

Appel à projet PHRC national 2006

Titre du projet :

Epidémiologie moléculaire des tumeurs stromales digestives (GIST) en France et valeur pronostique des mutations des gènes *KIT* et *PDGFRA*

Coordonnateur

Pr J.F. Emile

Service de pathologie , Hôpital Ambroise Paré

9 Avenue Ch. de Gaule, 92104 Boulogne Cdx

tel : (33) 1 49 09 57 25 :mail : jean-francois.emile@apr.aphp.fr

Comité de pilotage

P. Aegerter, J.Y. Blay, O. Bouché, S. Bonvalot, P. Cervera, J.M. Coindre, J.F. Emile, B. Landi, A. Le Cesne, G. Monges, J.Y. Scoazec

Equipes associées

Département de pathologie de l'Institut Bergonié (JM Coindre, Bordeaux)

Service de pathologie de l'hôpital Ambroise Paré (JF Emile, Boulogne)

Département de pathologie de l'hôpital Edouard Herriot (JY Scoazec, Lyon)

Département de biopathologie du centre Paoli Calmette (G Monges, Marseille)

Service de pathologie de l'hôpital Saint Antoine (P Cervera, Paris)

Gestion et Biométrie :

Unité de Recherche Clinique Paris-Ouest (Dr Ph Aegerter, Hôp A. Paré, Boulogne)

Réseaux médicaux :

Groupe Sarcome Français (JY Blay, A Le Cesne, S Bonvalot)

Fédération Francophone de Cancérologie Digestive (O Bouché, B Landi)

Groupe digestif de la fédération des CLCC (M Ducreux)

Association Française de Chirurgie (C Meyer)

Association de patients : Association Ensemble Contre le GIST (Mme E Lecointe)

Sommaire

| | |
|---|----|
| 1. Résumé..... | 3 |
| 2. Contexte..... | 4 |
| 3. Objectifs..... | 6 |
| 4. Plan de l'étude..... | 7 |
| 4.1) Signalement des patients..... | 7 |
| 4.2) Inclusion des patients..... | 7 |
| 4.3) Critères de sélection des patients..... | 8 |
| 4.4) Nombre de sujets nécessaires..... | 8 |
| 4.5) Durée de l'étude..... | 9 |
| 4.6) Relecture centralisée des lames et recherche de mutations..... | 10 |
| 4.7) Contrôle de qualité des techniques de détection des mutations..... | 11 |
| 5. Gestion et analyse des données..... | 12 |
| 5.1) Collecte et gestion des données cliniques..... | 12 |
| Inclusion..... | 12 |
| Suivi..... | 12 |
| Base de données..... | 13 |
| Contrôle de la qualité des données..... | 13 |
| 5.2) Analyse statistique..... | 14 |
| Stratégie d'analyse..... | 14 |
| Exhaustivité..... | 14 |
| Description et comparaisons..... | 14 |
| Recherche de facteurs pronostiques..... | 14 |
| Fiabilité des examens..... | 15 |
| Réalisation..... | 15 |
| 6. Résultats attendus..... | 16 |
| 7. Aspects logistiques, légaux et éthiques..... | 17 |
| Loi Huriet..... | 17 |
| Promoteur..... | 17 |
| Notice d'information aux patients et consentement..... | 17 |
| Soumission au CCPPRB..... | 18 |
| Amendement au protocole..... | 18 |
| Procédures de suivi du protocole..... | 18 |
| Effets indésirables..... | 19 |
| Déclaration de la base de données..... | 19 |
| Organisation..... | 19 |
| Centre de coordination..... | 19 |
| Comité de pilotage..... | 19 |
| Laboratoires participants..... | 19 |
| Réseaux médicaux..... | 20 |
| Pathologistes..... | 20 |
| Rapport et publications..... | 20 |
| Références..... | 21 |
| Annexe 1 : Elements de calcul budgétaire..... | 23 |
| Annexe 2 : Immunohistochimie sur TMA..... | 26 |
| Annexe 3 : Formulaire d'information et consentement..... | 27 |

1. Résumé

Bien que décrites depuis plus de 20 ans les tumeurs stromales digestives (GIST) étaient jusqu'au début du millénaire largement méconnues. La découverte en 1998 du rôle oncogénique majeur de l'oncogène KIT a profondément modifié le diagnostic et le traitement des patients atteints de GIST. Ces sarcomes sont résistants aux traitements anti-cancéreux conventionnels, et les inhibiteurs des récepteurs tyrosine-kinases (RTK) constituent pour les patients atteints de formes graves (métastase ou tumeurs non résecables) la principale ressource thérapeutique. Des mutations activatrices des gènes codant pour les RTK KIT et PDGFRA sont présentes dans environ 85% des GIST. Leur fréquence et leur nature sont toutefois très variables suivant les publications, avec parfois une association à des localisations, des formes histologiques ou un pronostic particuliers. L'analyse moléculaire des GIST de patients traités avec des inhibiteurs de RTK suggère que la présence et la nature de mutations sont fortement corrélées à la réponse tumorale à ces traitements. Les résultats les plus récents suggèrent que le choix des inhibiteurs de RTK et de leurs posologies devront prochainement être adaptés à la nature des mutations.

