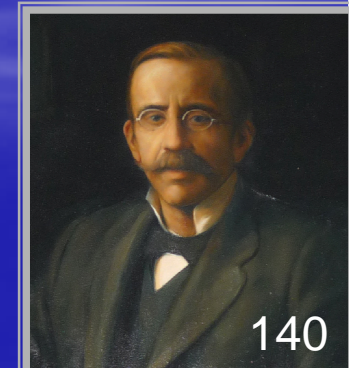




A Her-2 státusz meghatározásának jelentősége gyomorkarcinomában

Tímár József, Szirtes Ildikó, Lotz
Gábor, Kulka Janina

SE 2.sz. Pathologiai Intézet



HER-2 fokozott expressziót mutató daganatok

- Emlőrák 20% (valódi amplifikáció)
- Tüdő adenocarcinoma 10%
- Nyelőcső laphámrák 15-20%
- Gyomorrák 10-20% (valódi amplifikáció)

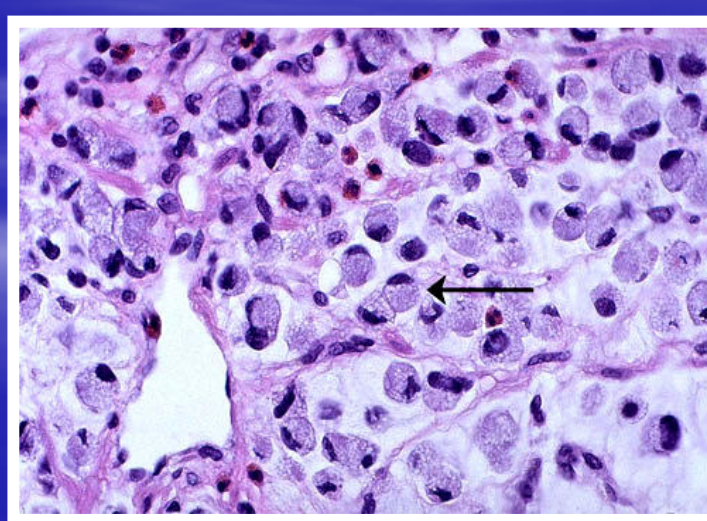
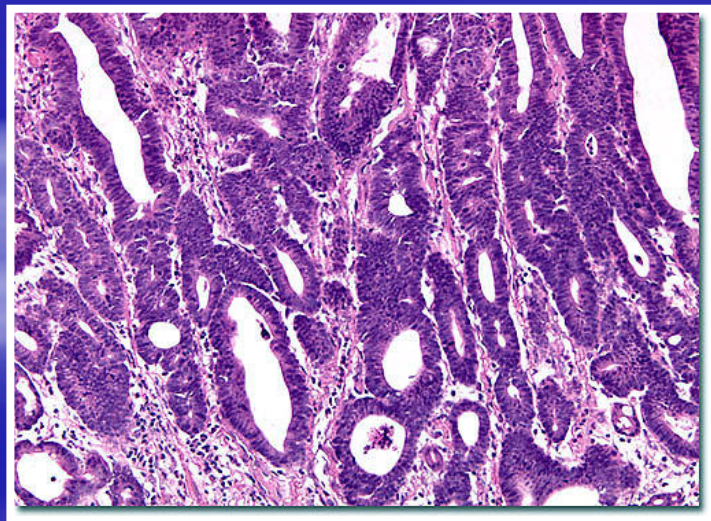
Gyomorrák epidemiológia hazánkban

2006	Teljes populáció	ffi	nő
Incidencia	2300	1300	1000
halálozás	1720	980	740

Nemzeti Rákregiszter

1 éves túlélés: 20% !!!

