH ABL doit être effectuée pour ne pas méconnaître les formes avec transcrit NUP214-ABL1 pouvant éventuellement bénéficier de l'Imatinib.

#### ► Suivi moléculaire

Une fois un transcrit identifié, l'étude de la maladie résiduelle au cours du suivi du patient peut être réalisée. Le suivi de la maladie résiduelle par biologie moléculaire peut contribuer à définir les orientations thérapeutiques, en particulier l'allogreffe. Les cibles suivies par PCR quantitative sont :

- BCR-ABL1
- E2A-PBX1
- TEL-AML1
- Réarrangements des immunoglobulines et du récepteur des cellules T

Le suivi moléculaire est réalisé sur la moelle et/ou sur le sang selon les mêmes modalités que celles indiquées pour le suivi moléculaire de la leucémie myéloïde chronique<sup>20-21</sup>.

<sup>20</sup> Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) - a Europe against cancer program. [Leukemia. 2003 Dec; 17\(12\): 2474-86](#);

<sup>21</sup> Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. [Leukemia. 2003 Dec; 17\(12\): 2318-57](#).

## 7.3. SYNDROMES LYMPHOPROLIFÉRATIFS

### 7.3.1. La leucémie lymphoïde chronique (LLC)

#### 7.3.1.1 Définition

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est définie comme une prolifération monoclonale d'une population mature de lymphocyte B.

#### 7.3.1.2 Epidémiologie

La LLC est la plus fréquente des leucémies de l'adulte; son incidence annuelle est estimée à 3/100 000 habitants en Europe occidentale ; elle augmente avec l'âge. L'âge moyen au diagnostic est de 65 ans, un tiers des patients ayant moins de 55 ans.

#### 7.3.1.3 Physiopathologie et prise en charge

L'évaluation pronostique conditionnant la mise sous traitement repose sur des critères cliniques, biologiques et thérapeutiques. La classification de Binet reste actuellement pertinente dans tous les cas. La grande majorité ont un stade A. Le choix thérapeutique à l'intérieur de ce groupe hétérogène, globalement de bon pronostic, est conditionnée par des résultats d'examen complémentaires comme la recherche de mutations du locus de la chaîne lourde des immunoglobulines (IGH). La mutation de ce locus signe une transformation se situant après le passage du centre germinatif au cours de l'ontogenèse lymphoïde B. L'absence de mutation suggère un événement oncogénique pré-centre germinatif. L'absence de mutations des IGH est associée à un mauvais pronostic et conduit à une prise en charge thérapeutique des LLC de stade A.

La méthode utilisée consiste en la recherche d'une population clonale des immunoglobulines suivie d'un séquençage<sup>22</sup>.

La séquence est ensuite comparée à des bases de données contenant la liste des séquences germinales identifiées chez l'homme.

### 7.3.2. Les lymphomes - Actualisation 2017

#### 7.3.2.1 Etablissement de la clonalité lymphoïde

Le diagnostic d'un processus lymphomateux est le plus souvent réalisé par l'examen morphologique standard associé à un large panel d'anticorps monoclonaux. Ce diagnostic demeure dans certains cas difficile. Dans ces cas, le diagnostic de certitude passe par la mise en évidence d'une **monoclonalité des réarrangements des immunoglobulines (BCR) et du récepteur des cellules T (TCR)** par biologie moléculaire en amplifiant par PCR la région très polymorphe jonctionnelle propre à chaque lymphocyte. Dans une population de lymphocytes polyclonaux, une multitude de réarrangements différents coexiste sans qu'aucun ne prédomine. En revanche, si la population lymphocytaire est clonale, c'est toujours le même fragment qui est amplifié, ce qui se traduit par l'apparition d'un produit de PCR unique, clonal, détectable sous forme de pic. Cette technique permet aussi de comparer deux clones détectés au cours du suivi chez un même malade ou en même temps dans deux échantillons différents pour détecter, par exemple, une localisation médullaire d'un lymphome ganglionnaire, changeant le stade de la maladie et donc la prise en charge thérapeutique.

<sup>22</sup> Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia* 2003 vol 17 p.2257-2317, *Leukemia* 2007 vol 21 p.1-3.



Les analyses de clonalité B et T peuvent aussi bien être réalisées à partir de liquides biologiques (sang/moelle/liquide céphalorachidien), que de **tissu congelé ou fixé**, mais il existe des impératifs de qualité de l'ADN extraits des blocs fixés et inclus en paraffine, qui doit permettre d'amplifier des fragments de taille suffisante. Certains fixateurs comme le liquide de Bouin sont, par exemple, à proscrire.

### 7.3.2.2 Recherche de réarrangements chromosomiques spécifiques

On sait que certains lymphomes sont associés à des réarrangements chromosomiques récurrents dont l'identification permet une classification plus précise. Ces réarrangements de gènes sont identifiés grâce à des techniques d'hybridation par fluorescence in situ (FISH) sur coupes tissulaires.

Le lymphome de Burkitt représente le principal lymphome B à grandes cellules dont la caractérisation du réarrangement CMYC est nécessaire pour affirmer son diagnostic. La recherche du réarrangement CMYC par FISH sur coupe tissulaire doit être rapide car la prise en charge thérapeutique du lymphome de Burkitt est spécifique et différente de celle du LBDGC NOS.

La nouvelle classification OMS 2016 a identifié deux nouvelles entités : le lymphome B de haut grade avec réarrangements CMYC et BCL2 et /ou BCL6 (lymphome double hit ou triple hit) et le lymphome B de haut grade NOS (absence de réarrangement CMYC et BCL2 et/ou BCL6). Ces deux entités remplacent l'ancien sous type appelé le lymphome B de morphologie intermédiaire entre un lymphome B diffus à grandes cellules et un lymphome de Burkitt.

Le diagnostic du lymphome B de haut grade avec réarrangements CMYC et BCL2 et /ou BCL6 repose sur la mise en évidence par FISH sur coupe tissulaire d'un réarrangement CMYC associé à un réarrangement BCL2 et/ou BCL6. Ce diagnostic doit également être rapide car ayant un pronostic très péjoratif, il implique une intensification thérapeutique.

D'autres lymphomes sont caractérisés par la présence de translocations chromosomiques comme la translocation t(14;18) / IGH-BCL2, dans les lymphomes folliculaires; la translocation t(11;14) / IGH-CCND1, dans les lymphomes du manteau, la translocation t(11 ;18) / API2-MALT et les translocations impliquant le gène ALK sur le chromosome 2 dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules ALK positifs. Leur mise en évidence par FISH sur coupes tissulaires peut être nécessaire pour le typage précis d'un lymphome ou pour certaines indications thérapeutiques (ex. Crizotinib dans les lymphomes anaplasique à grandes cellules ALK+). La détection de ces différents réarrangements de gènes peut également être réalisée sur biopsie liquide par PCR ou RT-PCR au diagnostic la maladie minime sanguine et/ou médullaire et de suivre la maladie résiduelle après traitement. Dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules ALK positifs notamment, la détection d'une dissémination sanguine et/ou médullaire au diagnostic a une valeur pronostique péjorative.

### 7.3.2.3 Recherche de mutations ponctuelles

#### ▶ MYD88 L265P

La mutation MYD88 L265P est présente dans 90-95% des lymphomes lympho-plasmocytaires/maladies de Waldenström, dans 20% à 30% des DLBCL de profil non centre-germinatif et dans plus de 60% des lymphomes cutanés à grandes cellules type jambe.

La mutation MYD88 L265P est recherchée par PCR quantitative sur ADN extrait à partir de tissu inclus et fixé en paraffine pour confirmer le diagnostic de LLP/WD (attention privilégier une décalcification douce à l'EDTA pour les biopsies ostéomédullaires à l'acide chlorhydrique).

#### ▶ BRAF V600E

La mutation *BRAF* V600E est présente dans près de 100% des leucémies à tricholeucocytes et peut être recherchée par PCR quantitative sur ADN extrait à partir de tissu inclus et fixé en paraffine pour confirmer le diagnostic.

## 7.3.2.4 Tableaux de synthèse des tests

## ▶ Recherche de réarrangements chromosomiques par FISH interphasique

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Recherche de réarrangement du gène <i>c-myc</i> dans les lymphomes de Burkitt
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lymphomes de Burkitt</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
•Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH) C-MYC FISH DNA probe, split signal, Sonde SureFISH, AGILENT
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>•<b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>•<b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>•<b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul>
<b>Modalités de fixation</b>
• <b>Tumeur fixée dans le FORMOL et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, pas d'AFA)
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Pr L.Lamant / Dr C.Laurent
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
3 à 5 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 9 : Réarrangement du gène *C-MYC* dans les lymphomes de Burkitt

## UTILE

<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
<b>Recherche de réarrangement des gènes <i>C-MYC</i> et <i>BCL2</i> et/ou <i>BCL6</i> dans les lymphomes B de haut grade</b>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Lymphomes B de haut grade avec réarrangements des gènes <i>C-MYC</i> et <i>BCL2</i> et/ou <i>BCL6</i></li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH) <i>C-MYC</i> FISH DNA probe, split signal, sonde SureFISH Agilent</li> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH) <i>BCL2</i> FISH DNA probe, split signal, code Y5407 DAKO</li> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH) <i>BCL6</i> FISH DNA probe, split signal, code Y5408 DAKO</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tumeur fixée dans le FORMOL et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, pas d'AFA)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Pr L.Lamant / Dr C.Laurent
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
3 à 5 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 10 : Réarrangement des gènes *C-MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6* dans les lymphomes de haut grade avec réarrangements des gènes *C-MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6*

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
<b>Recherche de réarrangement du gène ALK dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules</b>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Lymphomes anaplasiques à grandes cellules</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH) ALK FISH DNA probe, split signal, code. Y5417, DAKO</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tumeur fixée dans le FORMOL et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, pas de fixateurs acides : AFA)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Pr L.Lamant / Dr C.Laurent
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
3 à 5 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 11 : Réarrangement du gène ALK dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
<b>Recherche de réarrangement des gènes BCL2 et/ou BCL6 dans les lymphomes folliculaires</b>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Lymphomes folliculaires</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH) BCL2 ou BCL6 FISH DNA probe, split signal, code. Y5407, code Y5408, DAKO</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tumeur fixée dans le FORMOL et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, pas de fixateurs acides : AFA)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Pr L.Lamant / Dr C.Laurent
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
3 à 5 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 12 : Réarrangement des gènes BCL2 / BCL6 dans les lymphomes folliculaires

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Recherche de réarrangement du gène <i>CCND1</i> dans les lymphomes du manteau
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Lymphomes du manteau</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH) <i>CCND1</i> FISH DNA probe, split signal, code. Y5414, DAKO</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tumeur fixée dans le FORMOL et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, pas de fixateur acide : AFA)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Pr L.Lamant / Dr C.Laurent
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
3 à 5 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 13 : Réarrangement du gène *CCND1* dans les lymphomes du manteau

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Recherche de réarrangement du gène <i>MALT</i> dans les lymphomes de MALT
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR PRONOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Lymphomes de MALT</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH) <i>MALT</i> FISH DNA probe, split signal, code. Y5409, DAKO</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tumeur fixée dans le FORMOL et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, pas de fixateur acide : AFA)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Pr L.Lamant / Dr C.Laurent
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
3 à 5 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 14 : Réarrangement du gène *MALT* dans les lymphomes de MALT

► Recherche de réarrangements chromosomiques par PCR ou RT-PCR

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Recherche de translocation t(14;18) / IGH-BCL2 dans les lymphomes folliculaires
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lymphomes folliculaires</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PCR sur ADN génomique</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• <b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récidive, métastase</li> <li>• <b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur congelée ou à défaut fixée formol et incluse en paraffine</li> <li>• Sang / moelle prélevés sur tube EDTA</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Pr L.Lamant / Dr C.Laurent
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 à 10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 15 : Translocation t (14 ;18) / IGH-BCL2 dans les lymphomes folliculaires

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Recherche de translocation t (11;14) / IGH-BCL1, dans les lymphomes du manteau
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lymphomes du manteau</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PCR sur ADN génomique</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• <b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récidive, métastase</li> <li>• <b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur congelée ou à défaut fixée formol et incluse en paraffine</li> <li>• Sang / moelle prélevés sur tube EDTA</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Pr L.Lamant / Dr C.Laurent
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 à 10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 16 : Translocation t (11 ;14) / IGH-BCL1 dans les lymphomes du manteau

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Recherche de translocation impliquant le gène ALK sur le chromosome 2 dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules ALK positifs
<b>But</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Lymphomes anaplasiques à grandes cellules ALK positifs</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>RT-PCR après extraction d'ARN</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée</li> <li>Sang / moelle prélevés sur tube EDTA</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Pr L.Lamant / Dr C.Laurent
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 à 10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 17 : Translocation ALK / chromosome 2 dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules ALK+

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Recherche de mutation MYD88 L265P dans les lymphomes lympho-plasmocytaires / maladie de Waldenström.
<b>But</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Lymphomes lympho-plasmocytaires / maladie de Waldenström</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>PCR quantitative après extraction d'ADN</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée</li> <li>Tumeur fixée dans le FORMOL et incluse en paraffine</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Pr L.Lamant / Dr C.Laurent
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 à 10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 18 : Mutation MYD88 dans les lymphomes lympho-plasmocytaires / maladie de Waldenström

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Recherche de la mutation V600E du gène BRAF dans les leucémies à tricholeucocytes
<b>But</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Leucémie à tricholeucocytes</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>PCR quantitative après extraction d'ADN</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée</li> <li>Tumeur fixée dans le FORMOL et incluse en paraffine</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Pr L.Lamant / Dr C.Laurent
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 à 10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 19 : Mutation BRAF V600E dans les leucémies à tricholeucocytes

<b>CONTACT</b>	<p>DÉPARTEMENT D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE DU PR BROUSSET, IUCT-ONCOPOLE TOULOUSE PLATEFORME DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE LABÉLISÉE PAR L'INCA <b>Pr Laurence LAMANT</b> ☎ : 05.31.15.65.51 ✉ : <a href="mailto:Lamant.Laurence@iuct-oncopole.fr">Lamant.Laurence@iuct-oncopole.fr</a></p>
----------------	---



### 7.3.3. Le myélome multiple (MM)

Le myélome multiple est une hémopathie lymphoïde B caractérisée par l'accumulation médullaire de plasmocytes tumoraux, occasionnant fréquemment une destruction osseuse. Il s'agit de la seconde hémopathie en termes de fréquence (après les LMNH) et représente 13% des hémopathies et 1% des cancers.

Le bilan biologique du myélome au diagnostic doit désormais inclure la recherche des anomalies cytogénétiques. En effet, il s'agit aujourd'hui d'un élément incontournable dans la définition du pronostic. Compte-tenu de l'avancées récentes des connaissances en terme d'évolution sub-clonale de la maladie, il est désormais préconisé de réaliser ces analyses au moins en première rechute, en particulier si la recherche de facteurs cytogénétiques péjoratifs au diagnostic était négative. Cette analyse cytogénétique est coordonnée par la tumorothèque myélome.

Prélèvement nécessaire : 1 tube de moelle EDTA à bouchon violet (3 à 5mL), prélevé selon la technique des quatre quadrants (accompagné du consentement du patient).

Analyses réalisées :

Recherche par FISH (Fluorescent Hybridation In Situ) sur plasmocytes médullaires purifiés par tri immunomagnétique de la translocation (4;14), de la délétion du bras court du chromosome 17 (del(17p)) et de la délétion du bras court du chromosome 1 (del(1p32)). Ces trois anomalies, qui touchent respectivement environ 15, 10 et 8% des patients atteints de myélome sont associées à un mauvais pronostic. Le reste des cellules (non utilisées pour les analyses cytogénétiques) sont congelées dans la tumorothèque (sanitaire et recherche).

UNITÉ GÉNOMIQUE DU MYÉLOME, IUCT ONCOPOLE TOULOUSE

**Pr H. Avet-Loiseau / Dr J. Corre**

☎ : 05.31.15.61.73

✉ : [corre.jill@iuct-oncopole.fr](mailto:corre.jill@iuct-oncopole.fr)

---

## Chapitre 8 - MÉLANOME

*Dernière actualisation : février 2014*

### Comité

Christine Chevreau

Ignacio Garrido

*Laurence Lamant*

Frédéric Lauwers

Nicolas Meyer

Rolland Viraben

## 8.1. MÉLANOME MÉTASTATIQUE

### 8.1.1. Thérapie ciblée des mélanomes métastatiques : génotypages BRAF/NRAS/KIT

La classification anatomique des mélanomes distingue les formes cutanées (les plus fréquentes), muqueuses, oculaires et leptoméningées.

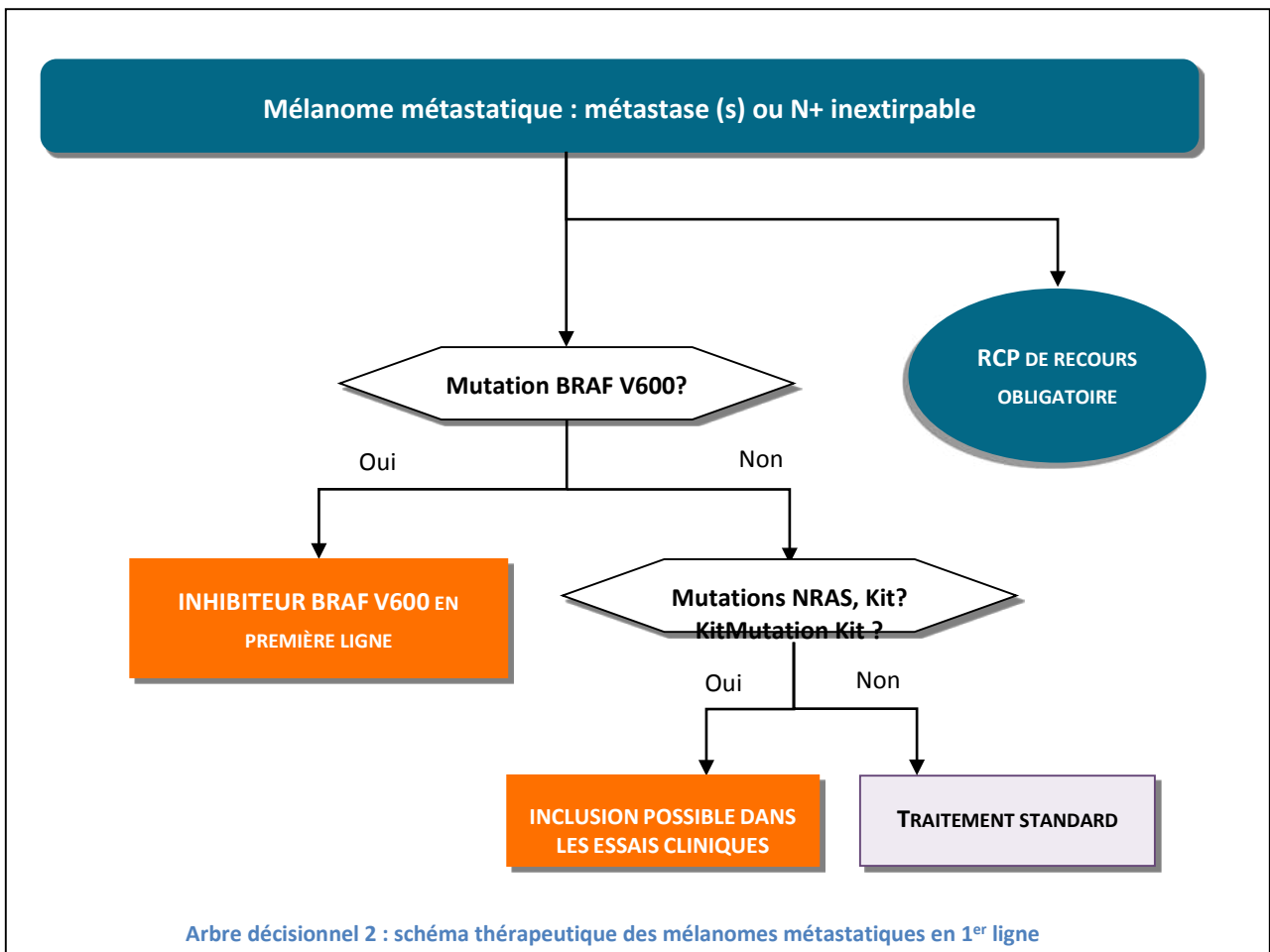
Les mélanomes cutanés se déclinent en mélanomes superficiels extensifs, naevocytoides, acrolentigineux, de Dubreuilh et nodulaires. Cependant, bien que ces mélanomes soient différents en termes de présentation clinique et histopathologique, cette classification n'a aucun intérêt pronostique : à épaisseur de Breslow égale, le pronostic est similaire quelle que soit la forme histologique. Les facteurs pronostiques qui restent déterminants sont l'épaisseur selon l'indice de Breslow, la présence/absence d'une ulcération. La classification AJCC révisée en 2009 tient également compte de l'index mitotique.

Probablement du fait de l'hétérogénéité moléculaire des mélanomes, on ne disposait pas jusqu'à aujourd'hui de traitement ciblé efficace dans le mélanome métastatique. Depuis peu, plusieurs molécules ont été développées, certaines ayant une autorisation de mise sur le marché, d'autres en phases avancées d'essais cliniques. Ces molécules ciblent des anomalies moléculaires des gènes BRAF, c-kit, NRAS, connues dans d'autres types de cancers et les voies de signalisation intra cellulaires en aval.

Il existe donc aujourd'hui des indications d'examen de biologie moléculaire indispensables à la prise en charge thérapeutique puisque ces anomalies moléculaires deviennent des « biomarqueurs émergents » dans le mélanome métastatique et leur screening est un pré-requis à l'éligibilité du patient pour les thérapeutiques émergentes : inhibiteurs de BRAF V600, inhibiteurs de c-Kit, inhibiteurs de MEK 1,2 (Cf. Tableau 20).