Cette étude de cohorte prospective multicentrique prévoit d'inclure tous les patients adultes vivant en France et dont le diagnostic de GIST sera établi entre Avril 2006 et Avril 2008, soit environ 1800 patients (cas incidents). Après inclusion des patients, les prélèvements tumoraux seront recueillis pour confirmation histologique et recherche de mutations de *KIT* et *PDGFRA*. Des données démographiques et cliniques, et notamment l'évolution sous traitement par les inhibiteurs de RTK, seront également collectées.

Les objectifs de cette étude sont :

- 1) Etablir une épidémiologie moléculaire descriptive des GIST en France.
- 2) Mesurer les corrélations entre la présence et la nature des mutations de *KIT* et *PDGFRA* et l'évolution spontanée ou sous traitement par des inhibiteurs de ces RTK.
- 3) Etablir un contrôle de qualité entre les laboratoires effectuant la recherche de ces mutations en France.
- 4) Déterminer la meilleure stratégie pour le diagnostic de GIST : panel d'anticorps pour l'immunohistochimie et/ou recherche de mutations.

2. Contexte

Les tumeurs stromales digestives (GIST) sont les tumeurs mésenchymateuses les plus fréquentes du tube digestif. Ce sont toutefois des tumeurs assez peu fréquentes en comparaison aux carcinomes, car leur incidence est évaluée à 15 nouveaux cas par million d'habitants par an (Nilsson 2005), soit environ 900 nouveaux cas par an en France. Les GIST se développent à partir de l'estomac dans 60% des cas, de l'intestin grêle dans 25% et des autres segments digestifs ou du mésentère ou du péritoine dans les cas restants (Corless 2004). Environ 1/3 des GIST sont métastatiques au moment du diagnostic ou vont le devenir au cours des 2 années suivantes. Lorsque les métastases ne sont pas présentes au diagnostic, il n'est jamais possible d'affirmer la bénignité d'une tumeur, mais la taille et l'index mitotique permettent d'évaluer le risque de récurrence ou de métastase (Fletcher 2002). Les métastases sont initialement le plus souvent localisées au foie et au péritoine.

Bien que décrites depuis plus de 20 ans (Mazur 1983) les GIST étaient, jusqu'à récemment, largement méconnues et rarement diagnostiquées. Ainsi, jusqu'au début du millénaire, les GIST étaient fréquemment confondues avec des léiomyomes, léiomyosarcomes, léiomyoblastomes ou schwannomes. La découverte en 1998 de l'expression quasi-constante du récepteur tyrosine-kinase (RTK) KIT dans ces tumeurs (Hirota 1998) a permis aux pathologistes de disposer d'un outil important pour le diagnostic. La découverte, trois ans plus tard des effets anti-tumoraux spectaculaires d'un inhibiteur de RTK (Joensuu 2001) ont largement favorisé la diffusion de la connaissance de cette "nouvelle entité" auprès des praticiens et des pathologistes. De ce fait, les GIST qui n'étaient pratiquement jamais diagnostiquées avant le début de ce millénaire, sont maintenant parfois diagnostiquées par excès. De plus, la grande majorité des données épidémiologiques publiées sur cette pathologie résulte d'études rétrospectives.

Environ 95% des GIST expriment KIT, mais ce marqueur est également exprimé par beaucoup d'autres tumeurs (Went 2004). D'autres marqueurs peuvent être utiles au diagnostic de GIST, tels le CD34, la h-caldésme et DOG-1, positifs respectivement dans 70%, 70% et 97% des GIST. D'autres études rétrospectives suggèrent que certains marqueurs, tels Ki67 ou Bcl2, pourraient avoir une valeur pour l'évaluation du pronostic. Environ 85% des GIST présentent des mutations du gène codant pour KIT ou d'un gène de la même sous-famille de RTK, le PDGFRA. Ces mutations sont responsables d'une activation spontanée de l'un ou l'autre de ces deux RTK. Elles sont très spécifiques des GIST et leur détection est recommandée pour confirmer les diagnostics difficiles (Blay 2004). Elles sont de nature assez

variable, et leur corrélation avec des formes anatomo-clinique particulières, ou avec le pronostic, avec ou sans traitement par des inhibiteurs de RTK, font l'objet de débat entre les groupes internationaux, avec des publications parfois contradictoires. En particulier, la valeur pronostique de ces mutations, publiée initialement par plusieurs équipes (Ernst 1998, Lasota 1999, Tanigushi 1999), est actuellement controversée (Sakurai 1999, Corless 2002, Emile 2004). Ainsi, plus que la simple présence de mutation, c'est la nature de ces mutations qui serait corrélée à un potentiel évolutif variable (Emile 2004, Martin 2005).