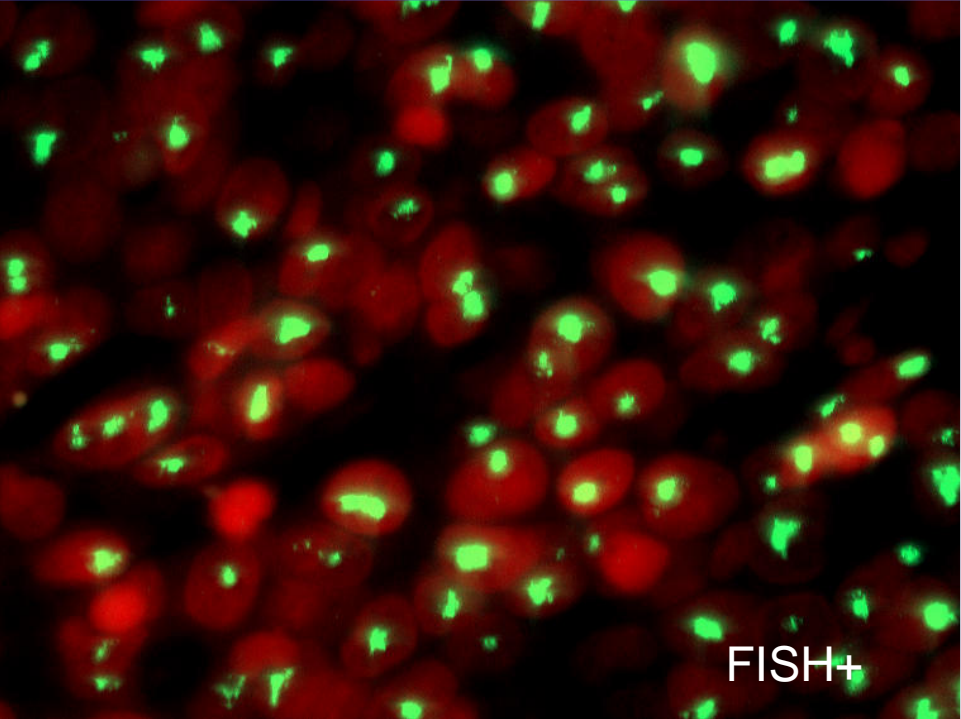
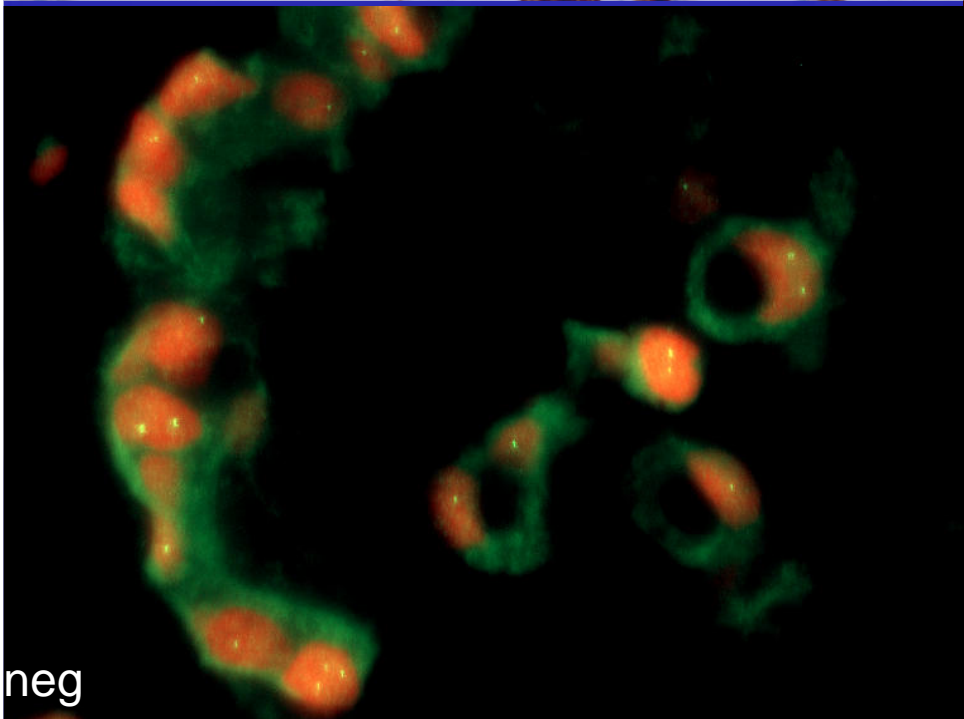
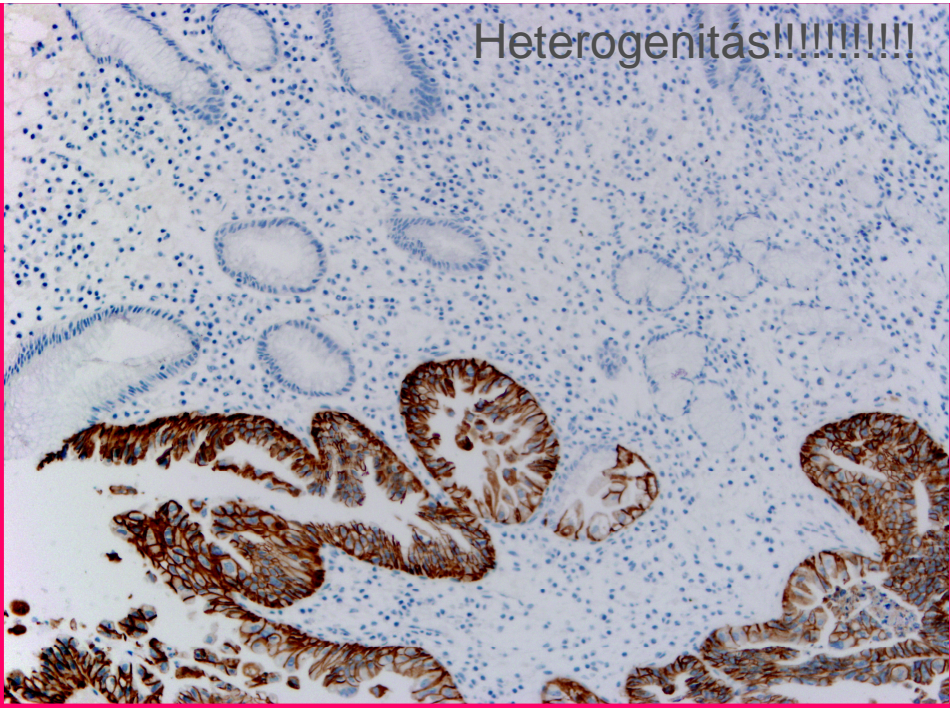
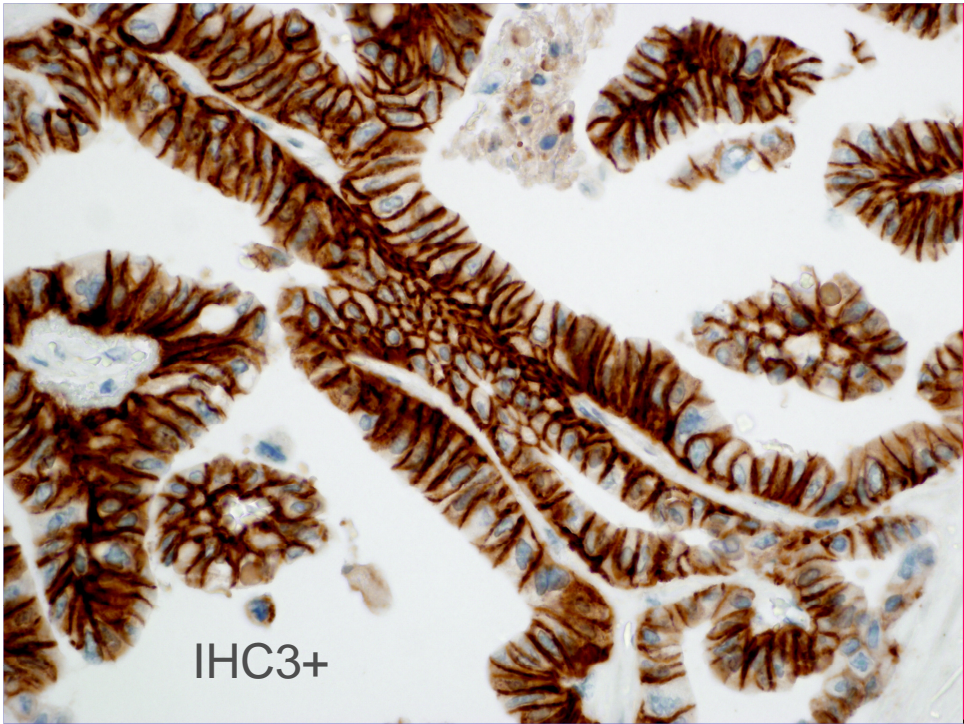
Intesztinális, diffúz típusú gyomorrák