MÉLANOME				
BIOMARQUEUR	FONCTION DU BIOMARQUEUR	MOLECULE	AMM / ESSAI CLINIQUE	ACTIVITE DE LA MOLECULE
Mutation BRAF V600	Cible moléculaire	Vemurafenib	AMM 2012	Inhibiteurs de BRAF V600
		Dabrafenib	AMM 2013	
	Prédictif de la réponse	Trametinib	Essai clinique	Inhibiteur de MEK
Mutation / amplification de C-KIT	Cible moléculaire	Imatinib mesylate	Essai clinique	Inhibiteurs de c- KIT
		Nilotinib	Essai clinique	
		Sunitinib	Essai clinique	
Mutation NRAS codons 12, 13, 18 et 61	Prédictif de la réponse	Trametinib	Essai clinique	Inhibiteur de MEK

Tableau 20 : Les biomarqueurs émergents dans le mélanome métastatique



Dans le mélanome, plusieurs thérapies ciblées sont en cours d'essais cliniques de phase III chez les patients porteurs de mutations des gènes BRAF, NRAS ou cKIT et pourraient être disponibles dans un avenir proche. Afin d'anticiper l'arrivée de nouvelles thérapies ciblées et de les rendre disponibles le plus rapidement possible, l'INCa a lancé un programme de détection prospective de ces mutations depuis 2010<sup>23</sup>. L'histogramme ci-dessous fait état de la fréquence de détection des mutations des gènes BRAF, NRAS et KIT dans le mélanome en fonction du sous-type histologique, en l'état actuel de la littérature.

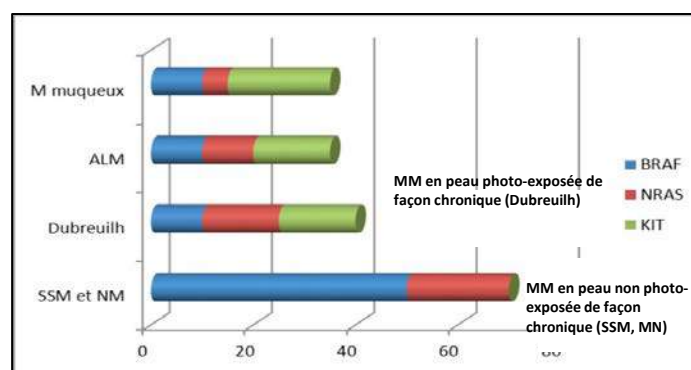


Figure 3 : Fréquence de détection des mutations des gènes BRAF, NRAS et cKit dans le mélanome en fonction du sous-type histologique

<sup>23</sup> « Programme INCa pour la détection prospective des biomarqueurs émergents dans le cancer du poumon, le cancer colorectal et le mélanome : une nouvelle approche pour un accès rapide aux thérapies ciblées » – Juin 2010

## 8.1.2. Tableaux de synthèse des tests

### 8.1.2.1 Génotypage BRAF

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Identification de la mutation BRAF V600 dans les mélanomes métastatiques
<b>BUT</b>
<b>Marqueur thérapeutique pour prescription d'une thérapie ciblant BRAF muté V600</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Mélanome au stade métastatique</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Extraction ADN de la tumeur (avec macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>Amplification par PCR de l'exon 15</li> <li>Génotypage             <ul style="list-style-type: none"> <li>Screening par HRM</li> <li>Si profil variant en HRM : hybridation spécifique d'allèle par Taqman sonde V600E (mutation la plus fréquente)</li> <li>Si hybridation spécifique d'allèle Taqman V600E négative : séquençage pour recherche des autres mutations V600 de BRAF</li> </ul> </li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Type de prélèvement : exérèse chirurgicale ou biopsie</li> <li>Type de tumeur : tumeur primitive ou métastase</li> <li>Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales (&gt;50%)</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée ou fixée et incluse en paraffine (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Plateforme hospitalière de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées, labellisée et soutenue par l'INCa. Responsables : Pr L. Lamant, D. Grand</li> </ul>
<b>Délai de réponse</b>
8 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 21 : Identification de la mutation BRAF V600 dans les mélanomes métastatiques

## 8.1.2.2 Génotypage NRAS

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Identification des mutations des exons 2 (codons 12,13 et 18) et des exons 3 (codon 61) de NRAS dans les mélanomes métastatiques
<b>BUT</b>
<b>ESSAIS CLINIQUES</b>
Inclusion des patients dans des essais cliniques utilisant des inhibiteurs de MEK
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mélanome au stade métastatique</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraction ADN de la tumeur (avec macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>• Amplification par PCR de l'exon 15</li> <li>• Génotypage <ul style="list-style-type: none"> <li>- Screening par HRM sur les exons 2 et 3</li> <li>- Si profil variant en HRM : hybridation spécifique d'allèle par sondes Taqman des mutations les plus fréquentes (Q61K, Q61R, Q61H, Q61L et G12D)</li> <li>- Si hybridation spécifique d'allèle Taqman négative : séquençage pour recherche des autres mutations dans ces exons</li> </ul> </li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• <b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, récidive, métastase</li> <li>• <b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales (&gt; 50% CT si possible)</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Tumeur congelée ou fixée et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Pr L.Lamant
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 à 10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 22 : Identification des mutations des exons 2 (codons 12,13 et 18) et des exons 3 (codon 61) de NRAS dans les mélanomes métastatiques

## 8.1.2.3 Génotypage KIT

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Identification des mutations des exons 8, 9, 11, 13 et 17 de KIT dans les mélanomes métastatiques
<b>BUT</b>
<b>ESSAIS CLINIQUES</b>
Inclusion des patients dans des essais cliniques utilisant des inhibiteurs de KIT
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mélanome au stade métastatique</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraction ADN de la tumeur (avec macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>• Amplification ADN par PCR</li> <li>• Génotypage <ul style="list-style-type: none"> <li>- Screening par HRM sur les différents exons</li> <li>- Si profil variant en HRM : séquençage</li> </ul> </li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• <b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive, métastase</li> <li>• <b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales (&gt; 50% CT si possible)</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Tumeur congelée ou fixée et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Pr L.Lamant
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 23 : Identification des mutations des exons 8, 9, 11, 13 et 17 de KIT dans les mélanomes métastatiques

---

## Chapitre 9 - NEUROLOGIE

*Dernière actualisation : février 2014*

### Comité

Alexandra Benouaich-Amiel

Vincent Lubrano

Elisabeth Moyal

Henri Roché

Jean Sabatier

*Emmanuelle Uro-Coste*



## 9.1. GÉNOTYPAGE UTILE À VISÉE THÉRAPEUTIQUE, DIAGNOSTIQUE ET PRONOSTIQUE

### 9.1.1. La recherche de la co-délétion 1p19q à visée thérapeutique

La co-délétion 1 p19q doit être recherchée dans tous les gliomes infiltrants de grade 3. En effet, les patients porteurs de la co-délétion 1p 19q bénéficient d'un traitement par PCV et radiothérapie et ceux qui en sont dépourvus n'ont aucun bénéfice avec le PCV et sont donc traités par Temodal et radiothérapie.

L'INCa a mis en place le réseau tumeurs rares [POLA](#) pour que tous les patients sur le territoire national puissent bénéficier gratuitement de l'analyse 1p19q par la technique la plus fiable qui est le CGH array. Tous les patients porteurs de gliome grade 3 doivent donc être déclarés au réseau POLA et bénéficier de cette analyse. Pour des questions pratiques sur le réseau POLA, contacter le Pr Emmanuelle Uro-Coste.

#### CONTACT

DÉPARTEMENT D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE DU PR BROUSSET, IUCT-ONCOPOLE TOULOUSE

PLATEFORME DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE LABÉLISÉE PAR L'INCA

**Pr Emmanuelle Uro-Coste**

☎ : 05.31.15.65.51

✉ : [uro-coste.emmanuelle@iuct-oncopole.fr](mailto:uro-coste.emmanuelle@iuct-oncopole.fr)

### 9.1.2. La recherche de la co-délétion 1p19q à visée diagnostique et pronostique

Cette recherche peut s'avérer utile dans plusieurs cas :

- ▶ **dans les gliomes de grade 2** : les tumeurs porteuses de la délétion 1p19q ont **un meilleur pronostic avec une survie plus longue** que les gliomes dépourvus de la co-délétion. Cependant, il n'y **pas de conséquence de ce critère sur la thérapeutique appliquée au patient**.

NB : dans ce groupe des gliomes infiltrants de grade 2, la surexpression de p53 exclue pratiquement la présence de la co- délétion 1p19q.

- ▶ devant un gliome ayant un contingent oligodendrogial ou une inflexion morphologique oligodendrogliale incomplète. La présence de la co-délétion 1p19q permet **d'affirmer formellement le diagnostic d'oligodendrogliome**.

En revanche, son absence ne permet pas d'éliminer le diagnostic d'oligodendrogliome.

Deux techniques sont disponibles pour la recherche de cette perte chromosomique :

- ▶ la technique FISH sur coupe en paraffine, coupes au cryostat ou appositions. Cette technique est réalisée à l'IUCT Oncopole. Il faut alors envoyer un bloc en paraffine représentatif de la tumeur.

- ▶ une technique par PCR, la LOH, qui nécessite la comparaison de l'ADN tumoral avec l'ADN du sang du patient. Cette technique a été temporairement stoppée au CHU mais pourrait reprendre prochainement à l'IUC. Elle serait alors mise à disposition pour les établissements extérieurs dans le cadre de la [tumorothèque régionale ONCOMIP](#) (voir dispositif prévu dans l'annexe de fonctionnement de la tumorothèque régionale et sur le site ONCOMIP).

INDISPENSABLE		UTILE	
<b>ANOMALIE MOLECULAIRE</b>			
<b>Recherche de la co-déletion d'1p19q</b>			
<b>BUT</b>			
<b>Tous les gliomes de grade 3</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Présence co-déletion 1p19q : traitement PCV radiothérapie</li> <li>Absence co-déletion 1p19q : traitement par Témodal Radiothérapie</li> </ul>		<b>Marqueur diagnostique et pronostique pour identifier les oligodendrogliomes et un groupe de tumeurs cérébrales ayant un pronostic favorable dans les gliomes infiltrants de grade 2</b>	
<b>INDICATIONS</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>gliomes infiltrants de grade 3</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>gliomes de grade 2</li> </ul>	
<b>TECHNIQUE</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>Technique en CGH array pour les gliomes de grade 3 dans le réseau InCa POLA</li> <li>Technique FISH avec sondes Vysis sur coupes en paraffine pour les gliomes de grade 2 ne surexprimant pas la protéine p53</li> </ul>			
<b>MODALITES DE PREPARATION DU MATERIEL TUMORAL</b>			
<b>Modalités de prélèvement</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : Exérèse chirurgicale ou Biopsie (matériel suffisant et de qualité adéquate pour biologie moléculaire)</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : bloc riche en cellules tumorales</li> </ul>			
<b>Modalités de fixation</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Technique CGH array</b> : tumeur congelée idéalement ou par défaut 5 coupes épaisses de 20µ à partir du bloc en paraffine.</li> <li><b>Technique FISH</b> : tumeur fixée formol et incluse en paraffine uniquement (non réalisable sur tissu congelé): fournir le bloc en paraffine et la lame colorée correspondante sur laquelle la zone d'intérêt est entourée au feutre dans un cercle de 5 mm de diamètre au maximum. Eviter une fixation prolongée &gt;48h</li> </ul>			
<b>LABORATOIRE</b>			
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Plateforme hospitalière de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées, labellisée et soutenue par l'INCa Responsable : Pr E. Uro-Coste			
<b>DELAI DE REPONSE</b>			
10 jours à 1 mois			

Tableau 24 : Recherche de la co-déletion d'1p19q

### 9.1.3. Génotypage utile à visée pronostique : méthylation du gène MGMT

La méthylation du promoteur du gène MGMT (Methyl Guanine Methyl Transférase) est également **un facteur pronostique intéressant**, en particulier dans les glioblastomes. Cependant, en dehors d'essais cliniques, elle n'est pas utilisée pour orienter la thérapeutique. Certains oncologues ont proposé de ne pas prescrire de Temozolomide chez les patients très âgés dont la tumeur n'est pas méthylée.

Les tumeurs méthylées sont statistiquement associées à un meilleur pronostic, mais il existe une importante variabilité à l'échelon individuel. Cette technique est disponible à l'IUCT Oncopole et pour les établissements extérieurs dans le cadre de la [tumorothèque régionale ONCOMIP](#) (voir dispositif prévu dans l'annexe de fonctionnement de la tumorothèque régionale et sur le site ONCOMIP).

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Méthylation du gène MGMT
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR PRONOSTIQUE</b>
Marqueur pronostique pour identifier un groupe de patient à réponse thérapeutique favorable
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Glioblastomes</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
Pyroséquencage
<ul style="list-style-type: none"> <li>Extraction ADN de la tumeur (macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>Bissulfitation, amplification ADN et pyroséquencage</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul>
<b>Modalités de fixation</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tumeur fixée et incluse en paraffine ou tumeur congelée</b></li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Pr E.Uro-Coste
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
1 à 3 semaines

Tableau 25: Méthylation du gène MGMT

#### 9.1.4. Autres examens utiles

- ▶ **Les mutations ponctuelles dans les gènes IDH1 et IDH2 sont associées à des gliomes de meilleur pronostic.** Un anticorps commercial a été conçu pour marquer spécifiquement la protéine mutante IDH1 avec mutation R132H. Cette mutation IDH1R132H est très largement majoritaire : elle est retrouvée dans la grande majorité des gliomes de bas grade. La présence d'une mutation IDH1 ou IDH2 dans un glioblastome indique un meilleur pronostic. Les mutations minoritaires d'IDH1 et IDH2 peuvent être recherchées par biologie moléculaire. Cette technique n'est pas encore de pratique courante.
- ▶ Pour **les médulloblastomes**, la recherche d'une amplification de c-MYC et N-MYC émerge actuellement comme **un facteur pronostique péjoratif** entraînant une intensification thérapeutique dans le cadre d'essais cliniques. Ces examens sont réalisés à l'Institut Curie à Paris par l'équipe du Dr Olivier Delattre.

**C O N T A C T**

UNITÉ DE GÉNÉTIQUE SOMATIQUE INSTITUT CURIE

26 Rue d'Ulm - 75005 Paris

**Pr Olivier Delattre**

☎ : 01.56.24.55.00

✉ : [olivier.delattre@curie.fr](mailto:olivier.delattre@curie.fr)

## Chapitre 10 - ORL

# ACTUALISATION2017

*Dernière actualisation : Octobre 2017*

### Comité

Béatrice Barres

Jean Pierre Delord

Michel Rives

Jérôme Sarini

Victor Sarradin

*Emmanuelle Uro-Coste*

Sébastien Vergez

**Dans ce chapitre, nous présentons les tumeurs de la tête et du cou selon l'OMS 2017, avec les outils diagnostiques complémentaires disponibles sur la plate-forme de biologie moléculaire du CHU de Toulouse (immunohistochimie, cytogénétique ou biologie moléculaire).**

## 10.1. CARCINOMES ÉPIDERMOÏDES DE L'OROPHARYNX HPV+

Le carcinome épidermoïde non kératinisant HPV+ de l'oropharynx (amygdale +++) apparait comme une nouvelle entité dans la classification OMS 2017 des tumeurs de la tête et du cou. Les patients porteurs d'un carcinome oropharyngé HPV+ sont typiquement des hommes blancs, de niveau socio-économique élevé. L'âge médian est de 50-56 ans, avec un sex ratio homme/femme de 4 : 1. Dans les cancers amygdaliens, la présence d'un HPV à haut risque est détectée dans 50 à 70% des cas.

L'implication de l'HPV est reconnue et doit être recherchée dans les carcinomes oropharyngés car la présence du virus est associée à un meilleur pronostic et module donc les décisions thérapeutiques.

### 10.1.1. Diagnostic de la tumeur primitive

Il est nécessaire d'effectuer un immunomarquage anti-p16 pour tous les carcinomes épidermoïdes oropharyngés. L'OMS 2017 reconnaît que l'immunohistochimie p16 peut se substituer à l'hybridation in situ HPV car la sensibilité de p16 pour détecter l'infection HPV dans cette localisation oropharyngée est suffisante. Devant un carcinome épidermoïde p16+, l'OMS 2017 autorise donc à conclure « Carcinome associé à HPV ». Ceci n'est pas vrai pour les autres localisations des carcinomes épidermoïdes des VADS où la sensibilité et la spécificité de p16 sont insuffisantes.

P16+ signifie un marquage intense +++ sur plus de 90% des cellules tumorales.

Il est donc très important de calibrer l'intensité de l'immunohistochimie p16 par des tests de qualité pour ne pas méconnaître une surexpression de p16 (si anticorps p16 trop dilué par exemple). En cas de doute, il ne faut pas hésiter à refaire la technique et/ou une hybridation HPV haut risque. Adresser un bloc représentatif au CHU est tout à fait possible pour réaliser ces techniques.

### 10.1.2. Métastases ganglionnaires cervicales de carcinome épidermoïde sans primitif identifié

Les carcinomes oropharyngés HPV+ se présentent souvent à des stades avancés, avec en général une petite tumeur primitive et une invasion lymphatique.

On considère qu'un tiers des carcinomes oropharyngés sont découverts lors de l'apparition de métastases ganglionnaires kystiques. Ces métastases ganglionnaires sont le plus souvent retrouvées dans les aires ganglionnaires II (jugulo-carotidienne supérieure : sous le muscle sterno-cléido mastoïdien de la base du crane jusqu'à l'os hyoïde) et III (jugulo-carotidienne moyenne : sous le sterno-cléido mastoïdien depuis l'os hyoïde jusqu'au cartilage cricoïde).

L'examen immunohistochimique p16 doit être systématiquement réalisé devant une métastase ganglionnaire cervicale d'un carcinome de primitif inconnu.

## 10.2. CARCINOMES NASOPHARYNGÉS (ASSOCIÉS À EBV)

### 10.2.1. Diagnostic

Tous les carcinomes de localisation nasopharyngée, quelle que soit leur morphologie doivent être testés par hybridation in situ avec les sondes EBER, à l'exclusion de toute autre technique (l'anticorps LMP1 ou l'anticorps dit anti EBV ne sont pas les outils appropriés).

Les implications du diagnostic de carcinome nasopharyngé, associé à EBV sont majeures : pas de chirurgie mais traitement très efficace par radio-chimiothérapie.

### 10.2.2. Métastases ganglionnaires cervicales de carcinome sans primitif identifié

Toutes les métastases ganglionnaires cervicales de carcinome sans primitif identifié doivent être testées par hybridation in situ EBER à l'exclusion de celles qui sont p16 positives. En effet le caractère HPV/p16+ est exclusif du caractère EBV +. Les métastases ganglionnaires révélatrices de carcinome nasopharyngé associé à EBV sont assez fréquentes car la tumeur pharyngée peut rester longtemps peu symptomatique.

## 10.3. CARCINOMES NASO-SINUSIENS

### 10.3.1. Nouveautés de la classification OMS 2017

#### Nouvelle classification OMS 2017

- ▶ Carcinome épidermoïde
  - Carcinome épidermoïde kératinisant (et ses variantes)
  - Carcinome épidermoïde non-kératinisant schneidérien
  - Carcinome adénoïde kystique – *like* HPV+ **Nouveauté OMS 2017**
- ▶ Adénocarcinome
  - Type salivaire
  - Type non salivaire
    - ITAC (Adénocarcinome de type intestinal)
    - Adénocarcinome de bas grade
    - Adénocarcinome primitif mimant un adénocarcinome rénal à cellules claires **Nouveauté OMS 2017**
- ▶ Carcinome neuroendocrine
- ▶ Carcinome indifférencié
  - Carcinome NUT+ **Nouveauté OMS 2017**
  - Carcinome INI-1 déficient **Nouveauté OMS 2017**
  - Carcinome indifférencié naso-sinusien (SNUC) : c'est un diagnostic d'élimination.

### 10.3.2. Carcinome naso-sinusien adénoïde kystique HPV+

La présence d'HPV, démontrée en hybridation in situ et/ou PCR, est un élément indispensable au diagnostic. Il s'agit le plus souvent d'HPV de phénotypes particulier : HPV33 ou HPV35.

Dans cette topographie, l'expression de p16 est fréquente et souvent intense dans des proliférations sans lien avec HPV. L'immunomarquage avec l'anti-p16 n'est donc pas un test suffisant pour affirmer la présence du virus (HIS ou PCR).

A noter pour cette entité a un pronostic bien plus favorable que le carcinomes adénoïde kystique et que la translocation MYB-NFIB, caractéristique du carcinome adénoïde kystique n'est jamais retrouvée.

Tous les carcinomes adénoïdes kystiques de localisation sino-nasale doivent être testés par hybridation in situ HPV haut risque ou typés par PCR HPV.

Le pronostic et donc les modalités thérapeutiques seront tout à fait différents d'un carcinome adénoïde kystique.

### 10.3.3. Carcinome de la ligne médiane NUT+

#### ▶ Immunohistochimie

- Le seul anticorps nécessaire pour le diagnostic positif est l'anti-NUT (NUclear in Testis).
- Cette IHC est très sensible (87%) et spécifique (100%) pour détecter un réarrangement du gène NUT.
- Il est maintenant admis qu'un marquage nucléaire diffus de plus de 50% des noyaux permet de retenir le diagnostic sans avoir à rechercher le réarrangement par des techniques complémentaires.

#### ▶ Cytogénétique :

- Le carcinome de la ligne médiane NUT+ est caractérisé par la présence du réarrangement du gène de la protéine NUT au niveau du chromosome 15q14 avec le gène BRD4 au niveau du chromosome 19p13 (et dans un tiers des cas avec BRD3 ou d'autres partenaires).
- La translocation t(15 ;19)(q14 :p13) aboutit à une protéine chimérique de fusion BRD4-NUT qui bloque la différenciation épithéliale.
- La translocation pourra être mise en évidence par technique FISH ou bien par RT-PCR.

Même si l'exploration de la nature de la translocation n'est pas nécessaire au diagnostic, il est fortement recommandé de la réaliser, afin de pouvoir proposer dans un futur proche une thérapeutique ciblée au malade.

Les patients doivent être enregistrés dans la base de données internationale : [www.nmcregistry.org](http://www.nmcregistry.org)

Des essais cliniques ont déjà été réalisés et d'autres sont en projet.

### 10.3.4. Carcinome INI-1 déficient

La mise en évidence de la déficience de INI-1 (SMARCB1) peut se faire de plusieurs manières :

- L'immunohistochimie utilisant l'anticorps anti-INI-1 reste le gold standard. Il s'agit d'une technique peu onéreuse, sensible et très spécifique (perte d'expression dans les noyaux tumoraux, alors que les cellules endothéliales des vaisseaux ont une expression nucléaire préservée et servent de témoin positif interne)
- On peut aussi utiliser la technique FISH à l'aide d'une sonde mettant en évidence la délétion ciblant le gène SMARCB1 sur le chromosome 22.

Il s'agit d'une entité tumorale rare, assez agressive et encore en cours de caractérisation.

### 10.3.5. Adénocarcinome primitif mimant un adénocarcinome rénal

L'adénocarcinome primitif mimant un adénocarcinome rénal (à cellules claires) est une entité très rare et indolente. Le diagnostic différentiel avec la métastase d'un adénocarcinome rénal se pose vraiment, mais les anticorps PAX8, RCC, et vimentine restent négatifs et l'on ne retrouve pas de primitif rénal.