Des études rétrospectives ont montré que les GIST sont résistantes aux traitements par les chimiothérapies anti-cancéreuses conventionnelles ; la découverte des effets spectaculaires d'un inhibiteur de tyrosine kinase chez une patiente atteinte de GIST métastatique (Joensuu 2001) a donc suscité un intérêt tout particulier pour cette nouvelle voie thérapeutique. Les effets anti-tumoraux majeurs de l'imatinib ont depuis été confirmés sur plus de 1800 patients inclus dans des études prospectives multicentriques. En Amérique du nord, des études de phase II et III ont inclus respectivement 147 (STI2222, Demetri et al 2002) et 746 patients (SWOS0033), et sous l'égide de l'EORTC des études de phase I-II et III ont inclus respectivement 36 (EORTC 62001, van Oosterom 2001) et 946 patients (EORTC62005).

Une nouvelle découverte majeure a été la démonstration de la forte corrélation entre la réponse clinique à l'imatinib et la présence et le type de mutation dans les GIST (Heinrich 2003, Debiec-Rychter 2004). La forte valeur prédictive des mutations sur la réponse à cet inhibiteur de tyrosine kinase a été démontrée sur une série de 127 patients inclus dans l'étude B2222, où la progression tumorale sous traitement était supérieure à 60% chez les patients sans mutation et inférieure à 10% chez les patients ayant une mutation de l'exon 11 de KIT (Heinrich 2003). Ces résultats ont été confirmés par une étude indépendante portant sur 37 autres patients (Debiec-Rychter 2004). et très récemment sur une série de 377 patients de la phase III de l'EORTC, avec une survie sans progression à 2 ans variant de plus de 60% pour les patients avec une mutations de l'exon 11 de *KIT* à moins de 30% chez ceux avec une mutation de l'exon 9 (Debiec-Rychter, communication personnelle). Ces derniers patients pourraient tirer bénéfice d'un traitement par imatinib à double dose (800mg/j) d'emblée, ou d'un autre inhibiteur de RTK.

Actuellement, seul l'Imatinib a obtenu une autorisation de mise sur le marché pour le traitement des patients atteints de GIST, mais de nouveaux inhibiteurs (SU11248, AB1010,...) paraissent très prometteurs, notamment chez les patients sans mutation ou avec mutation de

l'exon 9. Des résultats plus récents (ASCO 2005), suggèrent que les types d'inhibiteurs des RTK et leurs posologies devront être adaptés selon le type de mutation.

Il est donc nécessaire de déterminer au plus tôt les modalités les plus appropriées de recherche de mutation, et de mettre en place des contrôles de qualité entre les centres de référence. Il est également important de collecter les données médicales des traitements par anti-RTK en fonction des principaux groupes de mutations. En effet ces données permettront d'une part de décider quels patients peuvent bénéficier d'un traitement adjuvant, et d'autre part d'identifier *a posteriori* chez les patients métastatiques, lesquels pourraient à l'avenir bénéficier d'inhibiteurs ou de posologies différentes, et lesquels mériteraient, en cas de résistance primaire, d'être rapidement orientés vers des traitements alternes.

3. Objectifs

Les objectifs de cette étude sont :

- 1) Etablir une épidémiologie moléculaire descriptive des GIST en France.
- 2) Mesurer les corrélations entre la présence et la nature des mutations de *KIT* et *PDGFRA* et l'évolution spontanée ou sous traitement par des inhibiteurs de ces RTK.
- 3) Etablir un contrôle de qualité entre les laboratoires effectuant la recherche de ces mutations en France.
- 4) Déterminer la meilleure stratégie pour le diagnostic de GIST : panel d'anticorps pour l'immunohistochimie et/ou recherche de mutations.

4. Plan de l'étude

Il s'agit d'un étude de cohorte prospective, multicentrique, observationnelle. Elle concerne des cas incidents diagnostiqués entre Avril 2006 et Avril 2008. Un financement partiel de 200 Keuros accordé par la Ligue Nationale Contre le Cancer permettra de débiter l'étude en l'attente du complément de financement sollicité dans le présent PHRC.

4.1. Signalement des patients

Chaque nouveau cas sera signalé au centre coordonnateur, soit par un médecin (généraliste, chirurgien, oncologue, hépato-gastro-entérologue ou pathologiste) ayant connaissance de ce diagnostic, soit par le patient lui même (informé par le site web de l'étude ou par le biais de l'association « Ensemble contre le GIST »). Les praticiens seront informés de l'existence de l'étude par les réseaux nationaux du Groupe Sarcome Français (GSF), de la Fédération Francophone de Cancérologie Digestive (FFCD), de la Fédération des Centres de Lutte Contre le Cancer et de l'Association Française de Chirurgie.