A gyomorrák molekuláris patológiája

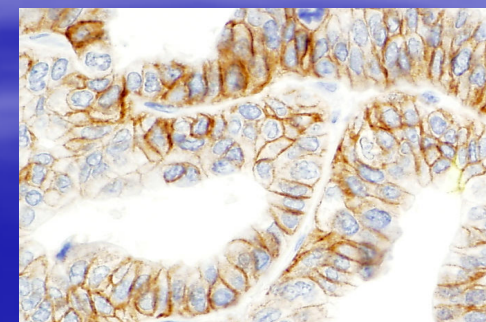
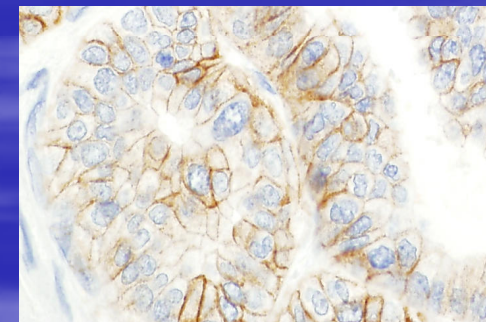
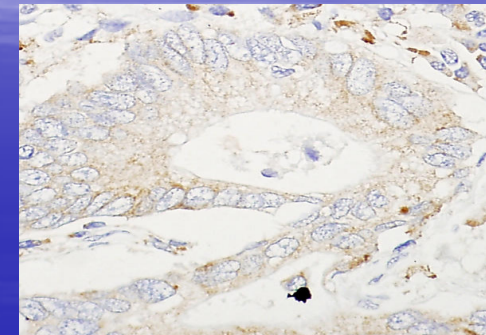
	Intesztinális	Diffúz
gasztritisz	HP	HP COX2+ hTERT+ CDX1/2
diszplázia	Amplifikáció/fokozott: EGFR , TGFa Metiláció APC, DAPK	
Progrediáló daganat	Amplifikáció: HER2	Amplifikáció: CMET , KSAM hTERT
	<u>Mutáció:</u> KRAS , p53 <u>LOH:</u> APC , DCC , p53 <u>Metiláció:</u> p16 , COX2 , GSTP1 , hMHL1, MGMT, RASSF1A , RUNX3 , TFF2	<u>Mutáció:</u> p53 <u>Metilációs zavarok:</u> DAPK , K-RAS , RARb , MGMT, p14

Heterogenitas!!!!!!!!!!!!



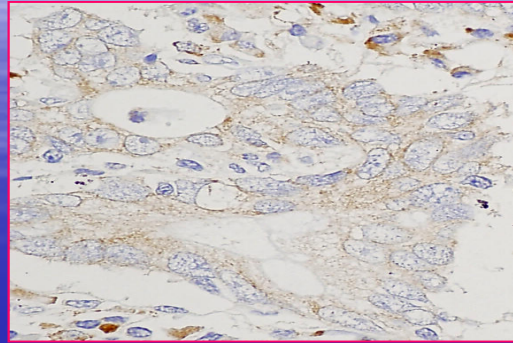
HER-2 immunhisztokémia értékelése gyomorrákban