---

## 10.4. TUMEURS DES TISSUS MOUS : PROBLÈMES DIAGNOSTIQUES DANS LA LOCALISATION TÊTE ET COU

---

### 10.4.1. Variante adamantinoïde du sarcome d'Ewing

La tumeur appelée « variante adamantinoïde du sarcome d'Ewing/ PNET » figure dans la nouvelle classification OMS 2017. C'est un problème de diagnostic différentiel particulièrement difficile en ORL. En effet, c'est une forme de sarcome d'Ewing qui ressemble morphologiquement à un carcinome avec différenciation épidermoïde avec une positivité diffuse de la cytokératine, de la p63 et de la p40. Cette tumeur a d'abord été décrite dans les os longs en 1999 (Bridge, 1999) et doit son nom à sa ressemblance avec l'adamantinome.

Au moindre doute, dans un carcinome sino-nasal, il faut réaliser une immunohistochimie avec l'anticorps anti-CD99 +/- une FISH à la recherche d'un remaniement de EWSR1.



Cette variante partage avec la forme classique du sarcome d'Ewing les mêmes anomalies génétiques et la même agressivité locale, avec souvent un envahissement osseux et une infiltration périnerveuse.

**Le traitement est radicalement différent d'un carcinome.**

▶ **Immunohistochimie :**

On observe comme dans le sarcome d'Ewing classique une positivité diffuse membranaire du CD99, mais aussi de la cytokératine, de la p63 et de la p40.

▶ **Biologie moléculaire :**

On retrouve un réarrangement d'EWSR1 en FISH, avec comme transcrits de fusion en RT-PCR, EWS-FLI1 ou EWS-ERG.

▶ **Diagnostic différentiel :**

- Carcinome épidermoïde : CD99-
- Carcinome de type NUT : NUT+ en IHC, et réarrangement du gène NUT en FISH.
- Carcinome myoépithélial : CD99-, PS100+, AML+
- Carcinome myoépithélial à cellules claires : positivité d'au moins un marqueur immunohistochimique myoépithélial (AML, GFAP, PS100...). Attention, présence possible d'un réarrangement d'EWSR1 (comme le sarcome d'Ewing), mais partenaire de fusion du gène EWSR1 différents (à rechercher en RT-PCR)
- D'autres tumeurs à cellules claires des cavités naso-sinusiennes peuvent présenter un réarrangement d'EWSR1, et il faut penser dans certains cas difficiles à rechercher les partenaires de fusion du gène EWSR1 par RT-PCR (Carcinome hyalinisant des glandes salivaires, par exemple).

#### 10.4.2. Glomangiopericytomes

Tumeurs ubiquitaires des tissus mous, le site de prédilection des glomangiopéricytomes est sino-nasal. Des recherches récentes ont montré des mutations récurrentes de gène de la beta caténine, (CTNNB1). Elles se dépitent par l'accumulation nucléaire de la protéine que l'on peut mettre en évidence par l'immunohistochimie avec l'anticorps anti-béta-caténine. Elles peuvent être confirmées par séquençage.

---

## 10.5. TUMEURS DES GLANDES SALIVAIRES

---

Ces dernières années, les avancées scientifiques ont porté sur la caractérisation d'anomalies moléculaires dans les tumeurs des glandes salivaires. Ces remaniements chromosomiques sont pathognomoniques d'un type tumoral au sein des tumeurs des glandes salivaires et constituent de véritables signatures moléculaires. Leur seule faiblesse est qu'elles ne sont pas présentes dans 100% des cas d'une entité tumorale.

L'absence d'une signature moléculaire n'exclut donc pas le diagnostic suspecté.

Les altérations moléculaires décrites dans les tumeurs des glandes salivaires sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tumeur maligne (par ordre de fréquence)	Fréquence approximative de la tumeur	Gène spécifique transloqué	Fréquence de l'altération moléculaire	Réf biblio première description
<b>Carcinome muco-épidermoïde</b>	30%	MAML2 avec CRTC1, 2, ou 3	30 à 50 % selon les séries	<i>Behboudi et al. Genes, chromosomes &amp; cancer 45:470-481 (2006)</i>
<b>Adénocarcinome polymorphe de bas grade</b>	8%	PRKD1 (mutations et non fusion)	70%	<i>Weinreb et al. Nature Genetics 46:1166-1169 (2014)</i>
<b>Carcinome adénoïde Kystique</b>	5%	NFIB avec MYB, MYBL1 ...	35 à 80% selon les séries	<i>Persson et al. PNAS 106 : 18740-18744 (2009)</i>
<b>Carcinome sur adénome pléomorphe</b>	5 %	PLAG1 (signe également les adénomes pléomorphes non transformés)	60%	<i>Martins et al. Modern Pathology 18 : 1048-1055 (2005)</i>
<b>MASC</b> Carcinome salivaire analogue au carcinome mammaire sécrétant	? (nouvelle entité)	ETV6 avec NTRK3 ....	>90%	<i>Skalova et al. Am J Surg Pathol 34:599-608 (2010)</i>
<b>CATS</b> Cribriform adenocarcinoma of the tongue and other salivary sites	? (nouvelle entité)	PRKD1, PRKD2 ou PRKD3	? (nouvelle entité)	<i>Weinreb et al. Genes, chromosomes &amp; cancer 53:845-856 (2014)</i>
<b>Carcinome hyalinisant</b> Ex Carcinoma hyalinisant à cellules claires	? (nouvelle entité) Tumeur rare	EWSR1 avec ATF1	80%	<i>Antonescu et al. Genes, chromosomes &amp; cancer 50:559-570 (2011)</i>

Tableau 26 : Tumeurs des glandes salivaires et leurs signatures moléculaires.

Toutes ces signatures moléculaires sont disponibles sur la plate-forme de biologie moléculaire du département d'anatomie et Cytologie Pathologiques du CHU de Toulouse à l'IUC-Oncopole.

## 10.6. TABLEAUX DE SYNTHÈSE DES TESTS

### 10.6.1. Amplification EBV

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Amplification du gène <i>EBV</i>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE du carcinome nasopharyngée</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinomes nasopharyngés</li> <li>• Métastases ganglionnaires cervicales de carcinome sans primitif identifié (<b>exclu p16+</b>)</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH) <b>EBER</b>, sonde break-apart</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Pr E.Uro-Coste
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 27 : Diagnostic des carcinomes nasopharyngés associés à l'EBV

## 10.6.2. Détection HPV

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Présence d' <i>HPV</i>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinomes naso-sinusien adénoïdes kystiques</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH) <i>HPV Haut risque</i> ou PCR HPV</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Pr E.Uro-Coste
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 28 : Diagnostic des carcinomes naso-sinusiens adénoïde kystique HPV+

### 10.6.3. Réarrangement du gène de la protéine NUT

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Réarrangement du gène de la protéine NUT / Translocation t(15 ;19)(q14 :p13)
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinomes de la ligne médiane</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH) <b>NUT</b> ou RT-PCR</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Pr E.Uro-Coste
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 29 : Translocation t(15 ; 19) (q14 :p13)

### 10.6.4. Recherche du réarrangement du gène EWSR1

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Réarrangement du gène <i>EWSR1</i>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE de la variante adamantinoïde du sarcome d'Ewing</b>
<b>INDICATIONS</b>
•
<b>Techniques</b>
• Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH), sonde break-apart
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<b>Modalités de prélèvement</b>
• Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale
• Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase
• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales
<b>Modalités de fixation</b>
• Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Pr E.Uro-Coste
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 30 : Réarrangement du gène EWSR1

## 10.7. CONCLUSION

Toutes les nouvelles entités tumorales sino-nasales et tous les carcinomes des glandes salivaires sont considérés comme rares et **leur relecture est assurée gratuitement dans le cadre du réseau REFCORPath** par le Pr Emmanuelle Uro-Coste. Des outils spécifiques (immunohistochimie, hybridation in situ, biologie moléculaire) et la connaissance des nouvelles entités sont en effet souvent nécessaires à ces diagnostics. **Les implications thérapeutiques sont majeures pour la prise en charge des patients.**

## Chapitre 11 - PATHOLOGIE DIGESTIVE

*Dernière actualisation : février 2014*

### Comité

Yann Bergé

Nicolas Carrere

Corinne Couteau

Jean-Pierre Duffas

Rosine Guimbaud

Guillaume Portier

Frédérique Savagner

*Janick Selves*

## 11.1. CANCER COLORECTAL

### 11.1.1. Diagnostic du syndrome de Lynch : test MSI /génotypage BRAF/méthylation promoteur MLH1

Le syndrome HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer) également appelé syndrome de Lynch, se caractérise par une prédisposition génétique au développement de cancers dits du « spectre HNPCC » : cancers colorectaux et de l'endomètre et d'autres tumeurs avec un risque plus faible (voies urinaires hautes, voies biliaires, estomac, ovaire).

A ce jour, en France, le dépistage du syndrome HNPCC repose sur une stratégie en deux étapes :

- ▶ **1er étape : sélection des patients sur des critères cliniques et familiaux larges**
  - présence d'antécédents tumoraux personnels et familiaux (1er degré) du spectre HNPCC
  - âge de survenue du cancer inférieur à 60 ans
- ▶ **2ème étape : screening tumoral**

Le screening tumoral est un élément clé dans la stratégie de dépistage. Il consiste à mettre en évidence une instabilité microsatellitaire dans la tumeur et à guider la recherche de mutations germinales vers le gène atteint grâce à l'immunohistochimie.

En effet, le syndrome HNPCC est lié à une mutation constitutionnelle d'un des gènes codant pour des protéines (MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2) impliquées dans la réparation des erreurs de mésappariements de l'ADN (protéines du système MMR ou « Mismatch Repair »). Lors d'un dysfonctionnement de ce système, l'accumulation des anomalies entraîne une instabilité du génome, en particulier au niveau de séquences d'ADN répétées en tandem : les microsatellites.

Le phénotype MSI ou RER (Replication Error) constitue donc un indicateur du syndrome HNPCC (l'absence de MSI est en nette défaveur d'un syndrome de Lynch). Néanmoins, le résultat de ce test tumoral est insuffisant à lui seul pour affirmer le syndrome HNPCC (existence de cancers colorectaux sporadiques MSI) et une évaluation oncogénétique doit être effectuée.

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, la recherche d'instabilité microsatellitaire est réalisée selon la stratégie proposée dans l'arbre décisionnel ci-dessous.

La recherche de mutations constitutionnelles (germinales) est effectuée sur les leucocytes sanguins. Cette recherche est toujours réalisée dans le cadre d'une consultation d'oncogénétique par un laboratoire agréé (Cf. contacts ci-dessous).

#### CONTACTS

CONSULTATION D'ONCOGENETIQUE

**Pr Rosine Guimbaud**

IUCT Oncopole Toulouse

☎ : 05.31.15.52.21

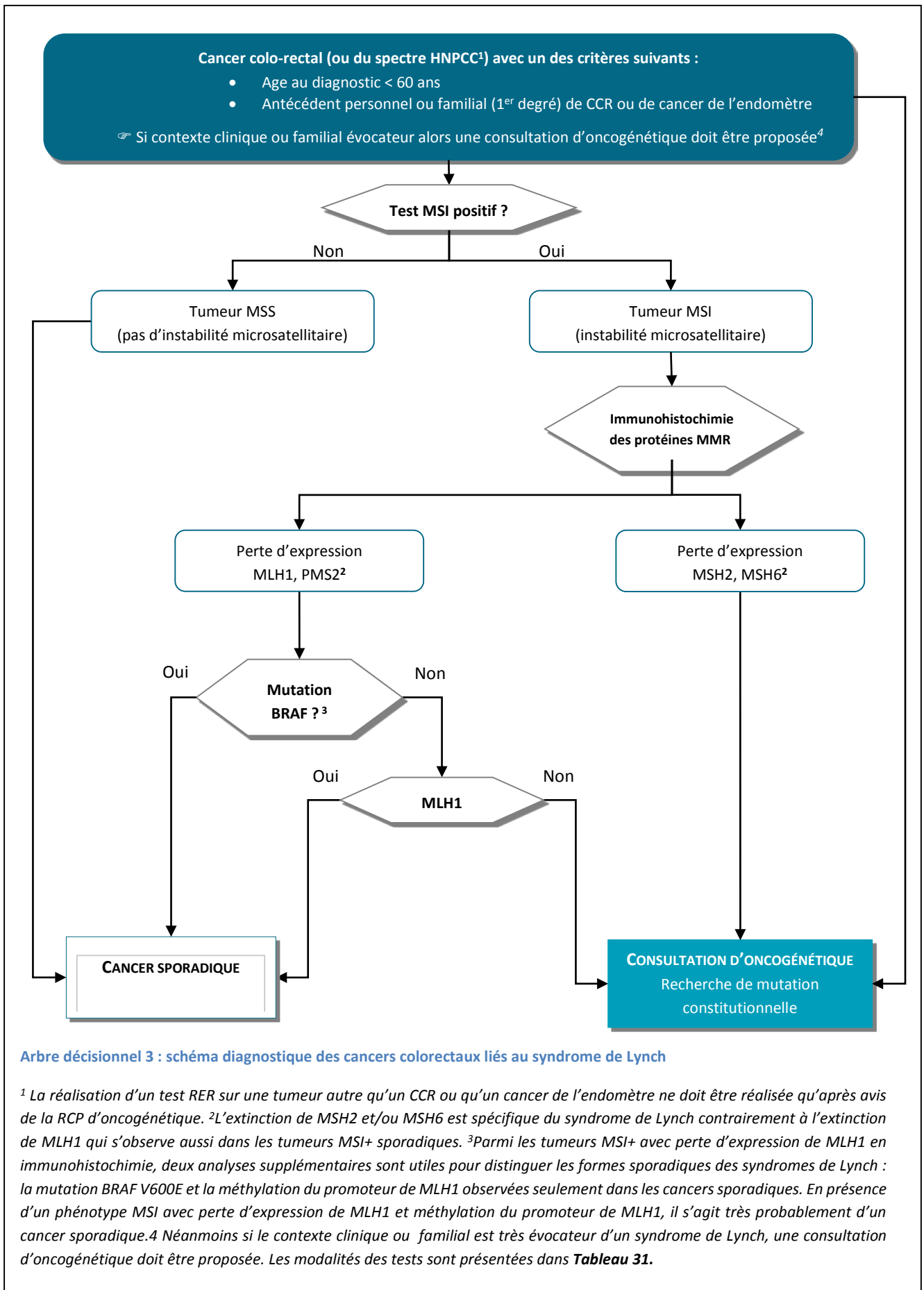
LABORATOIRE D'ONCOGENETIQUE

**Dr Gilles Favre & Christine Toulas**

IUCT Oncopole Toulouse

☎ : 05.31.15.52.20



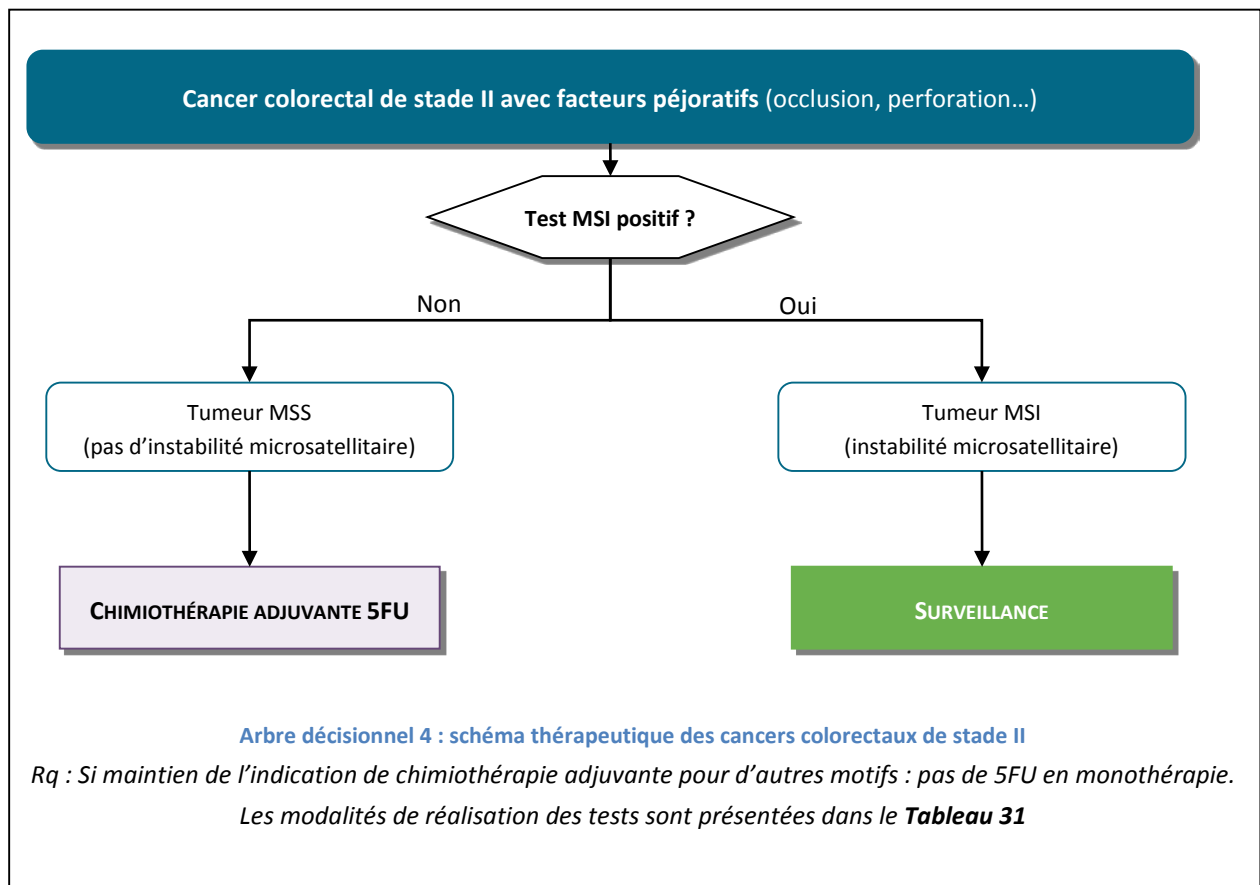


### 11.1.2. Traitement adjuvant des cancers colorectaux de stade II : test MSI

Bien que non recommandée pour l'ensemble des CCR de stade II, la chimiothérapie adjuvante est préconisée dans certains cas reconnus à plus haut risque (T4, occlusion, perforation...). Le schéma proposé peut alors se limiter à du 5FU seul.

Dans le cas des tumeurs présentant une instabilité microsatellitaire (MSI+), compte-tenu d'une part de leur meilleur pronostic et d'autre part de l'effet délétère démontré du 5FU en monothérapie en adjuvant, seule une surveillance est préconisée.

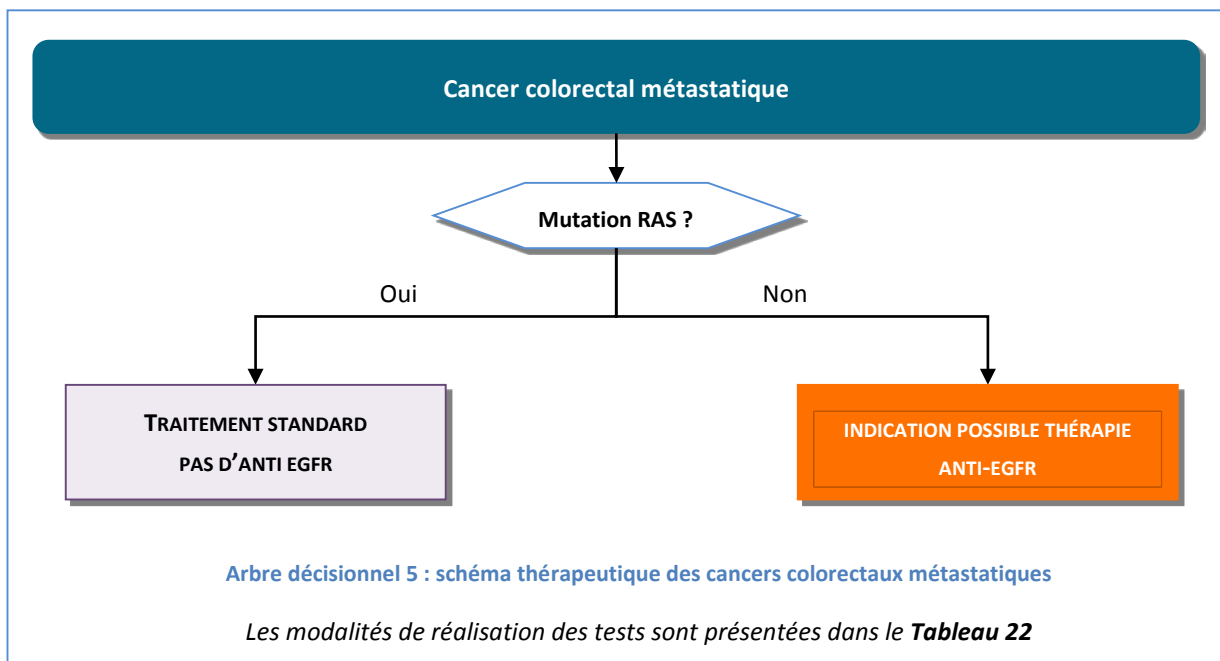
La recherche d'instabilité microsatellitaire chez les patients de stade II, chez qui un traitement adjuvant est envisagé, est donc nécessaire à la décision thérapeutique.



### 11.1.3. Thérapie ciblée des cancers colorectaux métastatiques : génotypage RAS/BRAF

Deux anti-EGFR (cetuximab / Erbitux® et panitumumab / Vectibix®) sont disponibles dans le traitement des CCR métastatiques. Leur prescription était initialement conditionnée par l'absence de mutation de l'exon 2 (codon 12 et 13) du gène K-RAS dans la tumeur. En 2013, le ciblage thérapeutique des anti-EGFR dans le CCR métastatique a connu une nouvelle avancée significative avec la validation de l'impact prédictif d'autres mutations situées sur les gènes KRAS et NRAS. En effet, des travaux récents réalisés chez des patients chimio-réfractaires traités par Panitumumab seul et en première ligne traités par FOLFOX + panitumumab (étude PRIME) ou FOLFIRI + cetuximab (étude FIRE-3) ont permis de démontrer que la présence d'autres mutations KRAS (exon 3 : codon 61, exon 4 : codons 117 et 146) retrouvées chez environ 10% des patients et de mutations du gène NRAS (exon 2 : codons 12, 13, exon 3 : codon 61, exon 4 : codons 117 et 146), retrouvées chez environ 6%, étaient également prédictives de la non efficacité du traitement (17, Heinemann J, ESMO 2013 abst. 17).