Notons qu'une étude épidémiologique, intitulée ProGIST, s'est terminée en décembre 2005. Elle a eu pour objectif de recenser, pendant une période d'un an, l'ensemble des nouveaux diagnostics de GIST faits en France, sans toutefois recueillir de suivi ni de données de biologie moléculaire. Cette étude, déjà précédée par une étude plus restreinte, a beaucoup sensibilisé les pathologistes, les gastro-entérologues, les oncologues et les chirurgiens à cette pathologie, et devrait de ce fait favoriser l'exhaustivité de notre étude. Elle nous permettra également d'apprécier *a posteriori* cette exhaustivité et fournira un point de comparaison.

Les objectifs et modalités de l'étude seront rendus publics sur le site internet de l'étude, et également diffusés par l'association de patients « Ensemble Contre le GIST », afin de permettre aux patients de s'enregistrer directement.

4.2. Inclusion des patients

Lors d'un signalement par un médecin prenant en charge le patient, l'assistant de recherche clinique (ARC) adresse au praticien un document d'information à remettre au patient, soit en vue de réaliser directement l'inclusion, soit pour lui demander de se mettre en rapport avec un médecin coordonnateur de l'étude. Lors d'un auto-signallement par le patient, celui-ci est contacté par le médecin d'études cliniques pour l'informer des modalités de l'étude et débiter la procédure d'inclusion, notamment en demandant au patient d'indiquer un médecin référent.

En cas d'accord, une information complémentaire sera fournie au patient en face à face par ce médecin référent ou par l'un des médecins coordonnateurs de l'étude, qui recueillera son consentement signé (cf note information et consentement en annexe), et les coordonnées du pathologiste qui a établi le diagnostic.

Le signalement peut ainsi être réalisé de façon indépendante par plusieurs voies : médecin, patient. Chaque signalement fera l'objet d'une fiche provisoire. Cette ou ces fiches provisoires seront, après inclusion, associées à un cas identifié nominativement puis complétées par les données cliniques et anatomo-pathologiques. La notion des diverses sources de signalement sera conservée.

4.3. Critères de sélection des patients

Critères d'inclusion

- . femme ou homme d'age >18 ans
- . date de diagnostic = Avril 2006 à Avril 2008
- . critère de diagnostic = Diagnostic de GIST fait par le pathologiste ayant reçu le prélèvement
- . patient ou son ayant droit légal ayant signé le consentement éclairé.

Critères de non-inclusion

- patient sans domicile fixe ou ne résidant pas sur le territoire français

4.4. Nombre de sujets nécessaires

Cet effectif doit permettre de répondre aux différents objectifs :

- estimer de façon fiable la prévalence des mutations,
- et déterminer l'impact pronostique de ces mutations chez les patients traités ou non par inhibiteurs de RTK, ces deux strates étant analysées séparément.

Il nous paraît raisonnable de prévoir des analyses par groupe de mutations, ayant biologiquement un sens, et constituant au minimum 5 % de l'ensemble de la cohorte. Ainsi, si l'inclusion des patients se fait sur une période de 2 ans, le plus petit groupe serait théoriquement constitué d'environ 70 patients inclus. Cet effectif (environ 1500 sujets) nous permet d'obtenir une précision de $\pm 1\%$ dans l'estimation d'une prévalence proche de 5% avec un risque d'erreur de 5% (intervalle de confiance à 95% exact entre 0,039 et 0,062), si on considère les patients d'une année comme un échantillon de la population de patients.

Avec une possibilité d'analyse moléculaire de 70% (petite taille des blocs, fixation inappropriée pour la biologie moléculaire), il resterait au minimum 50 patients dans les plus

petits groupes pour les corrélations avec les caractéristiques cliniques et l'évolution en fonction du traitement.

On cherche aussi à mettre en évidence un facteur associé à un risque relatif égal à 1,5 (ce qui définit deux groupes ayant respectivement un taux de survie sans progression de 45% et de 30%), avec un risque de première espèce de 1% (pour tenir compte des comparaisons multiples), une puissance de 80%. En considérant deux ans d'inclusion et deux ans de suivi, un taux de perdus de vue de 10%, il faut au total 400 sujets, dans chaque strate (traités, non traités).

Par ailleurs, cet effectif assure une bonne fiabilité dans l'estimation des facteurs pronostiques importants, le ratio facteurs explicatifs / événements devant être compris entre 10 et 20 (Harrell 96) ; si on estime avec Heinrich que près de la moitié des sujets ont connu un événement avant 2 ans, un total de 500 sujets (dans le groupe traité) et de 1000 (dans le groupe non traité) permet de prendre en compte de façon fiable une dizaine de facteurs (mutation, état clinique, sexe, âge, ancienneté maladie, index de performance, métastases, dose traitement) avec leurs interactions éventuelles.