Festődés intenzitásának foka	Műtéti preparátum – a festődés jellege	Biopsziás minta – a festődés jellege	A fokozott HER2 expresszió értékelése
0	Nincs festődés, vagy a tumorsejtek kevesebb, mint 10%-ában van membránfestődés	Nincs festődés, illetve nincs membránfestődés egyetlen tumorsejtben sem	Negatív
1+	A tumorsejtek legalább 10 %-ában halvány/alig észrevehető membránfestődés; a sejtek festődése csak a membránjuk egy részén történik meg	Tumorsejt-csoportok halvány, vagy alig észrevehető membránfestődése az érintett tumorsejtek százalékos arányától függetlenül	Negatív
2+	Enyhe, közepes fokú egybefüggő bazolaterális vagy laterális membránfestődés a tumorsejtek legalább 10%-ában	Tumorsejt-csoportok enyhe, közepes fokú egybefüggő, bazolaterális, vagy laterális membránfestődése az érintett tumorsejtek százalékos arányától függetlenül	Kérdéses
3+	Erős, egybefüggő bazolaterális vagy laterális membránfestődés a tumorsejtek legalább 10%-ában	Tumorsejt-csoportok erős, egybefüggő, bazolaterális, vagy laterális membránfestődése az érintett tumorsejtek százalékos arányától függetlenül	Pozitív



HER-2 intenzitás standardizálása

1+

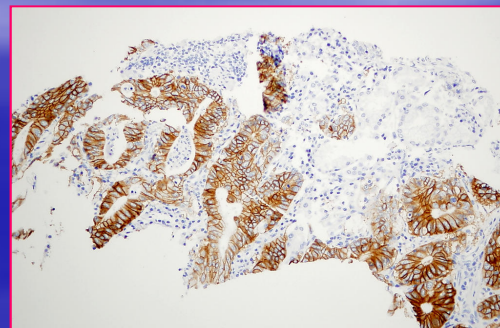


40x

2+

10-20x

3+



4x

HER-2 expresszió a hazai gyomorrákokban (SE 2.sz. Pathologia)

Gyomorrák diagnosztika: 40%-ban biopsziából történik...

Adenocarcinoma / intestinalis:	59.8%
Sigillocellularis / diffúz:	23.7%
Kevert:	2%
Anaplasticus:	8.2%
NOS:	6.2%

HER-2 expresszió gyomorrákban:

SE. 2.sz. Pathologiai Intézet

(97 eset)

	0	1+	2+	3+	P	A
Intestinalis/AC	42.1	28	15.8	14	43.2	35.1
diffúz	72.7	18.2	4.5	4.5	23.5	0
kevert	66.7	16.7	16.7	0	20	0
anapl	75	8	0	0	0	20
NOS	100	0	0	0	33.3	16.6
GACR	53.4	24.7	11.2	10.1	23.7	15.5
			IHC-kez	2+3	tényleges	2/3/A
				21.3 %		12.4 %