En conséquence, les AMM de ces deux thérapies anti-EGFR (panitumumab et cetuximab) ont été modifiées respectivement en juillet et décembre 2013. Il est précisé que la détermination du statut mutationnel RAS de type sauvage (exons 2, 3 et 4 du KRAS et du NRAS) est impérative avant l'instauration d'un tel traitement.



#### 11.1.4. Programme INCa de détection prospective des biomarqueurs émergents

La mutation BRAF V600E (représentant 5% à 10% des CCR parmi les tumeurs KRAS non mutées) est un facteur pronostique péjoratif, surtout dans le CCR métastatique. Son rôle prédictif de non réponse aux anti-EGFR n'est en revanche pas encore clairement établi : sa recherche n'est donc pas à ce jour indispensable à leur prescription. Cependant afin d'anticiper l'arrivée de nouvelles thérapies ciblées et de les rendre disponibles le plus rapidement possible, l'INCa a lancé un programme de détection prospective de cette mutation depuis l'année 2013 : c'est dans ce cadre que la détection de cette mutation est systématique conjointement à celle des gènes RAS.

L'identification d'une mutation BRAF incite à proposer précocement au patient une inclusion dans un essai (quelle que soit sa phase) testant une thérapie ciblée anti-BRAF.

De nombreux autres marqueurs prédictifs à la réponse aux anti-EGFR pour les patients « RAS sauvage » sont encore en cours d'évaluation (niveau d'amplification EGFR, expression de l'amphiréguline et de l'épiréguline, expression PTEN), mais le niveau de preuve n'est pas à ce jour suffisant. Leur recherche n'est donc pas recommandée actuellement.

#### 11.1.5. Programme AcSé

Dans le cadre du programme AcSé et du premier essai portant sur le crizotinib (voir **chapitre 5.3**), la mutation de MET est recherchée dans les cancers colo-rectaux.

Sur la plateforme de Midi-Pyrénées, la mutation de MET est recherchée d'emblée, par HRM suivi de séquençage, sans pré-criblage par immunohistochimie.

#### 11.1.6. Polypose

Pour les polyposes, il n'existe aucun examen de biologie moléculaire sur tumeur indispensable ou utile au diagnostic. En revanche, la recherche de différentes mutations dans le sang est indispensable au diagnostic en fonction du phénotype clinique, du mode de transmission et du type histologique des polypes : gène APC et gène MYH pour les polyposes adénomateuses, autres gènes pour les polyposes non adénomateuses (SMAD4, BMPR1A, PTEN, STK11, etc.).

## 11.1.7. Tableaux de synthèse des tests

### 11.1.7.1 Test MSI

INDISPENSABLE		UTILE
<b>ANOMALIE MOLECULAIRE</b>		
Instabilité micro satellitaire dans les cancers de l'endomètre (ou autres cancers du spectre HNPCC)		
<b>BUT</b>		
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b> Identifier les patients porteurs d'un syndrome HNPCC	<b>MARQUEUR THERAPEUTIQUE</b> Marqueur thérapeutique pour envisager un traitement adjuvant	
<b>INDICATIONS</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Age au diagnostic &lt; 50 ans</li> <li>• Antécédent personnel de CCR ou de cancer de l'endomètre</li> <li>• Antécédent familial (1er degré) de CCR ou de cancer de l'endomètre</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cancers colorectaux de stade II</li> </ul>	
<b>TECHNIQUES</b>		
<b>Technique MSI</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraction ADN de la tumeur (avec macrodissection de la zone le plus riche en cellules tumorales) et ADN du tissu normal</li> <li>• Génotypage 5 séquences microsatellites consensus par PCR Pentaplex de ces séquences microsatellites (instabilité microsatellitaire ou MSI si au moins 2 microsatellites instables sur cinq)</li> </ul> <b>Technique corollaire (IHC)</b> En complément de la recherche d'instabilité microsatellitaire ou pour les cas avec très peu de cellules tumorales ou fixateur ne permettant pas d'étude en biologie moléculaire avec les 4 anticorps : anti- MLH1, anti-MSH2, anti-MSH6 et anti-PMS2.		
<b>MODALITES DE PREPARATION DU MATERIEL TUMORAL</b>		
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : exérèse chirurgicale ou biopsie</li> <li>• Type de tumeur: tumeur primitive endométriale ou métastase.</li> <li>• Quantité de matériel: choisir un bloc riche en cellules tumorales (&gt; 20% de cellules tumorales). Pas de nécessité de bloc de tissu normal sauf si demande expresse de l'oncologue spécialisé ou du laboratoire de biologie moléculaire et si analyse sur une tumeur autre qu'un CCR.</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Instabilité microsatellitaire : tumeur congelée ou fixée formol et incluse en paraffine (pas d'acide picrique, autres fixateurs que le formol déconseillés).</li> <li>• Immunohistochimie : tumeur fixée et incluse en paraffine uniquement (non réalisable sur tissu congelé): fixateur gold standard = formol, interprétation parfois difficile pour les autres fixateurs (AFA, Bouin, substitut du formol)</li> </ul>		
<b>LABORATOIRE</b>		
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Plateforme hospitalière de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées, labellisée et soutenue par l'INCa - Responsables : Pr J. Selves, D. Grand		
<b>DELAI DE REPONSE</b>		
8 à 10 jours		

Tableau 31 : Instabilité microsatellitaire dans les cancers colorectaux (ou autres cancers du spectre HNPCC<sup>24</sup>)

<sup>24</sup> La réalisation d'un test RER sur une tumeur autre qu'un CCR ou qu'un cancer de l'endomètre ne doit pas être réalisée qu'après avis de la RCP d'oncogénétique.

## 11.1.7.2 Génotypage BRAF

INDISPENSABLE	UTILE
<b>ANOMALIE MOLECULAIRE</b>	
Identification de la mutation BRAF V600E dans les cancers colorectaux	
<b>BUT</b>	
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b> Marqueur des cancers sporadiques, élimine un syndrome de Lynch	<b>ESSAIS THERAPEUTIQUES</b>
<b>INDICATIONS</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Cancer colorectal avec instabilité microsatellitaire ET perte d'expression de MLH1/PMS2</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cancer colorectal au stade métastatique</li> <li>Réalisé systématiquement avec la recherche de mutation RAS (programme « Biomarqueurs émergents INCa »)</li> </ul>
<b>TECHNIQUES</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Extraction ADN de la tumeur (avec macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>Amplification ADB par PCR</li> <li>Génotypage par hybridation spécifique d'allèle par Taqman (cible uniquement mutation V600E)</li> </ul>	
<b>MODALITES DE PREPARATION DU MATERIEL TUMORAL</b>	
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Type de prélèvement : exérèse chirurgicale ou biopsie</li> <li>Type de tumeur: tumeur primitive endométriale ou métastase.</li> <li>Quantité de matériel: choisir un bloc riche en cellules tumorales (&gt; 50% de cellules tumorales).</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée ou fixée formol et incluse en paraffine (pas d'acide picrique, autres fixateurs que le formol déconseillés).</li> </ul>	
<b>LABORATOIRE</b>	
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Plateforme hospitalière de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées, labellisée et soutenue par l'INCa - Responsables : Pr J. Selves, D. Grand	
<b>DELAI DE REPONSE</b>	
8 à 10 jours	

Tableau 32 : Identification de la mutation BRAF V600E dans les cancers colorectaux

## 11.1.7.3 Méthylation du promoteur MLH1

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Identification de la méthylation du promoteur du gène MLH1 dans les cancers colorectaux
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
Marqueur des cancers sporadiques, élimine un syndrome de Lynch
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cancer colorectal avec instabilité microsatellitaire ET perte d'expression de MLH1/PMS2</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<b>Pyroséquencage</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraction ADN de la tumeur (macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>• PCR spécifique de la méthylation (MS-PCR) sur les îlots CpG du promoteur MLH1 (technique non quantitative)</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• <b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive</li> <li>• <b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Tumeur congelée ou fixée formol et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, autres fixateurs que le formol déconseillés)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Pr J.Selves
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
1 à 5 semaines

Tableau 33 : Identification de la méthylation du promoteur du gène MLH1 dans les cancers colorectaux

## 11.1.7.4 Génotypage RAS

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Identifier une mutation des exons 2 (codons 12 ou 13), 3 (codon 61) et 4 (codons 117 et 146) des gènes KRAS et NRAS dans les cancers colorectaux au stade METASTATIQUE
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR THERAPEUTIQUE</b> Facteur de prédiction à la réponse aux anti-EGFR. La prescription d'anti-EGFR est conditionnée par l'absence de mutation RAS quel que soit la thérapie ciblée (cetuximab /Erbix® ou panitumumab /Vectibix®).
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cancer colorectal au stade métastatique</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraction ADN de la tumeur (avec macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>• Amplification de l'ADN par PCR</li> <li>• Génotypage <ul style="list-style-type: none"> <li>- Criblage HRM</li> <li>- Hybridation spécifique d'allèle par Taqman ou séquençage pour les profils mutés</li> </ul> </li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : exérèse chirurgicale ou biopsie</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive colorectale ou métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales (&gt;50% CT si possible)</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur congelée ou fixée et incluse en paraffine (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Plateforme hospitalière de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées, labellisée et soutenue par l'INCa. Responsables : Pr L. Lamant, D. Grand</li> </ul>
<b>Délai de réponse</b>
8 à 10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 34 : Identification de mutation des exons 2 (codons 12 et 13), 3 (codon 61) et 4 (codons 117 et 146) des gènes KRAS et NRAS dans les cancers colorectaux au stade METASTATIQUE



## 11.1.7.5 Génotypage MET

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Recherche des mutations des exons 14 et 16 à 19 du gène MET
<b>BUT</b>
<b>PROGRAMME ACSE</b>
Caractéristiques : Incidence dans les cancers colorectaux non estimée à ce jour
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Adénocarcinomes colorectaux</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Extraction ADN de la tumeur (macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>Screening par HRM</li> <li>Séquençage direct</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive colorectale ou métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales (&gt; 50% CT si possible)</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tumeur congelée ou fixée formol et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, autres fixateurs que le formol déconseillés)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Pr J.Selves
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
1 à 5 semaines

Tableau 35 : Identification des mutations des exons 14, 16 à 19 du gène MET

## 11.2. GIST

Des mutations primaires de KIT ou PDGFRA sont présentes dans 85 % des GIST (15 % des GIST sont donc sans mutation : « sauvages » ou « wild type »). Il s'agit de mutations « gain de fonction » des exons 11 (70%) ou exon 9 (10 à 15 %) du gène KIT et exon 18 de PDGFRA (dont la plus fréquente est la mutation ponctuelle D842V), plus rarement exon 13 et 17 de KIT et exon 12 ou 14 de PDGFRA (< 1% chacune).

### 11.2.1 Génotypage KIT /PDGFRA à visée diagnostique

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).

### 11.2.2 Génotypage KIT/ PDGFRA et traitement par imatinib (Selon les recommandations du Thésaurus National de Cancérologie Digestive).

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.

#### 11.2.2.1 Traitement par imatinib des GIST métastatiques

- ▶ Mutation exon 9 KIT: traitement d'emblée à 800 mg/j recommandé
- ▶ Mutation D842V de l'exon 18 de PDGFRA (GIST gastrique) : imatinib non efficace

#### 11.2.2.2 Traitement adjuvant par imatinib des formes de haut risque évolutif

(Définies selon la classification de Miettinen, en tenant compte d'une perforation, ou la classification de Joensuu)

- ▶ Mutation exon 11 : KIT bénéfice du traitement par imatinib
- ▶ Mutation exon 9 KIT : pas de bénéfice du traitement par imatinib
- ▶ Mutation D842V de l'exon 18 de PDGFRA : pas de bénéfice du traitement par imatinib selon les premières études

Test réalisé sur la plateforme de Midi-Pyrénées depuis 2010 (laboratoire d'Anatomie Pathologique et d'Hématologie, IUCT Oncopole) de façon systématique pour toutes les GIST au diagnostic (sauf micro-GIST non rectale).

## 11.2.3 Tableaux de synthèse des tests

### 11.2.3.1 Mutation KIT et PDGFR alpha

INDISPENSABLE		UTILE
<b>ANOMALIE MOLECULAIRE</b>		
Identifier les mutations KIT et PDGFR alpha des tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST)		
<b>BUT</b>		
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>		<b>MARQUEUR THERAPEUTIQUE TRAITEMENT ADJUVANT</b>
<b>INDICATIONS</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>GIST KIT/DOG1-négatives en immunohistochimie (toute tumeur conjonctive susceptibles d'être une GIST mais n'exprimant pas KIT ni DOG1)</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Toute GIST localement avancée (traitement néo-adjuvant) ou métastatique</li> <li>Toute GIST avec un risque significatif de rechute selon la classification de Miettinen (AFIP)</li> </ul>
<b>TECHNIQUES</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>Extraction ADN de la tumeur après contrôle morphologique</li> <li>Criblage par HRM des exons 9, 11, 13, 17 de KIT et des exons 12, 14, 18 de PDGFR-A</li> <li>Séquençage de l'exon variant pour identification de la mutation</li> </ul>		
<b>MODALITES DE PREPARATION DU MATERIEL TUMORAL</b>		
<b>Modalités de prélèvement</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>Type de prélèvement : exérèse chirurgicale ou biopsie (matériel suffisant et de qualité adéquate pour l'examen biologie moléculaire)</li> <li>Type de tumeur: tumeur primitive ou métastase</li> <li>Quantité de matériel: choisir un bloc riche en cellules tumorales et quantité ADN suffisante pour analyse de l'ensemble des exons</li> </ul>		
<b>Modalités de fixation</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée ou fixée formol et incluse en paraffine (pas d'acide picrique, pas d'AFA, autres fixateurs que le formol sont déconseillés).</li> </ul>		
<b>LABORATOIRE</b>		
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Plateforme hospitalière de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées, labellisée et soutenue par l'INCa - Responsables : Pr J. Selves, D. Grand		
<b>DELAI DE REPOSE</b>		
2 à 3 semaines		

Tableau 36 : Identification des mutations des gènes KIT et PDGFR alpha des tumeurs stromales gastro intestinales (GIST)

## 11.3. CANCERS GASTRIQUES

Pas d'indication à visée diagnostique ni pronostique.

### 11.3.1 A visée thérapeutique

Il est indispensable d'évaluer le niveau d'amplification du gène HER2 pour prescrire une thérapie ciblée anti-HER2 (trastuzumab Herceptin<sup>®</sup>) dans le traitement des cancers gastriques métastatiques (AMM 2010).

**Indication** : cancers gastriques ou du bas œsophage métastatiques en association avec une chimiothérapie de première ligne.

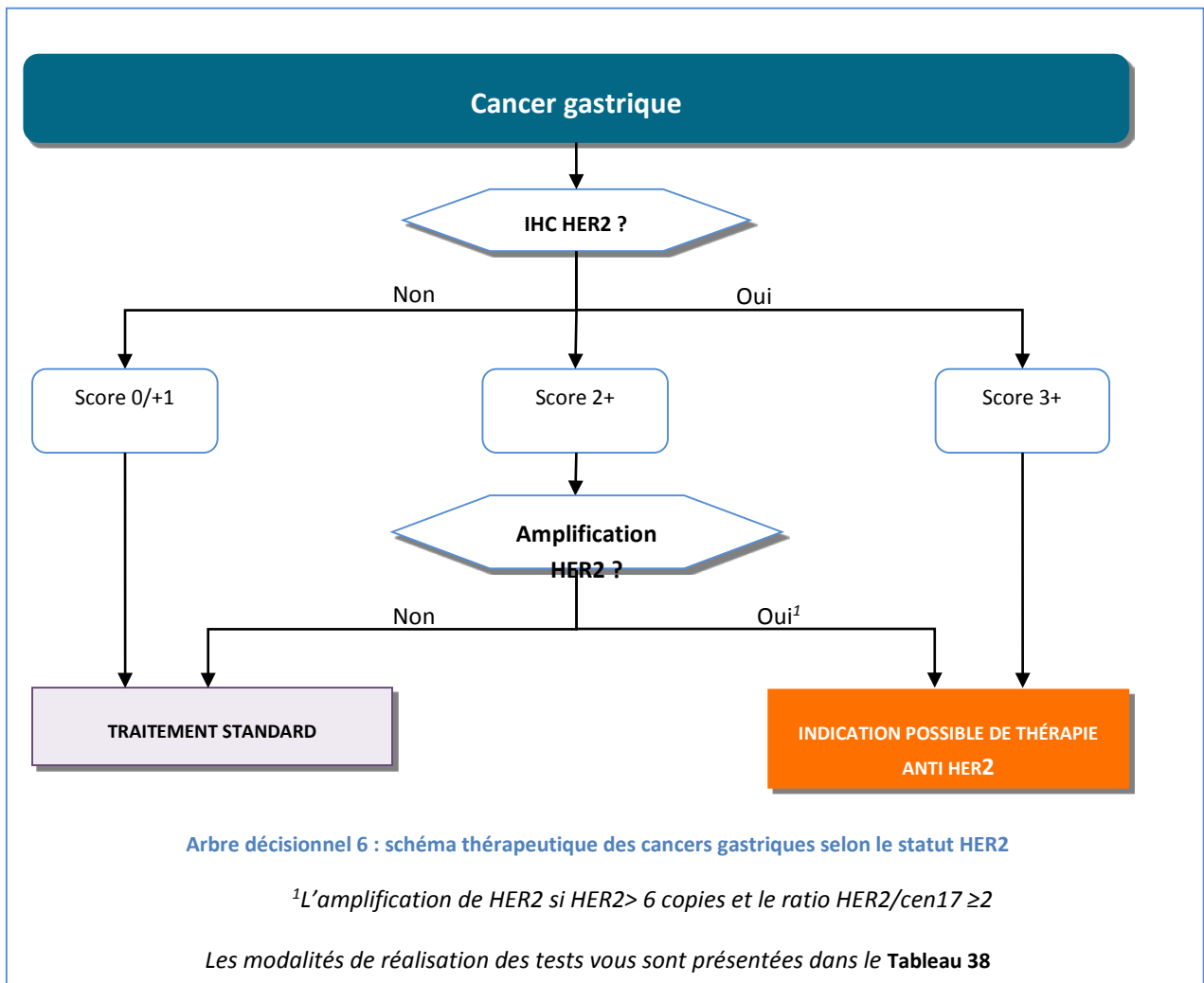
La procédure d'évaluation de l'amplification de HER2 est inspirée de celle pratiquée pour le cancer du sein avec des modifications concernant l'évaluation immuno-histochimique (Hofmann M. Histopathology 2008). Ces modifications sont de 2 ordres :

- ▶ un marquage baso-latéral membranaire (en U) est considéré équivalent à un marquage membranaire complet (même score)
- ▶ le seuil de positivité est différent sur matériel chirurgical (positif si  $\geq 10\%$  de cellules marquées) ou biopsique (score positif quel que soit le nombre de cellules positives) compte tenu de l'importante hétérogénéité des tumeurs gastriques.

Des recommandations pour l'évaluation du score immuno-histochimique HER2 dans les cancers gastriques ont été publiées récemment, préconisées et validées par l'AFAQAP (Rüschoff J, Virchows Archiv 2010 : 457 :299-307. Cf. Tableau 26 ci-dessous).

Immunomarquage Echantillon chirurgical	Immunomarquage Biopsie	Score
<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Pas de marquage</li> <li>▶ Marquage membranaire &lt; 10 % de cellules</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Pas de marquage</li> <li>▶ Marquage membranaire &lt; 5 % de cellules</li> </ul>	0
<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Marquage membranaire faible / imperceptible <math>\geq 10\%</math> de cellules</li> <li>▶ Marquage limité à une petite partie de la membrane, seulement visible à fort grossissement (X40)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Marquage membranaire faible/imperceptible <math>\geq 5</math> cellules tumorales cohésives</li> <li>▶ Marquage limité à une petite partie de la membrane, seulement visible à fort grossissement (X40)</li> </ul>	1
<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Marquage membranaire complet ou basolatéral (en U) ou latéral faible à modéré <math>\geq 10\%</math> de cellules</li> <li>▶ Marquage clairement visible au grossissement intermédiaire (X10-20)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Marquage membranaire complet ou basolatéral (en U) ou latéral faible à modéré <math>\geq 5\%</math> de cellules tumorales cohésives</li> <li>▶ Marquage clairement visible au grossissement intermédiaire (X10-20)</li> </ul>	2
<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Marquage membranaire complet ou basolatéral (en U) ou latéral modéré à intense <math>\geq 10\%</math> de cellules</li> <li>▶ Marquage clairement visible à faible grossissement (X2,5 - 5)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Marquage membranaire complet ou basolatéral (en U) ou latéral modéré à intense <math>\geq 5\%</math> de cellules tumorales cohésives</li> <li>▶ Marquage clairement visible à faible grossissement (X2,5 - 5)</li> </ul>	3

Tableau 37 : Recommandations pour l'évaluation du score IHC de HER2 pour les cancers gastriques (Rüschoff J, Virchows Archiv 2010).



## 11.3.2 Programme AcSé

### 11.3.2.1 AcSé crizotinib

Dans le cadre du programme AcSé et du premier essai portant sur le crizotinib (voir **chapitre 5.3**, page 17), l'amplification de MET est recherchée dans les cancers gastriques.

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, l'amplification de MET est recherchée selon **une stratégie en 2 étapes** :

- ▶ Recherche de la surexpression par immunohistochimie avec l'anticorps clone SP44,
- ▶ Contrôle par FISH pour les cas positifs en immunohistochimie (Score 3+ sur > 50 % de cellules tumorales positives (diffus ou focal),
- ▶ La positivité est fixée à un nombre de copies > 6 en moyenne sur 100 noyaux analysés (dans un ou plusieurs hotspots) et le ratio doit être déterminé avec une sonde centromérique mais il n'y a pas de seuil fixé pour ce ratio.

### 11.3.2.2 AcSé immunothérapies

Dans le cadre du programme AcSé et de l'essai portant sur l'immunothérapie (voir **chapitre 5.3**, page 17), le test MSI est recherché dans les cancers gastriques.