4.5. Durée de l'étude

L'incidence est actuellement estimée à 900 nouveaux cas par an en France. Parmi ceux-ci, environ un tiers est traité. On peut espérer enregistrer 90% des nouveaux patients et en inclure 90% ; soit environ 720 par an, soit 240 traités et 480 non traités. La durée de la période d'inclusion est de 2 ans, la période de suivi s'étend jusqu'à 2 ans après la dernière inclusion (date de point). Ainsi, le recul moyen, sous l'hypothèse d'un rythme d'inclusion uniforme, s'établit à 36 mois (6 mois + 12 mois + 24 mois soit pour les patient inclus la 1^{ère} année et 6 mois + 24 mois pour les patients inclus pendant les seconde) ce qui permet d'observer la plupart des événement significants, les courbes de survie sans rechute publiées montrant que la majeure partie des événements surviennent avant 3 ans ; ce que confirme l'étude à long-terme de Miettinen (2005).

La durée totale de l'étude est donc de 4 ans.

Arrêt de participation d'un patient de l'étude :

Les patients sont en droit de quitter l'étude librement dès qu'ils le souhaitent.

4.6. Relecture centralisée des lames et recherche de mutations

Après inclusion, l'ARC contactera le pathologiste qui a pris en charge initialement le prélèvement pour lui demander de transmettre à l'un des 5 centres référents (*a priori* le plus proche) un bloc d'inclusion en paraffine de la tumeur et, s'il en existe, un fragment de tissu congelé. Ces 5 centres sont, à notre connaissance, les seuls en France effectuant en routine depuis au moins 1 an la recherche de mutations de *KIT* et *PDGFRA* chez les patients atteints de GIST (cf appel à projets nouvelles technologies innovantes et coûteuses de l'INCA, 2005). Les prélèvements reçus par chaque pathologiste expert seront immédiatement signalés à l'ARC. Si un prélèvement demandé n'est pas reçu dans un délai de 2 mois, l'ARC conviendra avec le coordonnateur, au cas par cas, du mode de relance le plus approprié.

A la réception des prélèvements, une coupe colorée à l'HES sera faite sur chaque bloc de paraffine, pour permettre de déterminer les territoires tumoraux à prélever puis de réaliser la relecture centralisée.

Si les blocs sont de taille suffisante (pièce opératoire), les prélèvements pour tissue micro-arrays (TMA) et biologie moléculaire sont ensuite effectués selon les modalités indiquées en annexe. Les blocs TMA permettront de réaliser à faible coût les études immunohistochimiques (*KIT*, p*PDGFRA*, CD34, DOG-1, PKC-thêta, Protéine S100, h-caldesmone, Ki67, etc...). Si les blocs sont de petite taille (biopsie) les prélèvements pour la biologie moléculaire seront effectués en priorité, et une immunohistochimie complémentaire *a minima* sera effectuée par le pathologiste expert.

Les séances de relectures centralisées simultanées seront effectuées entre des pathologistes experts des 5 centres, sans connaissance des résultats de biologie moléculaire ni des données cliniques. Le diagnostic consensuel sera établi par la méthode du groupe nominatif. Ce diagnostic fera office de référence. Notons que pour les patients inclus dans des protocoles thérapeutiques prospectifs, une relecture centralisée est déjà organisée. En cas de relecture concluant à l'absence de tumeur, le patient en sera informé, avec les précautions d'usage.

L'extraction d'ADN tumoral et les recherches de mutation seront effectuées selon les protocoles propres à chaque centre. La recherche de mutation se fera sur des prélèvements tumoraux fixés et inclus en paraffine ou des prélèvements congelés en cas de doute et si ceux-ci sont disponibles. Un contrôle histologique préalable à l'extraction d'ADN est nécessaire, pour évaluer la densité cellulaire de la tumeur, la nécrose et la contamination par des cellules non-tumorales. Les mutations seront recherchées sur les exons 9, 11, 13 et 17 de *KIT* et les

exons 12 et 18 de *PDGFRA*. Les techniques de détection varient suivant les laboratoires avec une phase de criblage par technique LAPP (Emile 2002) ou DHPLC (Heinrich 2003), puis une phase d'identification des mutations par séquençage.

4.7. Contrôle de qualité des techniques de détection des mutations

L'évaluation de la sensibilité des techniques, et le contrôle de qualité seront effectués sur les recherches de mutations de l'exon 11 de *KIT* uniquement. Ceci en raison de la faible quantité d'ADN tumoral disponible, de la fréquence importante des mutations dans cet exon et des répercussions cliniques de leur détection. Un tirage au sort (selon une séquence générée à l'avance par ordinateur) permettra de sélectionner 30 prélèvements (effectif permettant de détecter une concordance de 0,7 vs 0,5, avec un risque de première espèce de 5% et une puissance de 80% selon la méthode de Walter [Walter 1998], en stratifiant en fonction du nombre de prélèvements analysés dans chaque centre. Pour chaque prélèvement tiré au sort, un extrait d'ADN tumoral sera envoyé par le centre concerné aux 4 autres centres pour analyse de l'exon 11 de *KIT*. Les analyses seront faites à l'aveugle des données cliniques.