	0	1+	2+	3+
Chr17P	21.4	40.9	20	0
Ampl	5.4	4.5	10	100

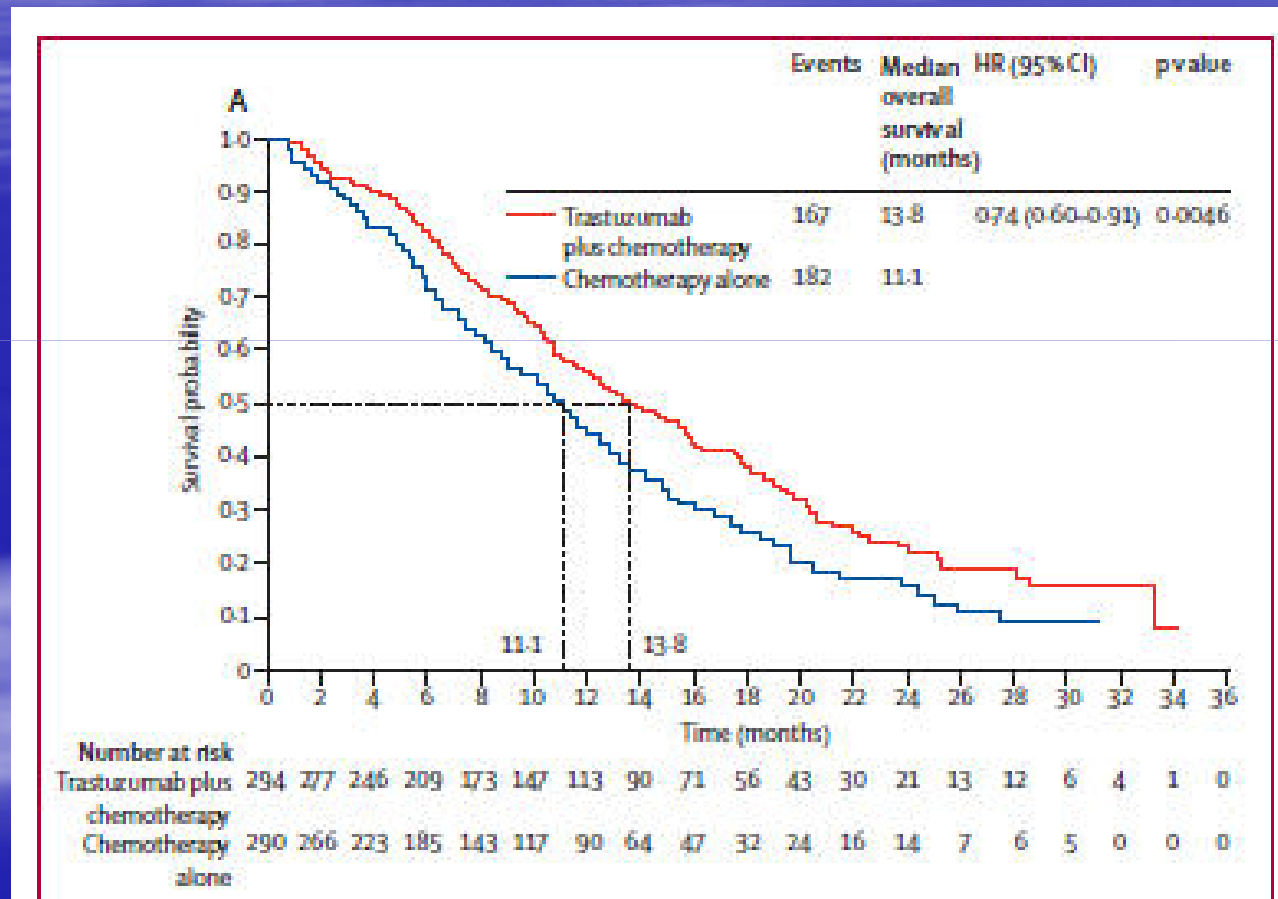
Magyar gyomorrák versus külföldi

	FISH+	2+	3+	Pozitív
2P	15.5	11.2	10.1	21.3
Hofmann	17.3	12.5	12.5	25
TOGA	NA	12	11	23
Rüschoff	NA	-	-	22.8

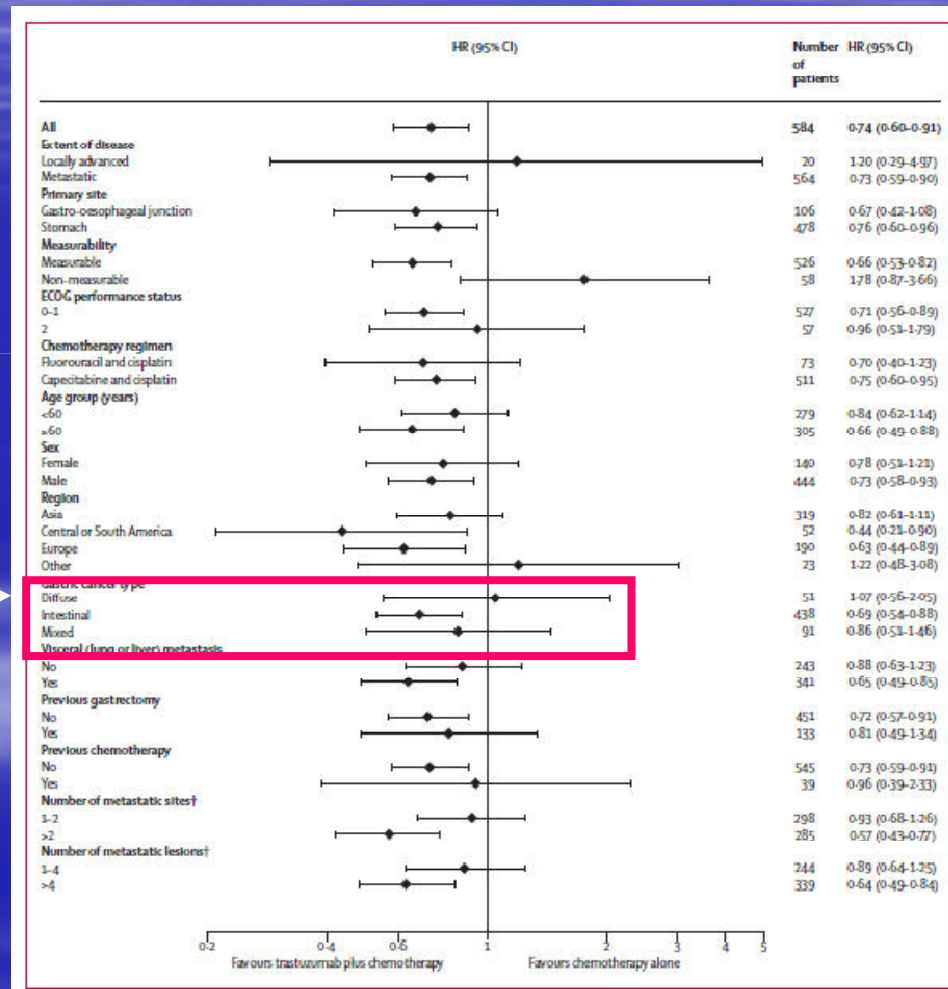
Herceptin terápia gyomorrákban

- Intesztinális típusban a leghatékonyabb
- IHC és FISH pozitivitás együtt kell a maximális hatáshoz
- GEJ adenocarcinoma!
- Barrett-adenocarcinoma?