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, la détermination du statut MSI des cancers gastriques est recherchée selon **une stratégie en 2 étapes** :

- ▶ Recherche d'une perte d'expression par immunohistochimie de l'une des 4 protéines du système MMR (MSH2, MSH6, MLH1 et PMS2)
- ▶ Recherche d'instabilité microsatellitaire pour les cas positifs en immunohistochimie
- ▶ La déficience du système MMR est avérée en cas de perte d'une ou deux protéines du système MMR **ET** en cas d'instabilité microsatellitaire mise en évidence en biologie moléculaire.

### 11.3.3 Tableau des tests

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Recherche amplification du gène HER2
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR THERAPEUTIQUE (AMM)</b> Facteur de prédiction à la réponse aux anti-HER2
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cancers gastriques ou du bas de l'œsophage métastatiques en adjonction avec une chimiothérapie de première ligne.</li> <li>• En recours à l'immunohistochimie de première intention (cf. arbre décisionnel) systématique pour les scores 2+ et en cas d'IHC ininterprétable ou litigieuse</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraction ADN de la tumeur (avec macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>• Amplification par PCR</li> <li>• Génotypage par             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Criblage par HRM</li> <li>○ Si profil variant en HRM : pyroséquencage, analyse de fragment ou PCR allèle spécifique</li> </ul> </li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou rarement exérèse chirurgicale</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive ou métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur fixée et incluse en paraffine (à l'exclusion des fixateurs avec pas acide picrique tels que le Bouin ou le Dubosq acqueux, AFA contre indiqué).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Plateforme hospitalière de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées, labellisée et soutenue par l'INCa. Responsables : Pr J.Selves, Dr M.Danjoux</li> </ul>
<b>Délai de réponse</b>
7 à 10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 38 : Amplification du gène HER2

---

## 11.4. CANCER ŒSOPHAGE, CANAL ANAL

---

### 11.4.1 Programme AcSé

#### 11.4.1.1 AcSé crizotinib

Dans le cadre du programme AcSé et du premier essai portant sur le crizotinib (voir **chapitre 5.3**, page 17), l'amplification de MET est recherchée dans les adénocarcinomes de l'œsophage.

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, l'amplification de MET est recherchée selon **une stratégie en 2 étapes** :

- ▶ Recherche de la surexpression par immunohistochimie avec l'anticorps clone SP44,
- ▶ Contrôle par FISH pour les cas positifs en immunohistochimie (Score 3+ sur > 50 % de cellules tumorales positives (diffus ou focal),
- ▶ La positivité est fixée à un nombre de copies > 6 en moyenne sur 100 noyaux analysés (dans un ou plusieurs hotspots) et le ratio doit être déterminé avec une sonde centromérique mais il n'y a pas de seuil fixé pour ce ratio.

#### 11.4.1.2 AcSé immunothérapies

Dans le cadre du programme AcSé et de l'essai portant sur l'immunothérapie (voir **chapitre 5.3**, page 17), le test MSI est recherché dans les cancers gastriques.

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, la détermination du statut MSI des cancers gastriques est recherchée selon **une stratégie en 2 étapes** :

- ▶ Recherche d'une perte d'expression par immunohistochimie de l'une des 4 protéines du système MMR (MSH2, MSH6, MLH1 et PMS2)
- ▶ Recherche d'instabilité microsatellitaire pour les cas positifs en immunohistochimie
- ▶ La déficience du système MMR est avérée en cas de perte d'une ou deux protéines du système MMR **ET** en cas d'instabilité microsatellitaire mise en évidence en biologie moléculaire.

---

## 11.5. CANCER DU FOIE

---

### 11.5.1 Cholangiocarcinome et le programme AcSé

#### 11.5.1.1 AcSé crizotinib

Dans le cadre du programme AcSé et du premier essai portant sur le crizotinib (voir **chapitre 5.3**, page 17), la translocation de ROS est recherchée dans les cholangiocarcinomes.

**ROS1 (c-ros oncogene 1) est un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase.**

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, l'amplification de ROS est recherchée selon **une stratégie en 2 étapes** :

- ▶ Recherche de la translocation de ROS1 par immunohistochimie avec l'anticorps clone D4D6,
- ▶ Contrôle par FISH (une sonde « break apart » qui met en évidence la cassure de Ros) dès qu'un signal cytoplasmique d'intensité 1+, 2+ ou 3+ est observé en immunohistochimie.

- ▶ Un résultat est positif si l'on identifie au moins 15 % de noyaux réarrangés sur au moins 100 noyaux analysés (sauf en cas de prélèvements très petits où l'on ne peut compter que 60 noyaux).

#### 11.5.1.2 AcSé vemurafenib

Dans le cadre du programme AcSé et du premier essai portant sur le crizotinib (voir **chapitre 5.3**, page 17), la mutation du codon V600 de *BRAF* est recherchée dans les cholangiocarcinomes.

#### 11.5.1.3 AcSé immunothérapies

Dans le cadre du programme AcSé et de l'essai portant sur l'immunothérapie (voir **chapitre 5.3**, page 17), le test MSI est recherché dans les cancers gastriques.

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, la détermination du statut MSI des cancers gastriques est recherchée selon **une stratégie en 2 étapes** :

- ▶ Recherche d'une perte d'expression par immunohistochimie de l'une des 4 protéines du système MMR (MSH2, MSH6, MLH1 et PMS2)
- ▶ Recherche d'instabilité microsatellitaire pour les cas positifs en immunohistochimie
- ▶ La déficience du système MMR est avérée en cas de perte d'une ou deux protéines du système MMR **ET** en cas d'instabilité microsatellitaire mise en évidence en biologie moléculaire.

### 11.5.2 Cancer du foie et le programme AcSé

Dans le cadre du programme AcSé et du premier essai portant sur le crizotinib (voir **chapitre 5.3**, page 17), l'amplification de MET est recherchée dans les cancers du foie et une mutation de MET uniquement pour les cancers du foie pédiatriques.

#### 11.5.2.1 Amplification de MET

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, l'amplification de MET est recherchée selon **une stratégie en 2 étapes** :

- ▶ Recherche de la surexpression par immunohistochimie avec l'anticorps clone SP44,
- ▶ Contrôle par FISH pour les cas positifs en immunohistochimie (Score 3+ sur > 50 % de cellules tumorales positives (diffus ou focal),
- ▶ La positivité est fixée à un nombre de copies > 6 en moyenne sur 100 noyaux analysés (dans un ou plusieurs hotspots) et le ratio doit être déterminé avec une sonde centromérique mais il n'y a pas de seuil fixé pour ce ratio.

#### 11.5.2.2 Mutation de MET

**Réservée uniquement aux cancers du foie pédiatriques.**

Sur la plateforme de Midi-Pyrénées, la mutation de MET est recherchée d'emblée, par HRM suivi de séquençage, sans pré-criblage par immunohistochimie.



---

## 11.6. TUMEUR BÉNIGNE DU FOIE

---

### 11.6.1 Génotypages utiles à la classification des adénomes hépatocellulaires

Les génotypages (LFABP, GLUL, Bêta-catenine, gp 130, ...) peuvent être utiles pour classer les adénomes hépatocellulaires mais ne sont réalisés que dans le cadre d'un projet de recherche (J.Zuckman-Rossi, Paris / Bordeaux).

L'immunohistochimie est une bonne alternative au génotypage des adénomes car elle permet de classer les différents types d'adénome : perte d'expression de LFABP pour les adénomes inactivés HNF1alpha, expression de protéines de l'inflammation (SAA et CRP) pour les adénomes télangiectasiques /inflammatoires et surexpression de la glutamine synthétase pour les adénomes atypiques.

La recherche des mutations du gène de la Bêta-caténine est réalisée sur la plateforme de Midi Pyrénées (Département d'Anatomie Pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole, Pr J.Selves, D.Grand). Elle est indiquée pour les adénomes atypiques et les formes frontières adénome /carcinome hépatocellulaire.

---

## 11.7. CANCER DU PANCRÉAS

---

Pas d'examens de biologie moléculaire indispensable ou utile à ce jour.

---

## 11.8. TUMEURS ENDOCRINES

---

Pas d'examens de biologie moléculaire indispensable ou utile à ce jour.

---

## 11.9. LYMPHOMES DIGESTIFS

---

Lymphome de MALT : cf chapitre Les lymphomes

---

## 11.10. SARCOMES (AUTRES QUE GIST)

---

Cf. Chapitre [Sarcome - Actualisation 2017](#)

## Chapitre 12 - PNEUMOLOGIE

*Dernière actualisation : février 2014*

### Comité

Laurence Bigay-Gamé

Laurent Brouchet

Julien Mazières

*Isabelle Rouquette*

## 12.1. A VISÉE THÉRAPEUTIQUE

### 12.1.1 Prescription d'inhibiteurs de tyrosine kinase d'EGFR

Les Inhibiteurs de Tyrosine Kinase d'EGFR, Gefitinib (Iressa®), Erlotinib (Tarceva®) et Afatinib (Giotrif®) ayant tous l'AMM, sont indiqués en monothérapie en première ligne de traitement pour les patients ayant les caractéristiques suivantes:

- ▶ Adultes naïfs de TKI anti EGFR (récepteur du facteur de croissance épidermique),
- ▶ Atteints d'un cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) localement avancé ou métastatique,
- ▶ Présentant une (des) mutation(s) activatrice(s) de l'EGFR.

En pratique sur la plateforme les mutations activatrices des exons 18, 19, 21 d'EGFR sont recherchées comme prévu dans ces AMM **uniquement dans les CBNPC de stade avancé ou métastatique**. Les **épidermoïdes du non-fumeur sont testés** car il peut s'agir de carcinomes adénoquameux dont seul le contingent épidermoïde est présent sur la biopsie.

Ne sont pas concernés par cette recherche :

- ▶ Les épidermoïdes du fumeur car ils ne présentent pas ces mutations
- ▶ Les stades précoces accessibles à la chirurgie
- ▶ Les carcinomes à petites cellules

### 12.1.2 Prescription d'inhibiteurs de TKI en seconde ligne

TAGRISSE (osimertinib) est indiqué dans le traitement des patients adultes atteints d'un cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) localement avancé ou métastatique, avec mutation EGFR T790M (récepteur du facteur de croissance épidermique).

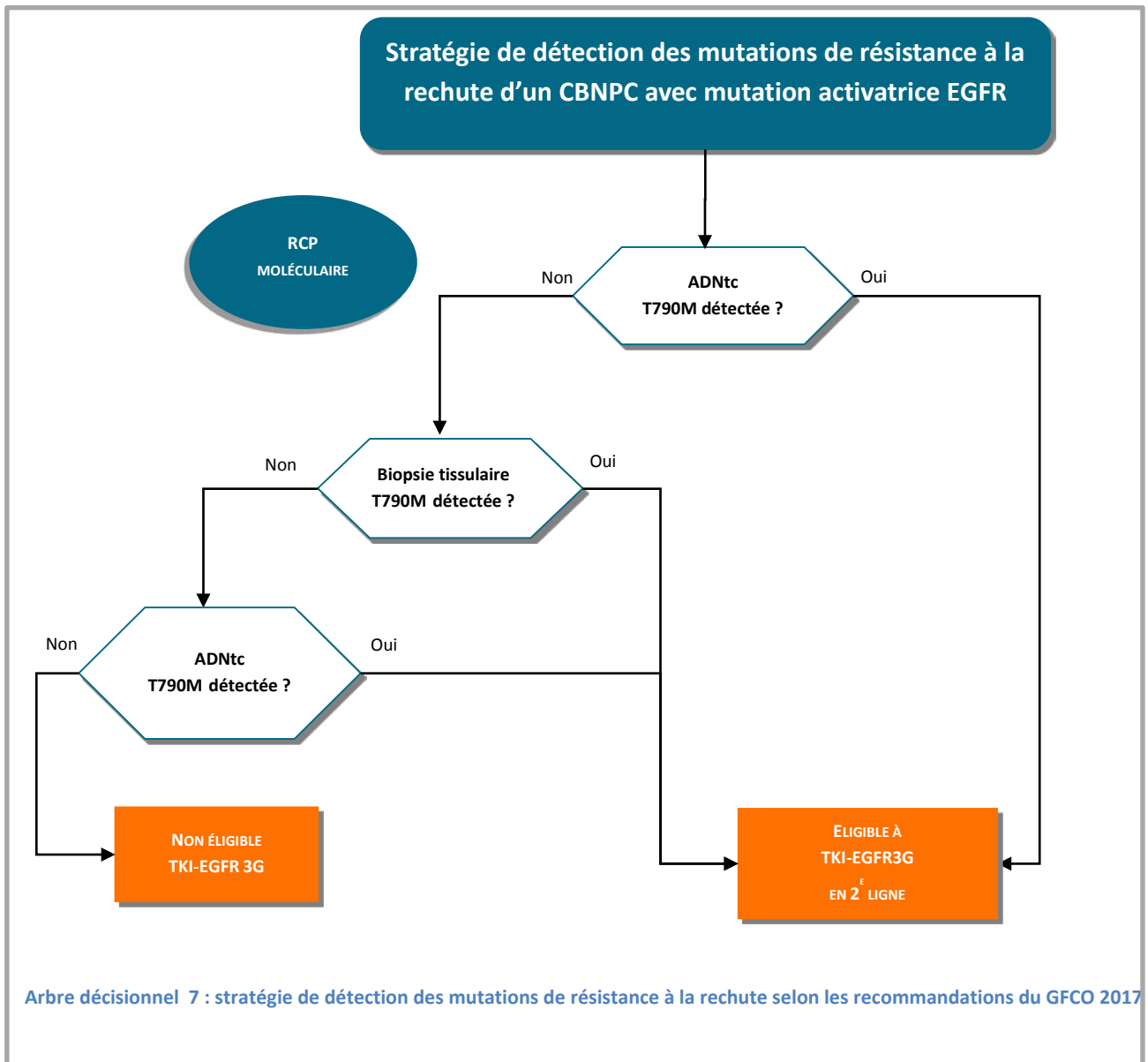
Chez un patient sous traitement TKI-EGFR en rechute clinique ou en progression, une détection de mutations de résistance doit être effectuée. La mutation T790M de l'EGFR est l'un des mécanismes de résistance le plus fréquemment rapporté chez les patients EGFR mutés traités par TKI-EGFR. A la progression, une stratégie de détection des mutations de résistance a été proposée (cf. Arbre décisionnel 7 ci-dessous) avec :

- ▶ la réalisation d'une biopsie liquide en première intention. Si la mutation de résistance T790M est détectée alors il y a indication de traitement par TKI de troisième génération
- ▶ si le résultat de l'analyse de l'ADN tumoral circulant est négatif, le recours à la biopsie tissulaire doit être proposé pour confirmer et/ou pour identifier un autre mécanisme d'échappement.
- ▶ Si le résultat de l'analyse est toujours négatif ou si la biopsie tissulaire n'est pas réalisable, un second prélèvement sanguin doit être effectué.

Le traitement par TKI de troisième génération est indiqué uniquement en cas de présence de la mutation T790M.

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Mutation EGFR dans les CBNPC au stade AVANCE OU METASTATIQUE
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR THERAPEUTIQUE (AMM)</b> Facteur de prédiction à la réponse aux ITK La prescription d'ITK en première ligne est conditionnée à la présence de mutation activatrice d'EGFR
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinome bronchique non à petite cellule localement avancé ou métastatique</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraction ADN de la tumeur (avec macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>• Amplification par PCR</li> <li>• Génotypage par <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Criblage par HRM</li> <li>○ Si profil variant en HRM : pyroséquencage, analyse de fragment ou PCR allèle spécifique</li> </ul> </li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou rarement exérèse chirurgicale</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive ou métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales (limite de détection des techniques de 5% : tolérance 10% de cellules tumorales)</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA) plus rarement tumeur congelée.</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Plateforme hospitalière de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées, labellisée et soutenue par l'INCa. Responsable : Dr I. Rouquette</li> </ul>
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 39 : Mutation EGFR dans les CBNPC au stade AVANCE ou METASTATIQUE



## 12.2. PRESCRIPTION D'INHIBITEURS DE ALK ET MET

AMM crizotinib : XALKORI est indiqué dans le traitement des patients adultes ayant reçu au moins un traitement antérieur pour un cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC) **anaplastic lymphoma kinase (ALK) positif et avancé**».

RTU 2016 crizotinib : Traitement du cancer du poumon non à petites cellules localement avancé ou métastatique avec **réarrangement de ROS1** chez des patients en situation d'impasse thérapeutique.

AMM céritinib : ZYKADIA est indiqué en monothérapie pour le traitement du cancer bronchique non à petites cellules avancé avec réarrangement du gène anaplastic lymphoma kinase (ALK+) chez les patients adultes préalablement traités par crizotinib

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, le réarrangement du gène ALK est recherché selon une stratégie en 2 étapes :

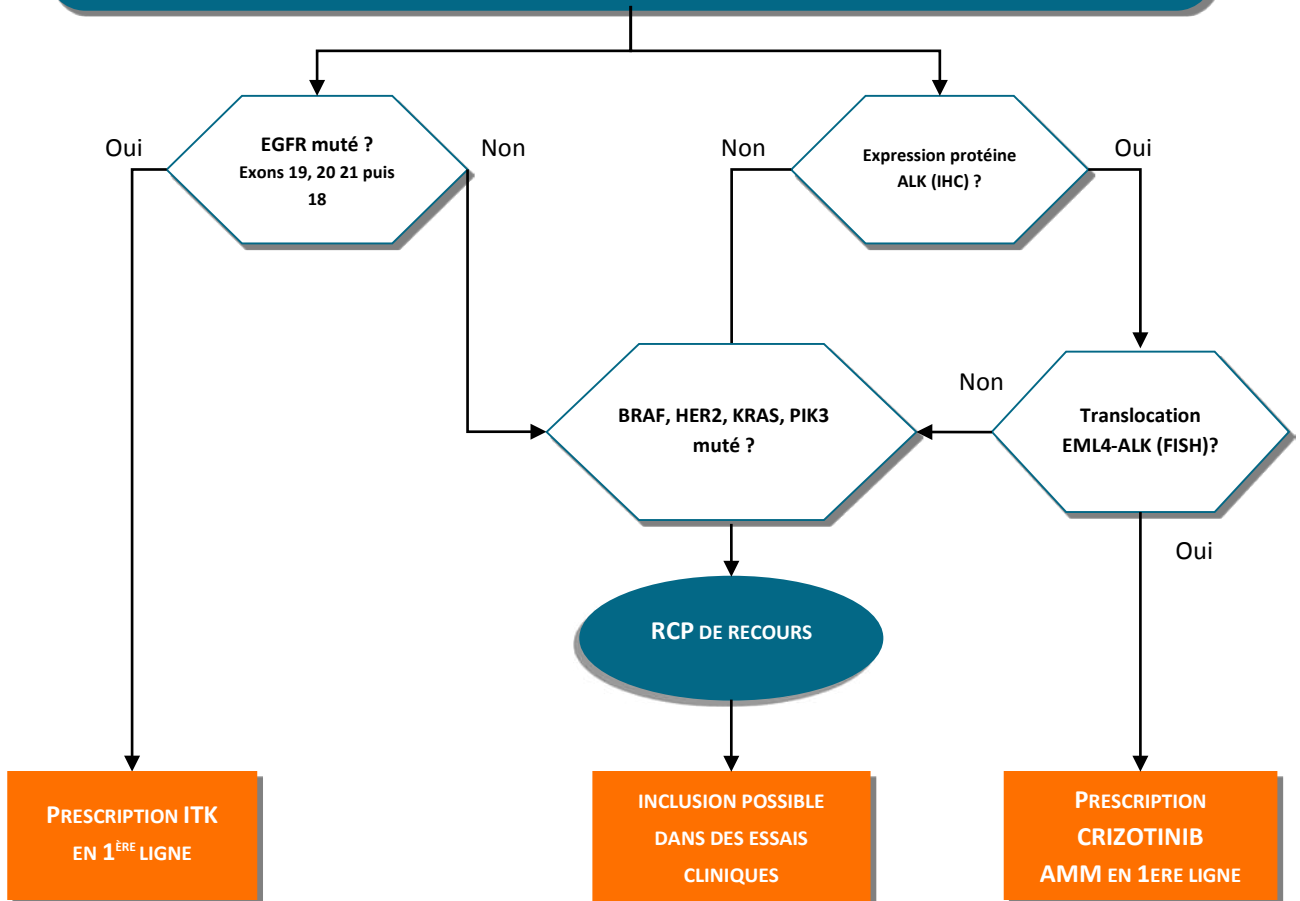
- ▶ **Criblage par immunohistochimie** de l'ensemble des patients
- ▶ **Recherche du réarrangement** par la technique FISH (hybridation in situ en immunofluorescence) qui est la technique de référence à l'aide de sondes dites « break apart » qui mettent en évidence la cassure d'ALK pour les cas suivants :
  - **Cas positifs** en immunohistochimie,
  - **Cas négatifs** en immunohistochimie **chez les non-fumeurs** : FISH systématique car de rares cas de discordances ont été décrits,
  - **Cas négatifs** en immunohistochimie **chez les gros fumeurs** ou les patients qui ont une **autre mutation** : on ne fait pas de FISH car la probabilité que la translocation soit présente est très faible.
- ▶ Un résultat est considéré comme positif si l'on identifie en FISH au moins **15 % de noyaux réarrangés sur au moins 100 noyaux analysés**.

La stratégie thérapeutique des adénocarcinomes et carcinomes du poumon non à petites cellules de stade pTNM IIIB ou IV et tous les stades pour les patients non opérables est présentée dans l'arbre décisionnel ci-dessous.

**Adénocarcinome et carcinome du poumon non à petites cellules de stade pTNM IIIB ou IV et tous les stades pour les patients non opérables**

Possibilité après discussion avec le clinicien, d'effectuer la recherche dans certains cas pour :

- Epidermoïdes des non-fumeurs
- Femmes et sujets jeunes



**Arbre décisionnel 8 : schéma thérapeutique des adénocarcinomes et carcinomes du poumon non à petites cellules de stade pTNM IIIB ou IV et tous les stades pour les patients non opérables.**

*Les modalités de réalisation des tests vous sont présentées pages 82 à 87.*

## 12.3. A VISÉE DIAGNOSTIQUE ET PRONOSTIQUE

Pas d'examen de biologie moléculaire indispensable ou utile à ce jour.

## 12.4. LES PROGRAMMES EN COURS

### 12.4.1 Programme de détection prospective des biomarqueurs émergents dans le cancer du poumon

Dans le cadre du programme de détection prospective des biomarqueurs émergents mis en place par l'INCa depuis janvier 2011, la plateforme réalise simultanément pour les patients atteints d'un adénocarcinome du poumon chez lesquels la mutation de l'EGFR doit être cherchée, la recherche des mutations des gènes KRAS, BRAF, PI3KCA, HER2, EML4ALK.