Après analyse de la reproductibilité, les éventuelles discordances seront discutées lors de réunions des investigateurs.

5. Gestion et analyse des données

5.1. Collecte et gestion des données cliniques

Inclusion

Après l'inclusion de chaque patient, l'ARC recueillera auprès du médecin référent les données cliniques du bilan initial, après avoir fait état du consentement du patient. Ces formulaires, adaptés à la source de notification (service clinique ou anatomo-pathologie) sont renvoyées et adressées nominativement au médecin de l'étude sous enveloppe en mentionnant la notion de " confidentiel médical ".

En complément, l'ARC prendra contact régulièrement auprès des principaux laboratoires d'anatomo-pathologie pour récupérer les comptes-rendus ou pour remplir les fiches pré-imprimées à partir des comptes-rendus.

- Renseignements administratifs et démographiques :

Il s'agit du : nom, nom de jeune fille, prénom, date et lieu de naissance, sexe, lieu de résidence, médecin(s) traitant(s)

- Renseignements médicaux :

Ils comprennent : les antécédents, la date de diagnostic (elle correspond à la date du premier examen anatomo-pathologique positif sinon à la date de l'examen ayant permis de porter le diagnostic de GIST), la topographie de la tumeur (Classification Internationale des Maladies 10ème édition (CIM-10)), l'index de performance, les caractéristiques histologiques (fusiforme, épithélioïde, autre) et phénotypiques (KIT, CD34, protéine S100) de la tumeur, le bilan d'extension, le stade tumoral (TNM, pTNM), la taille de la tumeur, l'index mitotique, la classification clinique, le laboratoire de notification et le numéro d'examen, l'existence d'un cancer antérieur ou d'un cancer concomitant, le traitement (médical/chirurgical), l'utilisation d'inhibiteurs des RTK (type, posologie), la progression (métastases), la date du décès.

- Renseignements sur les sources de notification :

Chaque type de source de notification est répertorié, afin de permettre le calcul du nombre de notifications par cas et le nombre de notifications par source.

Suivi

Le médecin référent sera à nouveau sollicité par l'ARC un et deux ans après l'inclusion des patients, afin d'obtenir les informations sur le traitement, une rechute éventuelle ou l'apparition de métastases ainsi que sur la survie. En cas de perte de vue d'un patient, l'officier d'état civil du lieu de naissance sera contacté, afin d'enregistrer un éventuel

décès. Notons que pour les patients inclus dans des protocoles thérapeutiques prospectifs, une collecte des données cliniques est déjà organisée.

Base de données

Une base de données sera réalisée pour permettre le recueil des informations cliniques et faciliter la logistique (contrôle des doublons, rappels des suivis à date anniversaire). Elle sera installée au centre coordonnateur (Hôpital Ambroise Paré). Compte tenu du caractère nécessairement nominatif de cette base, une demande d'avis sera faire auprès du Comité Consultatif sur le Traitement de l'Information en matière de Recherche dans le domaine de la Santé (CCTIRS), puis en cas d'avis favorable auprès de la CNIL.

Contrôle de la qualité des données

Le contrôle de la qualité des données s'effectue à différents niveaux :

- A la source :

Seules les tumeurs GIST sont recueillies. La multiplication des sources de notification permet de compléter et de vérifier la qualité de chaque dossier. En cas de doute sur le diagnostic ou sur une date de naissance, le dossier est réexaminé par le médecin et des informations complémentaires sont demandées au médecin traitant ou à l'anatomo-pathologiste. Par ailleurs, le diagnostic histologique est confirmé par relecture des lames.

- A la saisie :

Lors de la saisie informatique du cas notifié, un contrôle des doublons est institué : après saisie et validation du nom et ou du prénom, une liste contenant les homonymes, déjà notifiés dans la base de données, s'affiche. Cette liste, classée par ordre alphabétique des noms comprend le nom, le prénom, la date de naissance, le sexe, la localisation du cancer (selon la classification CIM 10) et l'année du diagnostic. A partir de cette liste, il existe 3 possibilités :

1 - Il s'agit d'une actualisation de la fiche, le patient est déjà connu.

2 - Il s'agit d'un nouveau cas de cancer, le patient n'est pas connu. Une nouvelle fiche est saisie.

3 - Le patient est déjà connu, la localisation est identique ainsi que l'année de diagnostic. La saisie est abandonnée car il s'agit d'un doublon.

5.2. Analyse statistique

Stratégie d'analyse

L'analyse portera sur des données exportées de la base et anonymisées (numéro d'inclusion dans l'étude). Les groupes de patients traités et non-traités seront décrits et analysés séparément.