TOGA-OS



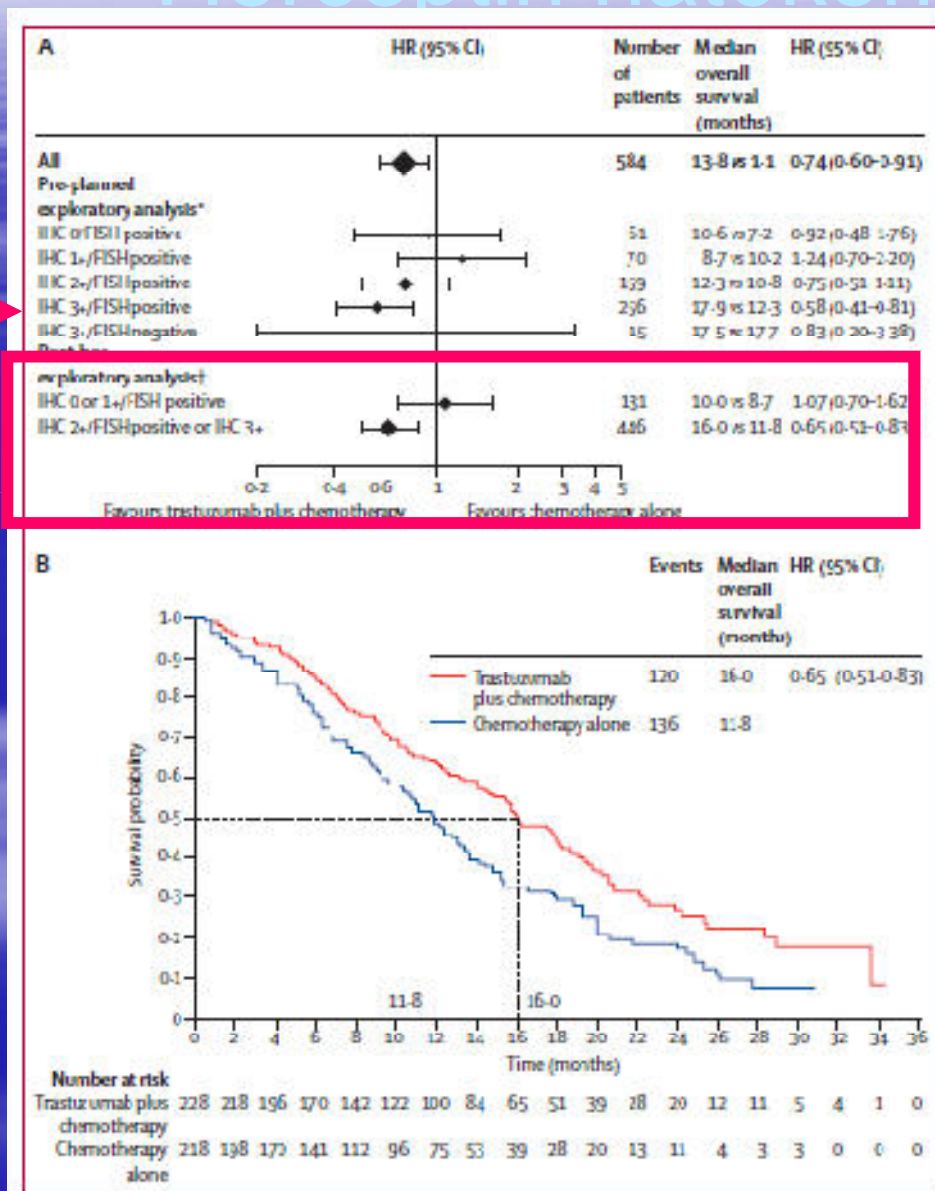
Herceptin terápia hatékonysága gyomorrákban (TOGA-OS)



HER-2 amplifikáció értékelése gyomorrákban

- ToGa vizsgálat (Bang et al. Lancet Oncol 376:687,2010)
- HER-2/CEP17 arány ≥ 2
- Útmutató validálás (Rüschoff et al. Virchow Arch 457:299,2010)
- HER-2/CEP17 arány ≥ 2
- Rez: 20 sejt (max kópia), +20 sejt (1.8-2.2)
- Biopszia: min. 5 kohezív sejt

HER-2 expressziós szintek kapcsolata a Herceptin hatékonyságával



Konszenzuális patológia

- Műtéti rezekciós minta:
- Hány blokkból történjen a vizsgálat?
- Endoszkópos minta:
- Hány mintát vegyenek?

Javaslat a gyomorrák HER-2 meghatározás bevezetésére

- **Rezekciós Minta:**
- Her-2-IHC szűrés: 1.negatív blokk esetén másik mintában ellenőrizendő (heterogenitás)
- **Biopsziás minta:**
- 4-5 multiplex mintavétel szükséges
- Ennél alacsonyabb szám esetében a negatív IHC-t új biopsziából ismételni kell

IHC technológia

- Validált eljárás
 - Hercepteszt (Dako) legdrágább,
 - 4B5 Ventana-teszt

„in house módszer”