Depuis le démarrage du programme en janvier 2011, le crizotinib a obtenu l'AMM en première ligne en octobre 2012 pour les patients atteints d'un cancer bronchique non à petites cellules de stade avancé et dont la tumeur présente un réarrangement du gène ALK.

#### 12.4.1.1 Mutations de KRAS

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
<b>Recherche des mutations activatrices des codons 12, 13, 59 et 61 du gène KRAS</b>
<b>CARACTÉRISTIQUES</b>
Mutuellement exclusives de celles d'EGFR sauf exception. Retrouvées dans 22% des adénocarcinomes, essentiellement chez les fumeurs et 15% chez les non-fumeurs (cancers mucosécrétants)
<b>BUT</b>
<b>PROGRAMME DE DÉTECTION BIOMARQUEURS ÉMERGENTS</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Adénocarcinomes et carcinomes du poumon non à petites cellules de stade pTNM IIIB ou IV et tous les stades pour les patients non opérables</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Extraction ADN de la tumeur (macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>Screening par HRM puis séquençage direct</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou rarement exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive ou métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales (Limite détection technique 5% : tolérance 10% cellules tumorales sur le bloc)</li> </ul>
<b>Modalités de fixation</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tumeur fixée formol neutre tamponné et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA) plus rarement congelée.</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Dr I. Rouquette
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 40 : Recherche des mutations activatrices des codons 12, 13, 59 et 61 du gène KRAS



## 12.4.1.2 Mutation de BRAF

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
<b>Recherche des mutations activatrices des codons 11 et 15 du gène BRAF</b>
<b>CARACTÉRISTIQUES</b>
Représentent 3% des mutations dans les adénocarcinomes du poumon, surviennent de préférence chez les fumeurs et sont plus volontiers corrélées à une histologie papillaire. La V600E (50% des mutations) est en général la seule recherchée sauf si une technique exhaustive de type séquençage est utilisée. Leur présence est corrélée à la réponse aux inhibiteurs de BRAF (Essais cliniques accessibles).
<b>BUT</b>
<b>PROGRAMME DE DÉTECTION BIOMARQUEURS ÉMERGENTS</b> <b>INCLUSION ESSAIS CLINIQUES : ESSAIS AVEC INHIBITEURS DE BRAF</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Adénocarcinomes et carcinomes du poumon non à petites cellules de stade pTNM IIIB ou IV et tous les stades pour les patients non opérables</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Extraction ADN de la tumeur (macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>PCR ASO (V600E) / si échec Pyroséquencage</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou rarement exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive ou métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales (Limite détection technique 5% : tolérance 10% cellules tumorales sur le bloc)</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tumeur fixée formol neutre tamponné et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA) plus rarement congelée.</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Dr I. Rouquette
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 41 : Recherche des mutations activatrices des codons 11 et 15 du gène BRAF

## 12.4.1.3 Mutations de HER2

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
<b>Recherche des mutations du gène HER2</b>
<b>CARACTÉRISTIQUES</b>
Très rares (1,6% des adénocarcinomes bronchique), plus volontiers retrouvées chez la femme non fumeuse : il s'agit majoritairement d'une insertion/duplication A775_G776insYVMA de l'exon 20 pouvant être associée à une réponse aux inhibiteurs de HER2.
<b>BUT</b>
<b>PROGRAMME DE DÉTECTION BIOMARQUEURS ÉMERGENTS</b> <b>INCLUSION ESSAIS CLINIQUES : ESSAIS AVEC INHIBITEURS DE HER2</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Adénocarcinomes et carcinomes du poumon non à petites cellules de stade pTNM IIIB ou IV et tous les stades pour les patients non opérables</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Extraction ADN de la tumeur (macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>HRM et Pyroséquencage</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou rarement exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive ou métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales (Limite détection technique 5% : tolérance 10% cellules tumorales sur le bloc)</li> </ul>
<b>Modalités de fixation</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tumeur fixée formol neutre tamponné et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA) plus rarement congelée.</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Dr I. Rouquette
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 42 : Recherche des mutations de HER2

## 12.4.1.4 Mutation de PIK3A

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
<b>Recherche des mutations des exons 9 et 20 du gène PIK3A</b>
<b>CARACTÉRISTIQUES</b>
Très rares dans l'adénocarcinome (1,3% des adénocarcinomes)
<b>BUT</b>
<b>PROGRAMME DE DÉTECTION BIOMARQUEURS ÉMERGENTS</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Adénocarcinomes et carcinomes du poumon non à petites cellules de stade pTNM IIIB ou IV et tous les stades pour les patients non opérables</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Extraction ADN de la tumeur (macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>Séquençage direct</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou rarement exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive ou métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales (Limite détection technique 5% : tolérance 10% cellules tumorales sur le bloc)</li> </ul>
<b>Modalités de fixation</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tumeur fixée formol neutre tamponné et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA) plus rarement congelée.</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'Oncogénétique du Pr G.Fabre, IUCT Oncopole Toulouse.
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 43 : Recherche des mutations des exons 9 et 20 du gène PIK3A

## 12.4.2 Programme AcSé

Dans le cadre du premier essai portant sur le crizotinib du programme AcSé (voir **chapitre 5.3**), l'amplification d'ALK, MET et la translocation de Ros sont recherchées dans le cancer bronchique comme cibles potentielles du crizotinib.

## 12.4.2.1 Amplification de MET

La surexpression de MET est fréquente dans le cancer bronchique plus souvent dans l'adénocarcinome (27 à 67%), moins dans les épidermoïdes (0,7 à 57%). Elle pourrait être corrélée à un risque plus élevé de développement métastatique.

L'amplification de MET est un des mécanismes de résistance aux ITK de l'EGFR.

Elle est retrouvée dans 20% des tumeurs mutées pour EGFR : dans ces cas se produit une hétérodimérisation de MET et HER3 : si on inhibe CMET la sensibilité aux ITK est rétablie. Elle peut être inhibée par un anticorps monoclonal humanisé (Onartuzumab) mais aussi par le crizotinib ou des ITK à large spectre.

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, l'amplification de MET est recherchée selon **une stratégie en 2 étapes** :

- ▶ Recherche de la surexpression par immunohistochimie avec l'anticorps clone SP44,
- ▶ Contrôle par FISH pour les cas positifs en immunohistochimie (Score 3+ sur > 50 % de cellules tumorales positives (diffus ou focal),
- ▶ La positivité est fixée à un nombre de copies > 6 en moyenne sur 100 noyaux analysés (dans un ou plusieurs hotspots) et le ratio doit être déterminé avec une sonde centromérique mais il n'y a pas de seuil fixé pour ce ratio.

#### 12.4.2.2 Amplification d'ALK

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, l'amplification du gène ALK est recherchée selon **une stratégie en 2 étapes** :

- ▶ Recherche de la surexpression par immunohistochimie avec l'anticorps clone D5F3 ou 5A4,
- ▶ Contrôle par FISH pour les cas positifs en immunohistochimie (Score 1+ 2+ ou 3+ sur > 10 % de cellules tumorales (diffus cytoplasmique)
  - Recherche de la translocation avec une sonde « Break apart »
  - Contrôle de l'amplification (différentiation avec la polysomie) si le nombre de copies > 6 en moyenne sur 100 noyaux analysés (dans un ou plusieurs hotspots) par hybridation de la sonde centromérique.

#### 12.4.2.3 Translocation de ROS1

ROS1 (c-ros oncogene 1) est un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase.

Un réarrangement chromosomique impliquant ROS1 avec pour partenaires principaux CD74 et SLC34A2 a été décrit chez des patients jeunes porteurs d'adénocarcinomes et le plus souvent non-fumeurs comme pour ALK : ce réarrangement est corrélé à une réponse au crizotinib.

Le test sera limité aux tumeurs « triples négatives » pour limiter le nombre d'analyses (EGFR/KRAS/ALK WT).

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, l'amplification de ROS est recherchée selon **une stratégie en 2 étapes** :

- ▶ Recherche de la translocation de ROS1 par immunohistochimie avec l'anticorps clone D4D6,
- ▶ Contrôle par FISH (une sonde break apart qui met en évidence la cassure de Ros) dès qu'un signal cytoplasmique d'intensité 1+, 2+ ou 3+ est observé en immunohistochimie.
- ▶ Un résultat est positif si l'on identifie au moins 15 % de noyaux réarrangés sur au moins 100 noyaux analysés (sauf en cas de prélèvements très petits où l'on ne peut compter que 60 noyaux).

## Chapitre 13 - SARCOME - ACTUALISATION 2017

*Dernière actualisation : Septembre 2017*

### Comité

Paul Bonnevalle

Anne Gomez-Brouchet

Christine Chevreau

*Sophie Le Guellec*

Philippe Rochaix

Jérôme Salles de Gauzy

La classification des sarcomes, initialement basée sur des critères morphologiques et immunohistochimiques intègre actuellement pour de nombreuses entités des critères moléculaires. Des anomalies génétiques simples et récurrentes (mutation, translocation, amplification) sont détectées dans environ 50% des sarcomes et constituent des marqueurs diagnostiques dont l'identification est dans de nombreux cas indispensable au diagnostic de certitude. En France, le travail en réseau, facilite leur réalisation et leur financement par l'intermédiaire du réseau RRePS, qui organise **la double lecture** (pour tout nouveau cas de sarcome, GIST, tumeur desmoïde ou autre tumeur à malignité intermédiaire depuis le 1 janvier 2010) et la réalisation des **analyses moléculaires** pour les sarcomes des tissus mous, GIST et les tumeurs desmoïdes.

La caractérisation moléculaire d'un sarcome est une RECOMMANDATION FORTE.

- › En effet dans l'expérience du Groupe Sarcome Français (GSF), malgré une relecture centralisée, la pratique systématique de ces examens permet de redresser le diagnostic du type de sarcome dans près de 10 % des cas ;
- › Certains types de sarcome sont susceptibles de bénéficier d'une thérapeutique ciblée ;
- › Cette caractérisation moléculaire est nécessaire pour les cas inclus dans un protocole.

Pour de plus amples informations, consultez le site du réseau RRePS : <https://rreps.sarcomabcb.org/>.

## 13.1. TABLEAUX DE SYNTHÈSE DES TESTS RÉALISÉS SUR LA PLATEFORME DE GÉNÉTIQUE DES CANCERS DE MIDI-PYRÉNÉES

### 13.1.1 Réarrangement du gène SYT

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Réarrangement du gène SYT (ou SS18)
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE DU SYNOVIALOSARCOME</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sarcomes à cellules fusiformes monomorphes et/ou biphasiques</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH), sonde break-apart</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 44 : Réarrangement de SYT (ou SS18)

## 13.1.2 Réarrangement du gène EWSR1 (EWS)

### 13.1.2.1 Recherche du réarrangement du gène EWSR1

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Réarrangement du gène <i>EWSR1</i>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE de nombreux sarcomes (cf Tableau 46)</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Sarcomes à cellules monomorphes</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH), sonde break-apart</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 45 : Réarrangement du gène EWSR1

### 13.1.2.2 Tumeurs à malignité intermédiaire présentant un réarrangement du gène EWS

Tumeurs	Chromosomes	Gènes	Prévalence
<b>Tumeur de la famille Ewing (10/20% extra-osseux)</b>	t(11;22)(q24 ;q12)	<b>EWSR1-FLI1</b>	85-95%
	t(21;22)(q22 ;q12)	<b>EWSR1-ERG</b>	5-10%
	t(7 ;22)(p22 ;q12)	<b>EWSR1-ETV1</b>	<1%
	t(17 ;22)(q12 ;q12)	<b>EWSR1-ETV4</b>	Rare
	t(2 ;22)(q33 ;q12)	<b>EWSR1-FEV</b>	Rare
	t(1 ;22)(p36 ;q12)	<b>EWSR1-ZSG</b>	Rare
	t(4 ;22)(q31 ;q12)	<b>EWSR1-SMARCA5</b>	Rare
	t(16 ;21)(p11 ;q22)	<b>FUS-ERG</b>	Rare
<b>Sarcome à cellules claires</b>	t(12 ;22)(q13 ;q12)	ATF1-EWSR1	>90%
	t(2 ;22)(q33 ;q12)	EWSR1-CREB1	Rare
<b>Tumeur desmoplastique à petites cellules rondes</b>	t(11 ;22)(p13 ;q12)	WT1-EWSR1	>90%
	t(21 ;22)(q22 ;q12)	ERG-EWSR1	Rare
<b>Chondrosarcome myxoïde extra-squelettique</b>	t(9 ;22)(q22 ;q12)	EWSR1-NR4A3	75%
	t(9 ;17)(q22 ;q21)	TAF2N-NR4A3	25%
<b>Fibrosarcome épithélioïde sclérosant</b>	t(11 ;22)(p11 ;p12)	EWSR1-CREB3L2	Inconnu
<b>Sarcome myxoïde pulmonaire primitif</b>	t(2 ;22)(q13 ;q12)	EWSR1-CREB1	Inconnu
<b>Histiocytome fibreux angiomatoïde</b>	t(2 ;22)(q34 ;q12)	EWSR1-CREB1	90%
	t(12 ;22)(q13 ;q12)	EWSR1-ATF1	10%
	t(12 ;16)(q13 ;q11)	ATF1-FUS	Rare
<b>Myoépithéliome des tissus mous</b>	t(22 ;6)(q12 ;p21)	EWSR1-POU5F1	45%
	t(22 ;1)(q12 ;q23)	EWSR1-PBX1	
	t(22 ;19)(q12 ;q13)	EWSR1-ZNF444	Rare

Tableau 46 : Sarcomes et tissus mous à malignité intermédiaire présentant un réarrangement du gène EWS



### 13.1.3 Réarrangement du gène DDIT3

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Réarrangement du gène <i>DDIT3</i>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE du liposarcome myxoïde / à cellules rondes</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Sarcomes à cellules ovoïdes monomorphes</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH), sonde break-apart</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 47 : Réarrangement du gène *DDIT3*

### 13.1.4 Réarrangement du gène ALK

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Réarrangement du gène <i>ALK</i>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE de la tumeur myofibroblastique inflammatoire</b> <b>MARQUEUR THÉRAPEUTIQUE</b> : la prescription d'une thérapie ciblée de type inhibiteur tyrosine kinase (Crizotinib/Xalkori®) est conditionnée par la présence de cette anomalie moléculaire.
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur myofibroblastique</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH), sonde de break-apart</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 48 : Réarrangement du gène *ALK*

### 13.1.5 Réarrangement du gène TFE3

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Réarrangement du gène <i>TFE3</i>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE du sarcome alvéolaire des parties molles</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Sarcomes à cellules ovoïdes monomorphes</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH), sonde de break-apart</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>Type de tumeur : tumeur primitive, récidive, métastase</li> <li>Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 49 : Réarrangement du gène *TFE3*

### 13.1.6 Réarrangement du gène *ETV6*

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Réarrangement du gène <i>ETV6</i>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE du fibrosarcome infantile</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Sarcomes à cellules fusiformes monomorphes de l'enfant</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH), sonde de break-apart</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>Type de tumeur : tumeur primitive, récidive, métastase</li> <li>Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 50 : Réarrangement du gène *ETV6*

### 13.1.7 Réarrangement du gène FUS

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Réarrangement du gène <i>FUS</i>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b> du sarcome fibromyxoïde de bas grade, de quelques cas de liposarcomes myxoides et de quelques cas d'histiocytome fibreux angiomatoïde
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Sarcomes à cellules monomorphes</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH), sonde de break-apart</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 51 : Réarrangement du gène *FUS*

### 13.1.8 Réarrangement du gène *FOXO1A*

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Réarrangement du gène <i>FOXO1A</i>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE du rhabdomyosarcome alvéolaire</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Sarcomes à cellules monomorphes</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH), sonde de break-apart</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 52 : Réarrangement du gène *FOXO1A*

### 13.1.9 Amplification du gène *MDM2*

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Réarrangement du gène <i>MDM2</i>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE du liposarcome bien différencié et dédifférencié</b> <b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE de l'ostéosarcome de bas grade et dédifférencié</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tous les sarcomes du rétro-péritoine (quel que soit l'expression de MDM2 en immunohistochimie)</li> <li>• Tous les sarcomes présentant une surexpression de MDM2 en immunohistochimie (quel que soit leur localisation)</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH)</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA) pour le liposarcome bien différencié et dédifférencié.</li> <li>• Tumeur congelée pour l'ostéosarcome de bas grade et dédifférencié.</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 53 : Amplification du gène *MDM2*

## 13.1.10 Translocation t(17 ;22)(q22 ; q23)

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Translocation t(17 ;22)(q22 ; q23)
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b> du dermatofibrosarcome de Darier-Ferrand (DFSP) <b>MARQUEUR THÉRAPEUTIQUE</b> : La prescription de la thérapie ciblée de type inhibiteur tyrosine kinase (Imatinib /Glivec <input type="checkbox"/> ) est conditionnée par la présence de cette anomalie moléculaire ; chez les patients adultes atteints porteur d'un DFSP ou d'un fibrosarcome développé sur DFSP non résecable et patients adultes atteints de DFSP en rechute et/ou métastatique ne relevant pas d'un traitement chirurgical
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur à cellules fusiformes monomorphes dermique.</li> <li>• Fibrosarcome possiblement développé sur un dermatofibrosarcome de Darier-Ferrand préexistant</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH). Sonde de break-apart et de fusion</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<b>Modalités de prélèvement</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul>
<b>Modalités de fixation</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA)</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 54 : Translocation t(17 ;22)(q22 ;q13)



## 13.1.11 Amplification de c-myc

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Amplification de <i>C-MYC</i>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DE MALIGNITÉ : Diagnostic différentiel entre « angiosarcome » et « lésion vasculaire atypique » sur tissus irradiés</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diagnostic différentiel entre « angiosarcome » et « lésion vasculaire atypique » sur tissus irradiés</li> <li>• Angiosarcome en tissus irradiés</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH).</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA)</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 55 : Amplification du gène *C-MYC*

### 13.1.12 Sarcomes du stroma endométrial

Le sarcome endométrial de bas grade de l'utérus présente dans 50 à 80 % une translocation JAZF1 / JAZ1 avec gène de fusion. Cette translocation n'est observée que dans le sarcome endométrial de bas grade et non dans les autres sarcomes utérin, elle est donc diagnostique. Elle peut se mettre en évidence par technique FISH.

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
<b>Translocation du gène JAZF1</b>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b> du sarcome du stroma endométrial de bas grade de l'utérus
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sarcome endométrial de bas grade de l'utérus : diagnostic positif ou différentiel avec les autres sarcomes utérins</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hybridation in Situ par Fluorescence (FISH).</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou rarement exérèse chirurgicale</li> <li>• <b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive ou métastase</li> <li>• <b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Tumeur fixée formol neutre tamponné et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 56 : Translocation du gène JAZF1

## 13.1.13 Mutation du gène de la bêta-caténine (CTNNB1)

<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Mutation de l'exon 3 du gène CTNNB1
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE : de la tumeur desmoïde (fibromatose profonde) (présent dans 85/90% des fibromatoses profondes)</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur fibroblastique à cellules fusiformes</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraction ADN de la tumeur après contrôle morphologique</li> <li>• Criblage par HRM de l'exon 3 de CTNNB1</li> <li>• Séquençage de l'exon variant pour identification de la mutation</li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive, récurrence, métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur congelée ou fixée au formol neutre tamponné et incluse en paraffine (pas acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA)</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsables : Dr S. Le Guellec / Dr P. Rochaix
<b>Délai de réponse</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 57 : Mutation de l'exon 3 du gène CTNNB1

### 13.1.14 Génotypage KIT / PDGFRA

Des mutations primaires de KIT ou PDGFRA sont présentes dans 85 % des GIST (15 % des GIST sont donc sans mutation : « sauvages » ou « wild type »). Il s'agit de mutations « gain de fonction » des exons 11 (70%) ou exon 9 (10 à 15 %) du gène *KIT* et exon 18 de *PDGFRA* (dont la plus fréquente est la mutation ponctuelle D842V), plus rarement exon 13 et 17 de *KIT* et exon 12 ou 14 de *PDGFRA* (< 1% chacune).

#### 13.1.14.1 Génotypage KIT/PDGFRA à visée diagnostique

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).

#### 13.1.14.2 Génotypage KIT / PDGFRA et traitement par imatinib

(Selon les recommandations du Thésaurus National de Cancérologie Digestive)

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.

- ▶ Traitement par imatinib des GIST métastatiques
  - Mutation exon 9 *KIT*: traitement d'emblée à 800 mg/j recommandé
  - Mutation D842V de l'exon 18 de *PDGFRA* (GIST gastrique) : imatinib non efficace
  
- ▶ Traitement adjuvant par imatinib des formes de haut risque évolutif (*Définies selon la classification de Miettinen, en tenant compte d'une perforation, ou la classification de Joensuu*) :
  - Mutation exon 11 *KIT* : bénéfique du traitement par imatinib
  - Mutation exon 9 *KIT* : pas de bénéfice du traitement par imatinib
  - Mutation D842V de l'exon 18 de *PDGFRA* : pas de bénéfice du traitement par imatinib selon les premières études

Test réalisé sur la plateforme de Midi-Pyrénées depuis 2010 (laboratoire d'Anatomie Pathologique et d'Hématologie, à l'IUCT Oncopole) de façon systématique pour toutes les GIST au diagnostic (sauf micro-GIST non rectale).