Les caractéristiques de base des patients (âge, sexe, localisation tumorale, type de mutation, ...) seront décrites par la moyenne, la médiane, les quantiles et l'écart type pour les variables quantitatives et par des tableaux de fréquence avec intervalle de confiance à 95% pour les variables qualitatives ou ordinales.

Exhaustivité

Compte tenu de la multiplicité des sources d'informations, il sera mis en œuvre une procédure d'estimation de l'exhaustivité, basée sur l'emploi d'un modèle log-linéaire. L'intérêt de ce modèle, par rapport à la méthode de capture-recapture, réside dans l'absence de contraintes sur l'indépendance des sources et sur l'homogénéité de capture des cas [Guillem 2000]. Il permet en outre d'introduire des variables d'hétérogénéité, comme par exemple la taille de la tumeur, et d'en mesurer l'effet sur l'exhaustivité.

Description et comparaisons

La description du taux de survie sans progression et du taux de survie global sera effectuée par la méthode de Kaplan-Meier, les critères de jugement (progression ou décès étant soumis à censure).

Le test du Chi 2 sera utilisé pour comparer les distributions des variables qualitatives, tandis que l'analyse de variance sera utilisée pour comparer les distributions des variables quantitatives continues, les variables ordinales étant comparées par une méthode non paramétrique de Kruskal-Wallis. Les tests seront effectués avec un risque de première espèce de 5 % en formulation bilatérale.

Recherche de facteurs pronostiques

La recherche des facteurs pronostiques de décès ou de progression comprendra une première étape d'analyse uni variée des facteurs, au moyen du test du log-rank. Les facteurs continus seront discrétisés selon leurs quartiles. Les facteurs associés à un degré de signification inférieur à 0,2 seront retenus pour l'étape suivante. Secondairement, pour estimer l'effet de la mutation ajusté sur l'ensemble des facteurs pronostics, un modèle de régression multiple à hasards proportionnels (Cox) sera développé, avec une sélection des

variables en pas à pas, complétées par la recherche d'interactions et la recherche d'effets non linéaires. L'hypothèse des risques proportionnels sera vérifiée. Les tests finaux seront réalisés en formulation bilatérale, au seuil de 1%. Afin de tenir compte du caractère non contrôlé de l'attribution des traitements, cette analyse sera reproduite en utilisant un appariement multivarié des patients (exposé au traitement vs non exposé) basé sur la procédure du propensity score, qui vise à équilibrer au mieux les facteurs prédictifs du traitement [D'agostino 98].

Fiabilité des examens

Lors de la relecture des lames, le taux de faux positifs sera calculé, avec son intervalle de confiance.

La fiabilité de la technique de détection des mutations sera évaluée sur les examens réalisés simultanément dans les 5 centres en calculant le coefficient Kappa pour les valeurs qualitatives, comme mesure de la concordance inter-juge. On recherchera une éventuelle déviation systématique d'un centre par rapport aux autres ainsi que les caractéristiques des cas pour lesquels la concordance sera jugée insuffisante ($\text{kappa} < 0,7$).

Réalisation

Les analyses statistiques seront réalisées à l'aide des logiciels SAS et R, dans l'Unité de Recherche Clinique Paris-Ouest.

6. Résultats attendus

Les GIST sont les tumeurs mésoenchymateuses les fréquentes du tractus digestif, avec une incidence annuelle estimée à 900 nouveau cas par an en France. Ces tumeurs étaient pratiquement inconnues de la communauté médicale, même spécialisée, il y a 5 ans. Elles sont maintenant l'une des tumeurs phare de l'oncologie moderne, car elles constituent le premier exemple de tumeur solide traitées efficacement avec un anti-oncogène spécifique.

Notre étude d'épidémiologie moléculaire est originale, car il n'existe que très peu d'études phénotypique et génotypique prospective d'une cohorte de patients cancéreux à l'échelle d'une population aussi vaste que la France.

La composante génotypique de cette étude est d'une importance majeure pour la connaissance de ce cancer, car les données publiées depuis 1998, sur la nature et la fréquence des mutations, et leurs corrélations avec des caractéristiques clinico-pathologiques ou le pronostic sont très divergentes.

La composante phénotypique est également importante pour définir le meilleur panel d'anticorps nécessaire au diagnostic.

Les conséquences pour les patients atteints de GIST sont également majeures, car la recherche de mutations est nécessaire dans environ 10% des cas pour confirmer le diagnostic, et les risques d'erreurs diagnostiques sont encore mal connus. Ces erreurs diagnostiques peuvent avoir des conséquences considérables car les GISTs sont insensibles aux chimiothérapies, alors que la majorité de ces patients sont sensibles aux inhibiteurs des RTK.