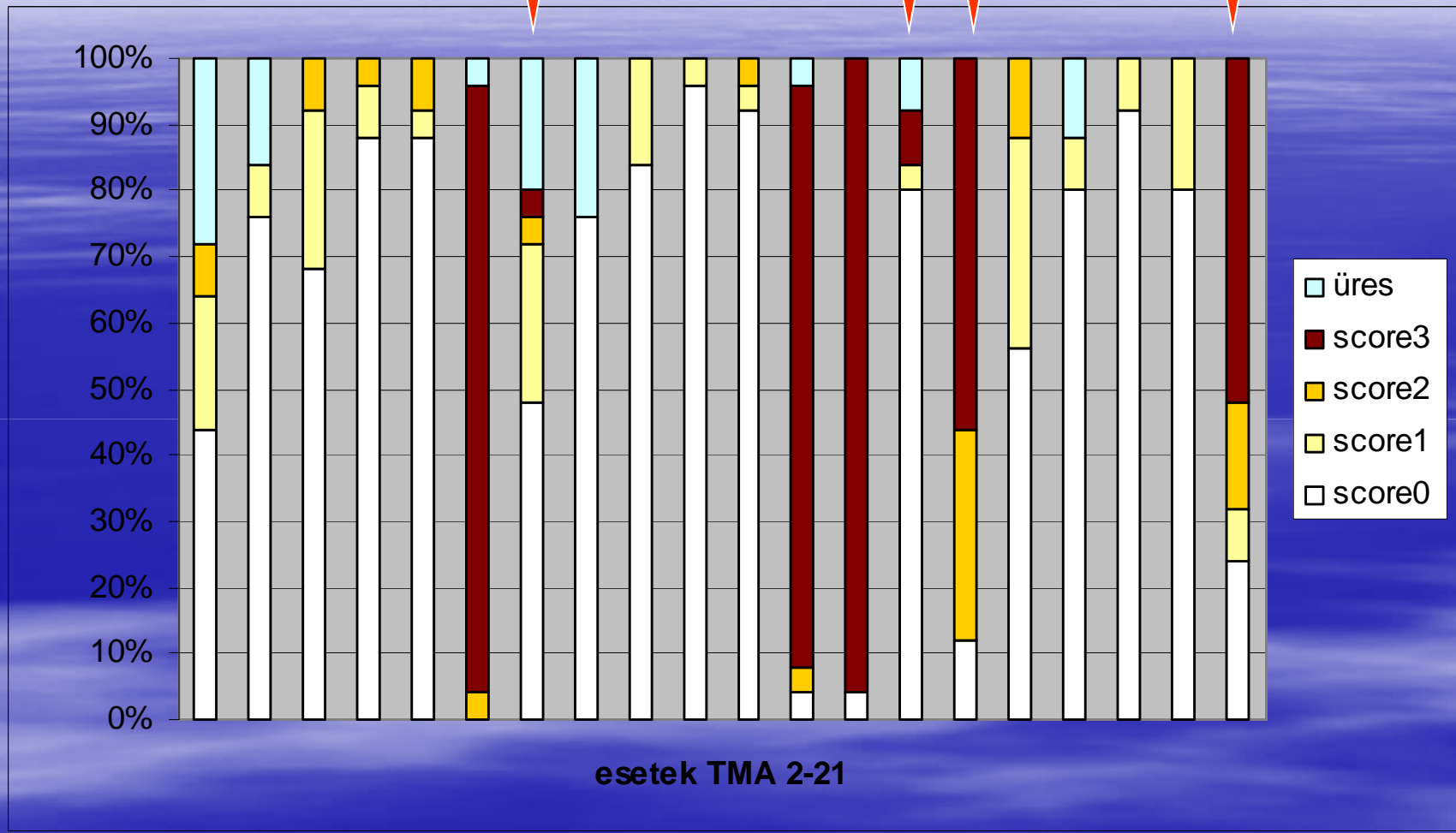
CB11

SP3 (validálni kell)

Magyar HER-2 gyomorrák körvizsgálat

- 20 esetből 2mm core kiszúrása
- TMA térképpel és értékelőlappal együtt küldtük ki a metszeteket
- 25 intézményből kaptunk vissza értékelőlapot
- 2 intézmény 2 értékelőlapot küldött
- Intézetünkben 2 antitesttel végeztünk reakciót
 - Összesen: 28 lemez értékelése történt
- 2 intézmény kiértékelés nélkül küldte vissza a metszetet
- 3 intézményből nem kaptuk meg a metszeteket

- 560 metszet (28x20 core)
- 26 core leúszott
- **534 értékelhető core**
- Antitestek:
 - CB11 5 osztály
 - CB11 RTU 13 osztály
 - Herceptest 2 osztály
 - 4B5 1 metszet
 - SP3 4 osztály
 - Nem ismert 4 osztály



8

15 16

21

esetszám	score0	score1	score2	score3	üres	összes db
2	12	6	3	0	7	28
3	22	2	0	0	4	28
4	18	7	3	0	0	28
5	24	3	1	0	0	28
6	25	1	2	0	0	28
7	0	0	1	26	1	28
8	15	6	1	1	5	28
9	21	0	1	0	6	28
10	24	4	0	0	0	28
11	27	1	0	0	0	28
12	26	1	1	0	0	28
13	1	0	1	25	1	28
14	1	0	0	27	0	28
15	23	1	0	2	2	28
16	3	0	9	16	0	28
17	15	10	3	0	0	28
18	22	2	0	0	4	28
19	26	2	0	0	0	28
20	23	5	0	0	0	28
21	6	2	4	16	0	28

Herceptest	4B5
1	0
0	0
2	1
0	0
0	0
3	3
0	0
0	0
0	0
0	0
3	3
3	3
0	0
3	3
1	1
0	
0	0
0	0
3	3

Kappa: 0.651455 (jó egyezés)