INDISPENSABLE		UTILE	
<b>ANOMALIE MOLECULAIRE</b>			
<b>Identifier les mutations KIT et PDGFR alpha des tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST)</b>			
<b>BUT</b>			
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>		<b>MARQUEUR THERAPEUTIQUE TRAITEMENT ADJUVANT</b>	
<b>INDICATIONS</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>GIST KIT/DOG1-négatives en immunohistochimie (toute tumeur conjonctive susceptibles d'être une GIST mais n'exprimant pas KIT ni DOG1)</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Toute GIST localement avancée (traitement néo-adjuvant) ou métastatique</li> <li>Toute GIST avec un risque significatif de rechute selon la classification de Miettinen (AFIP)</li> </ul>	
<b>TECHNIQUES</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>Extraction ADN de la tumeur après contrôle morphologique</li> <li>Criblage par HRM des exons 9, 11, 13, 17 de <i>KIT</i> et des exons 12, 14, 18 de <i>PDGFR-A</i></li> <li>Séquençage de l'exon variant pour identification de la mutation</li> </ul>			
<b>MODALITES DE PREPARATION DU MATERIEL TUMORAL</b>			
<b>Modalités de prélèvement</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>Type de prélèvement : exérèse chirurgicale ou biopsie (matériel suffisant et de qualité adéquate pour l'examen de biologie moléculaire)</li> <li>Type de tumeur: tumeur primitive ou métastase</li> <li>Quantité de matériel: choisir un bloc riche en cellules tumorales et quantité ADN suffisante pour analyse de l'ensemble des exons</li> </ul>			
<b>Modalités de fixation</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>Tumeur congelée ou fixée formol et incluse en paraffine (pas d'acide picrique, pas d'AFA, autres fixateurs que le formol déconseillés).</li> </ul>			
<b>LABORATOIRE</b>			
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Plateforme hospitalière de génétique moléculaire des cancers de Midi-Pyrénées, labellisée et soutenue par l'INCa - Responsables : Pr J. Selves, D. Grand			
<b>DELAI DE REPONSE</b>			
2 à 3 semaines			

Tableau 58 : Identifier les mutations KIT et PDGFR alpha des tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST)

## 13.2. TABLEAUX DE SYNTHÈSE DES TESTS RÉALISÉS À L'INSTITUT BERGONIÉ

<b>CONTACT</b>	DÉPARTEMENT DE PATHOLOGIE
	<b>Pr Jean-Michel Coindre</b>
	Institut Bergonié
	229, cours de l'Argonne - 33076 Bordeaux
	☎ : 05.56.33.04.36 / 05.56.33.33.29
	✉ : <a href="mailto:J.Coindre@bordeaux.unicancer.fr">J.Coindre@bordeaux.unicancer.fr</a>

Type de tumeur	Anomalie moléculaire	Type d'analyse	Matériel utilisable	Délai moyen de réponse (J)
<u>Synoviosarcome</u>	Transcrits de fusion <i>SYT-SSX1/SSX2</i>	RT-PCR sur Taqman	Congélation Paraffine	7
	Réarrangement de <i>SS18 (SYT)</i>	FISH	Paraffine formol Empreintes	15
<u>Ewing</u>	Transcrits de fusion <i>EWSR1-FLI1/ERG</i>	RT-PCR sur Taqman	Congélation	7
	Réarrangement de <i>EWSR1</i>	FISH	Paraffine formol Empreintes	15
<u>Rhabdomyosarcome alvéolaire</u>	Transcrits de fusion <i>FOXO1 (FKHR)-PAX3/PAX7</i>	RT-PCR sur Taqman	Congélation Paraffine	7
	Réarrangement de <i>FOXO1 (FKHR)</i>	FISH	Paraffine formol Empreintes	15
<u>Sarcome à cellules claires</u>	Transcrits de fusion <i>EWSR1-ATF1</i>	RT-PCR sur Taqman	Congélation Paraffine	7
	Réarrangement de <i>EWSR1</i>	FISH	Paraffine formol Empreintes	15
<u>Fibrosarcome infantile</u>	Transcrits de fusion <i>ETV6-NTRK3</i>	RT-PCR sur Taqman	Congélation	7
<u>Carcinome sécrétoire juvénile mammaire</u>			Paraffine	
<u>Néphrome mésoblastique</u>	Réarrangement d' <i>ETV6</i>	FISH	Paraffine formol Empreintes	15
<u>Tumeur desmoplastique à cellules rondes</u>	Transcrits de fusion <i>WT1-EWSR1</i>	RT-PCR sur Taqman	Congélation Paraffine	7
	Réarrangement d' <i>EWSR1</i>	FISH	Paraffine formol Empreintes	15
<u>Chondrosarcome myxoïde extra-squelettique</u>	Transcrits de fusion <i>TEC-EWSR1/TAF2N</i>	RT-PCR sur Taqman	Congélation Paraffine	7
	Réarrangement d' <i>EWSR1</i>	FISH	Paraffine formol Empreintes	15
<u>Liposarcome myxoïde et à cellules rondes</u>	Réarrangement de <i>CHOP</i>	FISH	Paraffine formol Empreintes	15
	Transcrits de fusion <i>TLS-CHOP</i>	RT-PCR sur Taqman	Congélation Paraffine	7
	Réarrangement d' <i>EWSR1, TLS</i>	FISH	Paraffine formol Empreinte	15

Type de tumeur	Anomalie moléculaire	Type d'analyse	Matériel utilisable	Délai moyen de réponse
	Réarrangement de <i>TLS</i>	FISH	Paraffine formol Empreintes	15 jours
<b><u>Sarcome fibromyxoïde de bas grade</u></b>	Fusion de <i>TLS/CREB3L2</i>	FISH	Empreintes Congélation Paraffine formol	7 à 15 jours
	Fusion de <i>TLS/CREB3L2</i>	FISH RT-PCR	Paraffine formol Congélation	15 jours
<b><u>Liposarcome différencié /dédifférencié</u></b>	Amplification de <i>MDM2/CDK4</i>	Q-PCR sur Taqman	Congélation Paraffine	7 jours
	Amplification de <i>MDM2/CDK4</i>	FISH	Paraffine formol Empreintes	15 jours
<b><u>GIST</u></b>	Mutations des exons 9, 11, 13 et 17 de <i>KIT</i> et des exons 12, 14 et 18 de <i>PDGFRA</i>	Criblage par DHPLC et séquençage bidirectionnel de l'exon variant	Congélation Paraffine formol	1 mois
<b><u>Histiocytofibrome angiomatoïde</u></b>	Réarrangement d' <i>EWSR1 et TLS</i>	FISH	Empreintes Paraffine formol	15 jours
<b><u>Dermatofibrosarcome de Darier-Ferrand</u></b>	Réarrangement de <i>PDGFB</i>	FISH	Empreintes Paraffine formol	15 jours
	Fusion <i>COL1A1-PDGFB</i>	FISH	Empreintes Paraffine formol	15 jours
<b><u>Tumeur myofibroblastique inflammatoire</u></b>	Réarrangement d' <i>ALK</i>	FISH	Empreintes Paraffine formol	15 jours
<b><u>Fibromatose et tumeur desmoïde extra-abdominale</u></b>	Mutation de <i>β-caténine</i>	Séquençage direct	Congélation Paraffine formol	7 jours
<b><u>Sarcome du stroma endometrial</u></b>	Réarrangement de <i>JAZF1</i>	FISH	Empreintes Paraffine formol	15 jours

(Tableau issu du site du GST : <http://www.gsf-geto.org/>)

## Chapitre 14 - SÉNOLOGIE

*Dernière actualisation : Décembre 2016*

### Comité

Florence Dalenc

Raphaëlle Duprez-Paumier

*Camille Franchet*

Eva Jouve

Anne Pradines

Henri Roché

Charlotte Vaysse

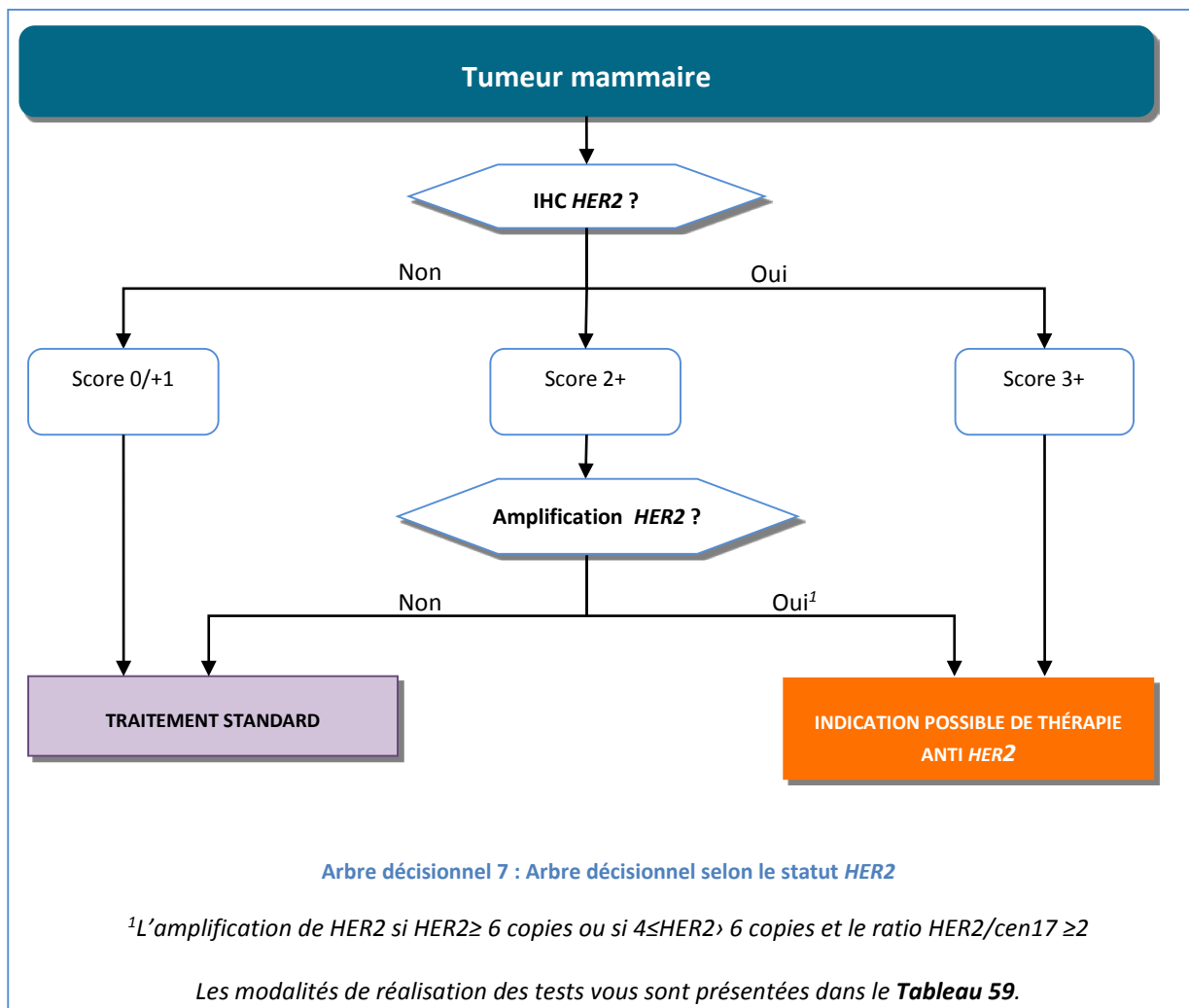


## 14.1. A VISÉE THÉRAPEUTIQUE

### 14.1.1 Prescription de thérapie ciblée anti *HER2*

Il est indispensable d'évaluer le niveau d'expression de l'oncoprotéine *HER2* en immunohistochimie et / ou l'amplification du gène *HER2* en hybridation in situ pour prescrire une thérapie ciblée anti-*HER2* (trastuzumab Herceptin®, Lapatinib Tyverb®) dans le traitement des tumeurs mammaires.

En pratique, sur la plateforme de Midi-Pyrénées, l'évaluation du niveau d'amplification du gène *HER2* est réalisée selon la stratégie proposée dans l'arbre décisionnel ci-dessous.



<b>INDISPENSABLE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Evaluer le niveau d'amplification du gène <i>HER2</i> au niveau des cellules carcinomateuses infiltrantes sur coupe histologique.
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR THÉRAPEUTIQUE : facteur de prédiction à la réponse aux anti-HER2</b>
<b>MARQUEUR PRONOSTIQUE : surexpression / amplification de <i>HER2</i> corrélée à un mauvais pronostic</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeurs mammaires infiltrantes</li> <li>• En recours à l'immunohistochimie de première intention (cf. arbre décisionnel) pour les scores 2+, en cas d'IHC ininterprétable ou litigieuse, en cas de marquage 3+ hétérogène et dans le cadre de test d'Assurance Qualité (calibration technique IHC)</li> </ul>
<b>Techniques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• FISH/ CISH / DDISH / SISH <i>HER2</i></li> </ul>
<b>Modalités de préparation du matériel tumoral</b>
<p><b>Modalités de prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type de prélèvement : biopsie ou exérèse chirurgicale ou prélèvement cytologique</li> <li>• Type de tumeur : tumeur primitive ou métastase</li> <li>• Quantité de matériel : choisir le bloc avec les zones tumorales les mieux différenciées</li> </ul> <p><b>Modalités de fixation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur fixée au formol et incluse en paraffine (à l'exclusion des fixateurs avec acide picrique tels que le Bouin, le Dubosc aqueux, AFA contre indiqué) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Délai de fixation rapide (&lt;1h de la dévascularisation)</li> <li>• Fixation minimale de 24h pour les pièces, 6h pour les biopsies (jamais plus de 72h → sur-fixation, jamais moins de 6h → sous-fixation)</li> <li>• Ouvrir les pièces (éviter sous-fixation)</li> </ul> </li> <li>• Tumeur congelée possible</li> </ul>
<b>Laboratoires</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Dr Camille Franchet
<b>Délai de réponse</b>
7 à 10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 59 : Evaluer le niveau d'amplification du gène *HER2* au niveau des cellules carcinomateuses infiltrantes sur coupe histologique.

La technique est disponible en Midi-Pyrénées dans les centres spécialisés (ICR, CHU Toulouse) ainsi que dans certains laboratoires et cabinets de pathologies privés.

## 14.2. GÉNOTYPAGE UTILE AU DIAGNOSTIC

La recherche du réarrangement d'*ETV6* peut être utile pour classifier le sous-type de carcinome du sein de type sécrétoire.

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
Recherche de réarrangement d' <i>ETV6</i> au niveau du sous-type de carcinome du sein de type sécrétoire sur coupe histologique.
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR DIAGNOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinome infiltrant mammaire de type sécrétoire</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hybridation In Situ par Fluorescence (FISH) split apart <i>ETV6</i>.</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• <b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive. Métastase possible</li> <li>• <b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc avec les zones tumorales les mieux différenciées</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Tumeur fixée formol neutre tamponné et incluse en paraffine</b> (à l'exclusion des fixateurs avec acide picrique tels que le Bouin ou le Dubosq aqueux, AFA contre indiqué.)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Dr Camille Franchet
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 à 10 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 60 : Recherche du réarrangement d'*ETV6* au niveau du sous type de carcinome du sein de type sécrétoire sur coupe histologique.

### 14.3. GÉNOTYPAGE UTILE AU TRAITEMENT

Pour les patientes ménopausées présentant un cancer du sein de stade précoce avec récepteurs hormonaux positifs (RH+), un test d'expression génique pronostique Prosigna® (PAM50) pourra être réalisé sur tumeur en vue d'un accès à un traitement thérapeutique adapté.

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
<b>Profil d'expression génique</b>
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR PRONOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Patiente ménopausée présentant un cancer du sein de stade précoce</li> <li>• Tumeur avec récepteurs hormonaux positifs</li> <li>• Tumeur avec ou sans envahissement ganglionnaire (stades I, II et IIIA)</li> <li>• Patiente éligible à un traitement adjuvant</li> </ul>
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Test PROSIGNA® (PAM 50)</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Type de prélèvement</b> : biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li>• <b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive. Métastase possible</li> <li>• <b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc avec les zones tumorales les mieux différenciées</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Tumeur fixée formol neutre tamponné et incluse en paraffine</b> (à l'exclusion des fixateurs avec acide picrique tels que le Bouin ou le Dubosq aqueux, AFA contre indiqué.)</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire de biologie médicale oncologique du Pr Favre, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Dr Anne Pradines
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 à 15 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé dans le service.

Tableau 61 : Profil d'expression génique Prosigna®

## Chapitre 15 - THYROÏDE

*Dernière actualisation : Juin 2016*

### Comité

Philippe Caron

Laetitia Collin

Anne Decote

Solange Grunenwald

*Isabelle Rouquette*

Claire Renaud

Jérôme Sarini

Frédérique Savagner

Elie Serrano

Slimane Zerdoud

Pas d'examens de biologie moléculaire indispensable à ce jour.

## 15.1. GÉNOTYPAGE UTILE AU DIAGNOSTIC ET AU TRAITEMENT

La recherche de différents marqueurs moléculaires (en particulier mutation de BRAF, réarrangement de RET/PTC, mutation RAS, réarrangement PAX8/PPAR, mutations RET) peut être utile pour le diagnostic, pour la prise en charge thérapeutique et pour le suivi des patients.

Dans le cas des diagnostics réalisés à partir de cytoponction thyroïdiennes à l'aiguille fine, la recherche de la mutation BRAF V600E peut s'avérer utile pour améliorer le diagnostic des lésions de nature indéterminée. En effet, la présence de cette mutation oriente vers un diagnostic de carcinome papillaire de la thyroïde.

Egalement, dans la maladie métastatique, la mutation BRAF est aujourd'hui un outil utile pour certaine thérapie ciblée comme par exemple le DABRAFANIB qui non seulement semble être intéressant chez les patients mutés en terme de contrôle de la maladie mais également en terme de redifférenciation pour associer ou retraiter par l'iode 131<sup>25</sup>.

<b>UTILE</b>
<b>ANOMALIE MOLÉCULAIRE</b>
<b>Recherche mutation V600E du gène BRAF</b>
<b>CARACTÉRISTIQUES</b>
La V600E est retrouvée dans 45% des tumeurs papillaires de la thyroïde (marqueur spécifique).
<b>BUT</b>
<b>MARQUEUR PRONOSTIQUE</b>
<b>INDICATIONS</b>
Lésions thyroïdiennes
<b>TECHNIQUE</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Extraction ADN de la tumeur (macrodissection de la zone la plus riche en cellules tumorales)</li> <li>PCR ASO (V600E) / si échec Pyroséquencage</li> </ul>
<b>MODALITÉS DE PRÉPARATION DU MATÉRIEL TUMORAL</b>
<b>Modalités de prélèvement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Type de prélèvement</b> : cytoponction ou biopsie ou exérèse chirurgicale</li> <li><b>Type de tumeur</b> : tumeur primitive ou métastase</li> <li><b>Quantité de matériel</b> : choisir le bloc le plus riche en cellules tumorales (Limite détection technique 5% : tolérance 10% cellules tumorales sur le bloc)</li> </ul> <b>Modalités de fixation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Tumeur fixée formol neutre tamponné et incluse en paraffine</b> (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA) plus rarement congelée.</li> </ul>
<b>LABORATOIRE</b>
Laboratoire d'anatomie pathologique du Pr Brousset, IUCT Oncopole Toulouse. Responsable : Dr I. Rouquette
<b>DÉLAI DE RÉPONSE</b>
7 jours à partir du moment où le prélèvement est arrivé sur la plateforme

Tableau 62 : Recherche des mutations de BRAF dans les lésions de la thyroïde

<sup>25</sup> Rothenberg SM, McFadden DG, Palmer EL, et al 2015 Redifferentiation of iodine-refractory BRAF V600E-mutant metastatic papillary thyroid cancer with dabrafenib. [Clin Cancer Res 21:1028-35](#)

---

## 15.2. PROGRAMME ACSÉ

---

Dans le cadre du programme AcSé et du premier essai portant sur le crizotinib (voir chapitre 5.3 page 21), la translocation et les mutations d'ALK et de MET sont recherchées dans les cancers anaplasiques de la thyroïde.

### 15.2.1 Translocation de ALK

Sur la plateforme de Midi-Pyrénées, le réarrangement du gène ALK est recherché selon **une stratégie en 2 étapes** :

- ▶ Criblage par immunohistochimie de l'ensemble des patients (clone D5F3)
- ▶ Recherche du réarrangement par la technique FISH (hybridation in situ en immunofluorescence) qui est la technique de référence à l'aide de sondes dites « break apart » qui mettent en évidence la cassure d'ALK. Elle est réalisée pour les cas positifs en immunohistochimie, c'est-à-dire score 1+, 2+ ou « + pour > 10 % de cellules tumorales
- ▶ Un résultat est considéré comme positif si l'on identifie en FISH au moins 15 % de noyaux réarrangés sur au moins 100 noyaux analysés.

### 15.2.2 Mutation de ALK

Sur la plateforme de Midi-Pyrénées, les mutations de ALK (exons 23 à 25) sont recherchées d'emblée, par HRM suivi de séquençage, sans pré-criblage par immunohistochimie.<sup>26</sup>

### 15.2.3 Mutation de MET

Sur la plateforme de Midi-Pyrénées, les mutations de MET (exons 14 et 16 à 19) sont recherchées d'emblée, par HRM suivi de séquençage, sans pré-criblage par immunohistochimie.

---

<sup>26</sup>selon Minoo P. and Wang HY : [Int J Clin Exp Pathol. 2012; 5 \(5\) :397-410.](#)

## Chapitre 16 - UROLOGIE

---

*Dernière actualisation : Novembre 2016*

### Comité

Christine Chevreau

*Marie-Laure Quintyn-Ranty*

Loïc Mourey



## 16.1. CANCERS DU REIN

Depuis 2007 sont apparues **3 différentes classes thérapeutiques** dans la prise en charge du rein métastatique qui ont complété un arsenal qui jusqu'alors était limité aux molécules utilisées dans le cadre de l'immunothérapie. Ces trois classes sont :

- ▶ Les inhibiteurs des *tyrosines kinases* (sorafénib, sunitinib, axitinib)
- ▶ Les anticorps anti-*VEGF* (bevacizumab qui est associé à l'interféron alpha dans les cancers évolués)
- ▶ Les inhibiteurs de *mTOR* (temsirolimus et évérolimus)

Tous ces traitements ont soit **une action antiangiogénique directe** par fixation d'anticorps anti *VEGF* ou par fixation des antityrosines kinases sur le récepteur membranaire du *VEGF* soit **une action d'inhibition** de la voie métabolique *PIK/AKT/mTOR* qui joue un rôle sur la régulation du métabolisme, la croissance, la progression du cycle et la survie cellulaire. Actuellement les indications thérapeutiques dépendent du type de tumeur métastatique et du groupe pronostique auquel appartient le patient (bon, intermédiaire ou défavorable). Ce groupe pronostique est établi selon l'existence ou non de **5 critères cliniques et biologiques** et ne fait pas intervenir de marqueurs moléculaires présents au sein de la tumeur.

Depuis novembre 2013, CaRaRe, réseau français financé par l'INCA, recense les tumeurs rares du rein (tous les cancers du rein sauf à cellules claires et les cancers papillaires non à cellules oncocytaires ou claires ET tous les cancers survenant avant 40 ans).