 Szükségtelen FISH

 Elmaradt kezelés

 Fölösleges kezelés

HER-2 körvizsgálat eredménye

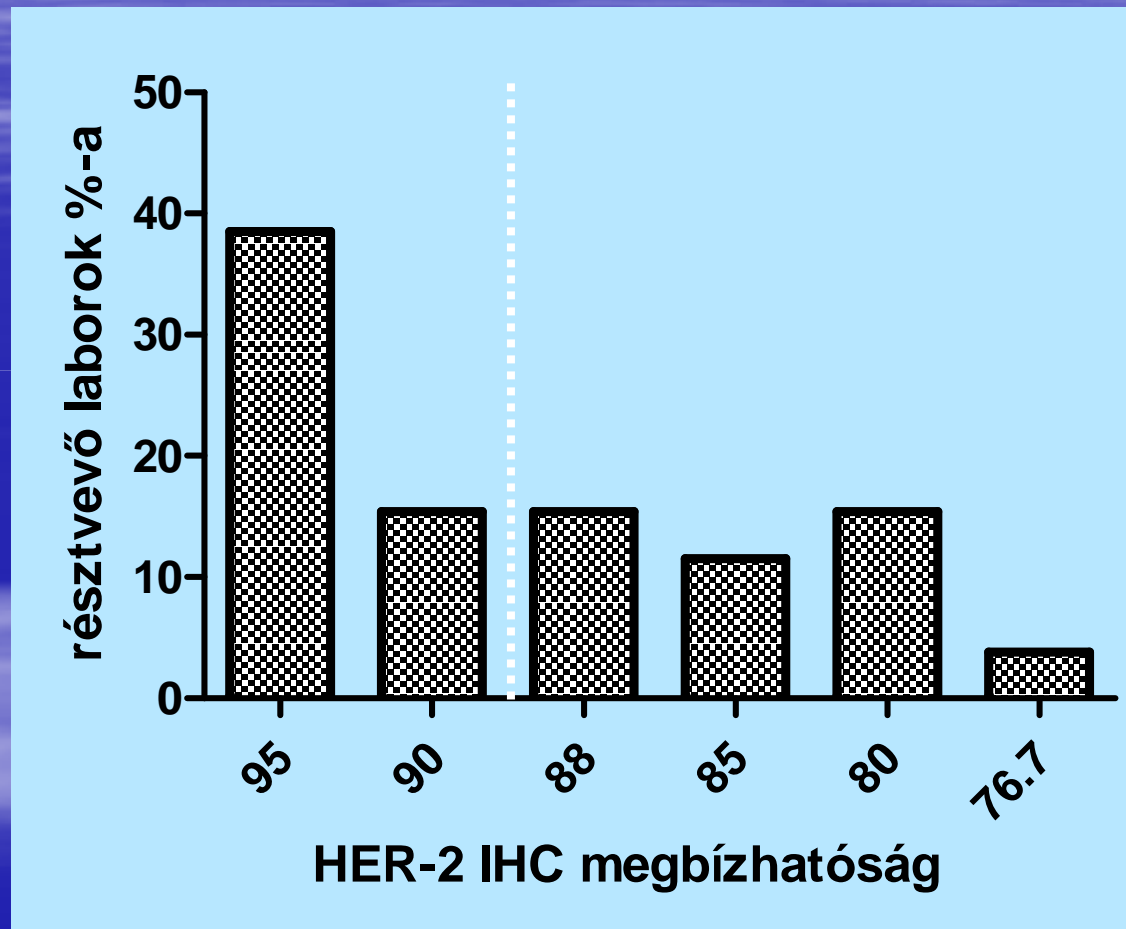
- Pontozási eltérés: 32/534: 6%
- **Eltérő megítélés (+/-): 16/534: 3%**
- Szükségtelen FISH: 16/534: 3%

Eltérések az alkalmazott antitestek függvényében score 0/1 *versus* score 2/3

- CB11
 - 2 eset negatív helyett pozitív
 - 1 eset pozitív helyett negatív
- CB11 RTU
 - 8 eset negatív helyett pozitív
 - 6 eset pozitív helyett negatív
- DAKO c-erbB-2
 - 2 eset negatív helyett pozitív
- SP3
 - 3 eset negatív helyett pozitív

minták	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
Herceptest		1	0	2	0	0	3	0	0	0	0	0	3	3	0	3	1	0	0	0	3		
4B5		0	0	1	0	0	3	0	0	0	0	0	3	3	0	3	1		0	0	3		
osztályok		N	N	P	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	P		
sp3		P	N	N	N	N	P	N	P	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	P	3	
sp3		N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	P	1	
cb11RTU		N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	P	1	
cb11RTU			N	N	P	N	P			N	N	N	P	P	N	P	P	N	N	N	P	3	
cb11RTU		N	N	P	N	N	P	P	N	N	N	N	P	P	N	P	P	N	N	N	P	2	
sp3		P	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	P	2	
cb11RTU				N	N	N	P	N		N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	2	
cb11RTU				N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P		P	N	N	N	N	N	2	
sp3		N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	P	1	
cb11RTU		N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	P	1	
cb11		N	N	N	N	N	P	P	N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	P	2	
cb11		N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	P	1	
cb11RTU		N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	P	1	
herceptest		N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	P	N	N	N	P	2	
c-erbB-2 DAKO		P	N	P	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	N		N	N	P	1	
cb11RTU			N	N	N	N	P			N	N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	3	
cb11RTU				N	N		P			N	N	P		P	P	P	N	N	N	N	N	5	
cb11				N	N	P	P			N	N	N	P	P		P	N	N	N	N	N	3	
cb11RTU		N	N	N	N	N		N	N	N	N	N	P	N	N	P	N		N	N	2	3	
cb11		N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	P	1	
cb11RTU			N	N	N	N	P			N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	2	
cb11RTU		N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	3	1
		N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	N	3	
		N		N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	N	N		N	N	P	2	
		N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	P	1	

HER-2 körvizsgálat elemzése



90% felett:	14
85-89:	7
80-85:	4
76.7:	1

HER-2 körvizsgálat tapasztalatai alapján

- A gyomorrák HER-2 szűrését IHC alapon el lehet indítani
- Az anti-HER-2 antitestek közül valamennyi teszteltet el lehet fogadni
- A 90%-os szinten teljesítő laborok (14) HER-2-IHC diagnosztikája megbízható
- 3+ esetében a terápia indikált (14 labor)
- 2+ esetében Centrális FISH-labor validál

- A 90% alatt teljesítő laborok un. második validációs körben javasolt fejleszteni vizsgálataikat....

Összefoglalva

- A körvizsgálat sikeres volt
- A vizsgálók közötti legnagyobb eltérések oka
 - Téves interpretáció
 - Alkalmazott antitest
 - Tumor heterogenitás
 - „Eltévedés” a TMA-n
 - „Kiesett” core-ok