Pour de plus amples informations, d'autres renseignements sont à disposition en contactant le réseau : [carare@gustaveroussy.fr](mailto:carare@gustaveroussy.fr)

CONTACT

DÉPARTEMENT D'ONCOLOGIE MÉDICALE

**Dr Christine Chevreau**

IUCT-Oncopole Toulouse

1 avenue Irène Joliot Curie – 31059 Toulouse Cedex 9

☎ : 05.31.15.51.51

✉ : [chevreau.christine@iuct-oncopole.fr](mailto:chevreau.christine@iuct-oncopole.fr)

Pour affirmer le diagnostic, la biologie moléculaire est nécessaire pour typer de nouvelles entités de la version 2016 de la classification OMS des tumeurs urologiques : les carcinomes à cellules rénales de la famille *MiT*. Actuellement, nous disposons à l'IUCT-O de la technique de FISH *TFE3* (et de l'anticorps anti-*TFE3*) permettant le diagnostic des carcinomes à cellules rénales de la famille *MiT* à translocation *TFE3* (OMS 2016).

CONTACT

DÉPARTEMENT DE PATHOLOGIE

**Dr Audrey Delas / Dr Marie-Laure Quintyn-Ranty**

IUCT-Oncopole Toulouse

1 avenue Irène Joliot Curie – 31059 Toulouse Cedex 9

☎ : 05.31.15.62.06

✉ : [Delas.Audrey@iuct-oncopole.fr](mailto:Delas.Audrey@iuct-oncopole.fr)

---

## 16.2. CANCERS DE LA VESSIE

---

Aucune recherche d'anomalie moléculaire n'est actuellement indispensable à la prise en charge des tumeurs de vessie. Cependant le rôle des mutations activatrices du récepteur membranaire de FGFR3 apparaît fondamental. Cette mutation est présente dans plus de 75% des TVNIM (tumeurs qui n'infiltrent pas le muscle) et moins de 25% des TVIM (tumeurs qui infiltrent le muscle). Des protocoles de phase I sont actuellement en cours pour apprécier la réponse thérapeutique à des anti-FGFR3 chez des patients porteurs de mutation de FGFR3 dans des TVIM évoluées.

Il existe par ailleurs un protocole GETUG-AFU 19 de phase II sur l'efficacité d'une chimiothérapie de type MVAC-I associée ou non à du panitumumab chez des patients T4 et /ou M+ qui ne présentent pas de mutation H-Ras ou K-Ras.

---

## 16.3. CARCINOMES UROTHÉLIAUX DES VOIES EXCRÉTRICES

---

5% des patients porteurs d'un syndrome d'HNPCC vont présenter un carcinome des voies excrétrices. La recherche du statut MSI est donc recommandée chez tous les patients porteurs d'une tumeur de la voie excrétrice de moins de 60 ans et chez tous les patients qui possèdent une autre tumeur du spectre HNPCC.

---

## 16.4. CANCERS DE PROSTATE

---

La biologie moléculaire doit dans un avenir proche permettre d'améliorer l'évaluation pronostique de la maladie et de mieux choisir les séquences thérapeutiques en post chirurgie et au cours de la prise en charge des maladies localement avancées ou métastatiques.

## Chapitre 17 - ANNEXES

---

*Dernière actualisation : Novembre 2016*

## 17.1. TABLEAU RÉCAPITULATIF DES EXAMENS DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

TUMEURS	ANOMALIES RECHERCHEES	BUT		PAGES
<b>GYNECOLOGIE</b>				
Col : virus HPV	Présence du virus HPV	Diagnostic	Dépistage du virus HPV	21
Cancer de l'ovaire chez les patientes < 70 ans	Mutation BRCA1 ou BRCA2	Traitement	Prescription d'un traitement de maintenance par <i>Olaparib</i>	26
Cancer de l'endomètre et syndrome de Lynch	Instabilité microsatellitaire et méthylation <i>MLH1</i>	Diagnostic	Sélection de patientes susceptibles d'être porteuses d'un syndrome HNPCC.	24
Sarcome du stroma endométrial de bas grade	Translocation JAZF1	Diagnostic	Diagnostic du sarcome endométrial de bas grade	25
Tumeur de la granulosa adulte	Mutation FOXL2	Diagnostic		27
<b>HÉMOPATHIES</b>				
<b>PATHOLOGIES MYELOÏDES</b>				
Leucémie myéloïde chronique	Transcrit BCR-ABL (gratuit/INCA) Mutation ABL	Traitement	Prescription inhibiteur tyrosine kinase Suivi maladie résiduelle si échec ou réponse sub-optimale pour changement d'ITK	34 à 36
Polyglobulie primitive (Maladie de Vaquez)	Mutation JAK2V617F (si négatif JAK2 exon 12)	Diagnostic		36 à 37
Thrombocytémie essentielle	Mutation JAK2V617F (si négatif MPLW515)	Diagnostic		37
Myélofibrose primitive	Mutation JAK2V617F (si négatif MPLW515)	Diagnostic		38
Leucémies aiguës myéloïdes	PML-RARA si t(15 ;17) CBFB-MYH11 si inv16 AML1-ETO si t(8 ;21) BCR-ABL si t(9;22)	Diagnostic Traitement	Diagnostic et prise en charge thérapeutique Suivi de maladie résiduelle	38 à 39
	Mutations FLT3ITD, NPM1, CEBPA	Pronostic	Pronostic pour prise en charge thérapeutique	38 à 39

HÉMOPATHIES	ANOMALIES RECHERCHEES	BUT		PAGES
<b>PATHOLOGIES MYELOÏDES</b>				
Leucémies aiguës lymphoblastiques	BCR-ABL si t(9 ;22)	Diagnostic	Diagnostic et prise en charge thérapeutique Suivi de maladie résiduelle	40
	MLL-AF4 si t(4 ;11) E2A-PBX si t(1 ;19) TEL-AML1 si t(12;21)	Diagnostic	Diagnostic et suivi de maladie résiduelle	40
	Maladie résiduelle Ig/TCR	Pronostic	Pronostic pour prise en charge thérapeutique	40
Leucémie lymphoïde chronique	Statut mutationnel des chaînes lourdes des immunoglobulines	Pronostic	Pronostic pour prise en charge thérapeutique	41
Myélome	Délétion 17p/p53 t(4;14)/FGFR3-IgH	Pronostic	Pronostic pour prise en charge thérapeutique	43
<b>TUMEURS</b>				
<b>LYMPHOMES</b>				
LMNH B	Réarrangement des gènes des Ig	Diagnostic		41 à 42
LMNH T	Réarrangement des gènes du TCR	Diagnostic		41 à 42
Lymphome folliculaire	t(14;18) (q32;q21)	Diagnostic		43
Lymphome du manteau	t(11; 14)(q13;q32)	Diagnostic		44
Lymphome du Malt gastrique	t(11;18)(q21;q21)	Diagnostic		-
Lymphome de Burkitt	t(8;14) (q24 ;q32)	Diagnostic		42
Lymphome anaplasique à grandes cellules	t(2;5) (p23,q35) ; inv(2)(p23,q35) ; t(2,3)(p23,q21) ; t(2,17)(p23, q11) t(1;2) (q25, p23) ; t(2,19)(p23, p13) ; t(2,22)(p23, q11)	Diagnostic		44

TUMEURS	ANOMALIES RECHERCHEES	BUT		PAGES
<b>MÉLANOMES</b>				
Mélanome métastatique	Mutation V600 du gène BRAF	Thérapie Ciblée	Prescription d'une thérapie ciblant BRAF muté V600	49
Mélanomes métastatiques	Identification des mutations des exons 2 (codons 12, 13 et 18) et exons 3 (codon 61) de NRAS	Essais cliniques	Inclusion des patients dans des essais cliniques utilisant des inhibiteurs de MEK	50
Mélanomes métastatiques	Identification des mutations des exons 8, 9, 11, 13 et 17 de KIT	Essais cliniques	Inclusion des patients dans des essais cliniques utilisant des inhibiteurs de KIT	51
<b>NEUROLOGIE</b>				
Tumeurs oligodendrogiales	Co-délétion 1p19q	Diagnostic	Identifier un groupe de tumeurs cérébrales ayant un pronostic favorable	54
Glioblastomes	Méthylation du gène MGMT	Pronostic	Délimitation d'un groupe de patients à réponse thérapeutique favorable ; facteur pronostique probable	55
<b>PATHOLOGIE DIGESTIVE</b>				
<b>CANCERS COLORECTAUX</b>				
Adénocarcinome colique en vue d'un traitement anti-EGFR	Mutation RAS (KRAS et NRAS)	Thérapie ciblée, AMM	Prescription des anti-EGFR (cetuximab/Erbitux® et panitumumab/ VECTIBIX® : prescription conditionnée par l'absence de mutation des gènes RAS dans la tumeur).	63
Adénocarcinome colique sans polypose (syndrome HNPCC) survenant avant 60 ans ou dans un contexte d'ATCD tumoral personnel ou familial	Instabilité microsatellitaire, méthylation <i>MLH1</i> et mutation <i>BRAF</i>	Diagnostic	Sélection de patients susceptibles d'être porteurs d'un syndrome HNPCC.	66 à 68
Adénocarcinome colique	Mutation BRAF V600E (Programme biomarqueurs émergents)	Pronostic Essai clinique	Inclusion des patients dans des essais cliniques utilisant des inhibiteurs de BRAF	67
Adénocarcinome colique	Mutations MET (programme AcSé)	Essais clinique	Inclusion des patients dans des essais cliniques (AcSé-Crizotinib) utilisant des thérapies ciblant les altérations génétiques MET.	70

TUMEURS	ANOMALIES RECHERCHEES	BUT		PAGES
<b>PATHOLOGIE DIGESTIVE</b>				
<b>CANCERS NON COLORECTAUX</b>				
GIST	Mutation des gènes KIT et PDGFRA	Diagnostic	Diagnostic Thérapeutique (pour patients traités par imatinib)	72
Cancer gastrique ou du bas œsophage métastatique en adjonction avec une chimiothérapie en première ligne	Amplification du gène HER2	Thérapie Ciblée	Thérapie ciblée anti-HER2 (trastuzumab / HERCEPTIN®) dans le traitement des cancers gastriques métastatiques AMM Juillet 2010)	75
<b>PNEUMOLOGIE</b>				
Adénocarcinomes broncho-pulmonaires	Mutation exons 18 à 21 EGFR	Thérapie ciblée	Prescription inhibiteur tyrosine kinase de l'EGFR en première ligne chez les patients porteurs d'un carcinome non à petites cellules de stade avancé IIIB ou IV ou non opérables avec mutations activatrices d'EGFR.	80
	Translocation d'ALK	Thérapie ciblée	Prescription du Crizotinib en seconde ligne chez les patients porteurs d'un carcinome non à petites cellules de stade avancé IIIB ou IV ou non opérables présentant un réarrangement du gène ALK.	81
	Mutation des gènes KRAS, BRAF, HER2 et PI3KCA (Programme biomarqueurs émergents)	Essais cliniques Pronostic	Sélection des patients pouvant être inclus dans des essais cliniques et des patients pouvant tirer un meilleur bénéfice des inhibiteurs de Tyrosine kinase de l'EGFR. (adénocarcinomes métastatiques).	83 à 86
	Amplification ALK, Amplification MET, Translocation de ROS1 (programme AcSé)	Essais cliniques	Inclusion des patients dans des essais cliniques (ACsé-Crizotinib) utilisant des thérapies ciblant les altérations génétiques MET, ROS.	86 à 87
<b>SARCOMES ET TUMEURS PÉDIATRIQUES</b>				
Sarcome d'Ewing / PNET	t(11;22) t(21;22)	Diagnostic Traitement	Protocole thérapeutique spécifique	90 à 91
Sarcome / Fibromyxoïde de bas grade	t(7;16)	Diagnostic		-
Fibrosarcome infantile	t(12;15)	Diagnostic		95

TUMEURS	ANOMALIES RECHERCHEES	BUT		PAGES
<b>SARCOMES ET TUMEURS PÉDIATRIQUES</b>				
Synoviosarcome	t(X ;18)	Diagnostic Traitement	Protocole thérapeutique spécifique	89
Rhabdomyosarcome alvéolaire	t(2 ;13) t(1 ;13)	Diagnostic Pronostic Traitement	Protocole thérapeutique spécifique Intérêt pronostic (PAX7/PAX3)	81
Sarcome à cellules claires	t(12 ;22)	Diagnostic		90 à 91
Tumeur desmoplastique à cellules rondes	t(11 ;22)	Diagnostic Traitement	Protocole thérapeutique spécifique	90 à 91
Liposarcome myxoïde / à cellules rondes	t(12 ;16)	Diagnostic Traitement	Protocole thérapeutique spécifique (trabectedine)	92
Chondrosarcome myxoïde extra squelettique	t(9 ;22)	Diagnostic		90 à 91
Histiocytofibrome angiomatoïde	t(2 ;22)	Diagnostic		90 à 91
Dermatofibrosarcome de Darier-Ferrand	t(17 ;22)	Diagnostic Traitement	Thérapie ciblée de type inhibiteur de thyrosine kinase (Imatinib / Glivec®)	97
Tumeur myofibroblastique inflammatoire	t(2 ;19)	Diagnostic		93
Liposarcome bien différencié/dédifférencié	Amplification de MDM2/CDK4	Diagnostic Traitement	Protocole thérapeutique adapté	96
Angiosarcome sur tissus irradiés	Amplification C-MYC	Diagnostic		98
Neuroblastome	Amplification N-MYC	Diagnostic		-
Tumeur desmoïde	Mutation de CTNNB1	Diagnostic		100
GIST KIT négatives ou résistantes à l'imatinib	Mutation KIT, mutation PDGF-R	Diagnostic Traitement	Thérapie ciblée de type inhibiteur de thyrosine kinase (Imatinib / Glivec®)	102
Sarcome du stroma endométrial de bas grade	Translocation JAZF1	Diagnostic		99



TUMEURS	ANOMALIES RECHERCHEES	BUT		PAGES
<b>SÉNOLOGIE</b>				
Carcinome infiltrant	Niveau d'amplification du gène HER2	Thérapie ciblée	Thérapeutique : thérapies ciblées anti-HER2 (trastuzumab/Herceptin®, lapatinib/TYVERB®). Surexpression de HER2 corrélée à un mauvais pronostic	107
Carcinome sécrétoire	Réarrangement ETV6	Diagnostic	Utile au diagnostic	108
Cancer du sein de stade précoce	Profil d'expression génique	Pronostic Traitement		109

## 17.2. CHARTE GRAPHIQUE DES ARBRES DÉCISIONNELS

Les arbres décisionnels sont constitués de 5 types de formes qui correspondent à des critères et des modalités de prise en charge.



**Critère de prise en charge**



**Question**

La réponse est le plus souvent binaire.

**Modalités de prise en charge**



Consultation d'Oncogénétique



Thérapie ciblée



Standard



Surveillance



**Résultat**



**Avis RCP préconisé**

## 17.3. TABLES DES ILLUSTRATIONS

### 17.3.1 Arbres décisionnels

Arbre décisionnel 1 : schéma diagnostique du cancer de l'endomètre lié au syndrome de Lynch.....	27
Arbre décisionnel 2 : schéma thérapeutique des mélanomes métastatiques en 1 <sup>er</sup> ligne.....	52
Arbre décisionnel 3 : schéma diagnostique des cancers colorectaux liés au syndrome de Lynch .....	73
Arbre décisionnel 4 : schéma thérapeutique des cancers colorectaux de stade II.....	74
Arbre décisionnel 5 : schéma thérapeutique des cancers colorectaux métastatiques .....	75
Arbre décisionnel 6 : schéma thérapeutique des cancers gastriques selon le statut HER2 .....	85
Arbre décisionnel 7 : Arbre décisionnel selon le statut <i>HER2</i> .....	121

### 17.3.2 Tableaux

Tableau 1 : membres du groupe de travail .....	8
Tableau 2 : Les anomalies moléculaires recherchées dans le cadre des programmes AcSé .....	23
Tableau 3 : Mise en évidence de la présence d'un virus HPV .....	25
Tableau 4 : Instabilité micro satellitaire dans les cancers de l'endomètre (ou autres cancers du spectre HNPCC) .....	28
Tableau 5 : Translocation du gène <i>JAZF 1</i> .....	29
Tableau 6 : Mutations somatiques des gènes <i>BRCA</i> .....	30
Tableau 7 : Mutation du gène <i>FOXL 2</i> .....	31
Tableau 8 : Classement en fonction de la réponse moléculaire pour le suivi de la LMC.....	35
Tableau 9 : Réarrangement du gène <i>C-MYC</i> dans les lymphomes de Burkitt.....	42
Tableau 10 : Réarrangement des gènes <i>C-MYC</i> et <i>BCL2</i> et/ou <i>BCL6</i> dans les lymphomes de haut grade avec réarrangements des gènes <i>C-MYC</i> et <i>BCL2</i> et/ou <i>BCL6</i> .....	43
Tableau 11 : Réarrangement du gène <i>ALK</i> dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules.....	44
Tableau 12 : Réarrangement des gènes <i>BCL2</i> / <i>BCL6</i> dans les lymphomes folliculaires.....	44
Tableau 13 : Réarrangement du gène <i>CCND1</i> dans les lymphomes du manteau.....	45
Tableau 14 : Réarrangement du gène <i>MALT</i> dans les lymphomes de MALT.....	45
Tableau 15 : Translocation t (14 ;18) / <i>IGH-BCL2</i> dans les lymphomes folliculaires.....	46
Tableau 16 : Translocation t (11 ;14) / <i>IGH-BCL1</i> dans les lymphomes du manteau.....	46
Tableau 17 : Translocation <i>ALK</i> / chromosome 2 dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules <i>ALK+</i> .....	47
Tableau 18 : Mutation <i>MYD88</i> dans les lymphomes lympho-plasmocytaires / maladie de Waldenström.....	47
Tableau 19 : Mutation <i>BRAF V600E</i> dans les leucémies à tricholeucocytes.....	48
Tableau 20 : Les biomarqueurs émergents dans le mélanome métastatique.....	51
Tableau 21 : Identification de la mutation <i>BRAF V600</i> dans les mélanomes métastatiques.....	53
Tableau 22 : Identification des mutations des exons 2 (codons 12,13 et 18) et des exons 3 (codon 61) de <i>NRAS</i> dans les mélanomes métastatiques .....	54
Tableau 23 : Identification des mutations des exons 8, 9, 11, 13 et 17 de <i>KIT</i> dans les mélanomes métastatiques.....	55
Tableau 24 : Recherche de la co-déletion d'1p19q.....	58
Tableau 25 : Méthylation du gène <i>MGMT</i> .....	59

Tableau 26 : Tumeurs des glandes salivaires et leurs signatures moléculaires. ....	66
Tableau 27 : Diagnostic des carcinomes nasopharyngés associés à l' <i>EBV</i> .....	67
Tableau 28 : Diagnostic des carcinomes naso-sinusiens adénoïde kystique HPV+.....	68
Tableau 29 : Translocation t(15 ; 19) (q14 :p13).....	69
Tableau 30 : Réarrangement du gène <i>EWSR1</i> .....	70
Tableau 31 : Instabilité microsatellitaire dans les cancers colorectaux (ou autres cancers du spectre HNPCC).....	77
Tableau 32 : Identification de la mutation <i>BRAF V600E</i> dans les cancers colorectaux .....	78
Tableau 33 : Identification de la méthylation du promoteur du gène <i>MLH1</i> dans les cancers colorectaux .....	79
Tableau 34 : Identification de mutation des exons 2 (codons 12 et 13), 3 (codon 61) et 4 (codons 117 et 146) des gènes <i>KRAS</i> et <i>NRAS</i> dans les cancers colorectaux au stade METASTATIQUE.....	80
Tableau 35 : Identification des mutations des exons 14, 16 à 19 du gène <i>MET</i> .....	81
Tableau 36 : Identification des mutations des gènes <i>KIT</i> et <i>PDGFR alpha</i> des tumeurs stromales gastro intestinales ( <i>GIST</i> ).....	83
Tableau 37 : Recommandations pour l'évaluation du score IHC de <i>HER2</i> pour les cancers gastriques (Rüschoff J, Virchows.....	84
Tableau 38 : Amplification du gène <i>HER2</i> .....	86
Tableau 39 : Mutation <i>EGFR</i> dans les CBNPC au stade AVANCE ou METASTATIQUE.....	92
Tableau 40 : Recherche des mutations activatrices des codons 12, 13, 59 et 61 du gène <i>KRAS</i> .....	96
Tableau 41 : Recherche des mutations activatrices des codons 11 et 15 du gène <i>BRAF</i> .....	97
Tableau 42 : Recherche des mutations de <i>HER2</i> .....	98
Tableau 43 : Recherche des mutations des exons 9 et 20 du gène <i>PIK3A</i> .....	99
Tableau 44 : Réarrangement de <i>SYT</i> (ou <i>SS18</i> ) .....	102
Tableau 45 : Réarrangement du gène <i>EWSR1</i> .....	103
Tableau 46 : Sarcomes et tissus mous à malignité intermédiaire présentant un réarrangement du gène <i>EWS</i> .....	104
Tableau 47 : Réarrangement du gène <i>DDIT3</i> .....	105
Tableau 48 : Réarrangement du gène <i>ALK</i> .....	106
Tableau 49 : Réarrangement du gène <i>TFE3</i> .....	107
Tableau 50 : Réarrangement du gène <i>ETV6</i> .....	108
Tableau 51 : Réarrangement du gène <i>FUS</i> .....	109
Tableau 52 : Réarrangement du gène <i>FOXO1A</i> .....	110
Tableau 53 : Amplification du gène <i>MDM2</i> .....	111
Tableau 54 : Translocation t(17 ;22)(q22 ;q13).....	112
Tableau 55 : Amplification du gène <i>C-MYC</i> .....	113
Tableau 56 : Translocation du gène <i>JAZF1</i> .....	114
Tableau 57 : Mutation de l'exon 3 du gène <i>CTNNB1</i> .....	115
Tableau 58 : Identifier les mutations <i>KIT</i> et <i>PDGFR alpha</i> des tumeurs stromales gastro-intestinales ( <i>GIST</i> ) .....	117
Tableau 59 : Evaluer le niveau d'amplification du gène <i>HER2</i> au niveau des cellules carcinomateuses infiltrantes sur coupe histologique. ....	122
Tableau 60 : Recherche du réarrangement d' <i>ETV6</i> au niveau du sous type de carcinome du sein de type sécrétoire sur coupe histologique.....	123

Tableau 61 : Profil d'expression génique Prosigna® .....	124
Tableau 62 : Recherche des mutations de BRAF dans les lésions de la thyroïde.....	126

### 17.3.3 Figures

Figure 1 : Stratégie de détection des mutations de résistance à la rechute.....	14
Figure 2 : circuit de l'analyse moléculaire via le DCC.....	19
Figure 3 : Fréquence de détection des mutations des gènes BRAF, NRAS et cKit dans le mélanome en fonction du sous -type histologique .....	52