Enfin, une meilleure connaissance de cette tumeur, et notamment des corrélations génotype/réponse aux traitements, devrait contribuer à permettre l'adaptation du type d'inhibiteur des RTK et de leur posologie en fonction des mutations, ainsi qu'au développement de thérapies ciblées similaires pour des patients atteints de tumeurs plus fréquentes.

7. Aspects logistiques, légaux et éthiques

Loi Huriet

L'étude est *a priori* hors champ de la Loi Huriet car se déroulant dans le cadre du soin courant.

Article L1121-1

(Loi n° 2004-806 du 9 août 2004 art. 88 II Journal Officiel du 11 août 2004)

Les recherches organisées et pratiquées sur l'être humain en vue du développement des connaissances biologiques ou médicales sont autorisées dans les conditions prévues au présent livre et sont désignées ci-après par les termes "recherche biomédicale".

Les dispositions du présent titre ne s'appliquent pas :

1. Aux recherches dans lesquelles tous les actes sont pratiqués et les produits utilisés de manière habituelle, sans aucune procédure supplémentaire ou inhabituelle de diagnostic ou de surveillance ;
2. Aux recherches visant à évaluer les soins courants, autres que celles portant sur des produits mentionnés à l'article L. 5311-1 et figurant sur une liste fixée par décret en Conseil d'Etat, lorsque tous les actes sont pratiqués et les produits utilisés de manière habituelle mais que des modalités particulières de surveillance sont prévues par un protocole, obligatoirement soumis à l'avis consultatif du comité mentionné à l'article L. 1123-1. Ce protocole précise également les modalités d'information des personnes concernées.

Le protocole sera soumis pour avis au Comité de Protection des Personnes. Si l'étude devait être requalifiée dans le champ de la loi Huriet, nous pensons que sa balance bénéfice/risque serait positive. En effet, elle offre l'opportunité de confirmer ou d'infirmer le diagnostic de GIST lors de la relecture des lames par les experts pathologistes. En contrepartie, les contraintes sont minimales (recueil de données).

Promoteur

Il est défini par la loi 2004-806 du 9 août 2004. Dans cette recherche, l'AP-HP sera le promoteur et la Délégation Régionale à la Recherche Clinique qui en assure les missions réglementaires aura un rôle décisionnel.

Notice d'information aux patients et consentement

La participation à l'étude est volontaire. Les patients recevront une information de la part du médecin investigateur sur :

- le but de cette étude,
- la durée de leur participation,
- les procédures qui seront suivies,
- la confidentialité des données et les dispositions de la loi « informatique et Liberté »,

L'ensemble de ces informations est résumé sur une note d'information remise au patient. En fonction de la décision du CCPPRB consulté, les patients ne pourront participer à l'étude que s'ils ont donné leur consentement libre et éclairé par écrit

Le formulaire de consentement (annexe), sera paraphé et signé en trois exemplaires par le patient et le médecin investigateur. Une copie de ce document sera remise au patient, l'investigateur devra garder le troisième exemplaire dans ses archives pendant un minimum de quinze ans, le dernier exemplaire sera remis à la fin de l'étude au promoteur dans une enveloppe scellée.

Les patients seront tenus informés des résultats généraux de la recherche s'ils le désirent.

Soumission au CCPPRB

En accord avec l'article L.1123-6 du Code de la Santé, le protocole de recherche sera soumis à un Comité consultatif de Protection des Personnes en Recherche Biomédicale de l'Ile de France, après accord du promoteur (avec l'attestation d'assurance et la quittance de droit fixe). L'avis de ce comité sera notifié dans le formulaire adressé à l'autorité compétente par le promoteur avant le démarrage de la recherche.

Amendement au protocole

La DRRC doit être informée de tout projet de modification du protocole par l'investigateur coordonnateur. Les modifications devront être qualifiées en substantielles ou non.

Tout amendement au protocole de la recherche, devra être notifié au CCPPRB s'il entraîne des modifications substantielles, c'est-à-dire si les modifications prévues sont susceptibles, d'une manière ou d'une autre, de modifier les garanties apportées aux personnes qui se prêtent à la recherche biomédicale (*modification d'un critère d'inclusion, prolongation d'une durée d'inclusion, extension des analyses génétiques*)

Procédures de suivi du protocole

Les cahiers d'observation seront revus au fur et à mesure de l'état d'avancement de l'étude par l'ARC qui vérifiera l'existence des consentements.

Effets indésirables

Il s'agit d'une étude observationnelle. Il n'est donc pas attendu d'effets indésirables.

Déclaration de la base de données

La gestion des données sera organisée au sein de l'Unité de Recherche Clinique Paris-Ouest (Hôpital Ambroise Paré). Une demande d'avis sera effectuée auprès du CCTIRS puis de la CNIL pour l'enregistrement de données nominatives dans le cadre d'un protocole de recherche. La notification de cet avis sera faite auprès de la DRRC.

OrganisationCoordonnateur

Pr Jean-François Emile

Centre de coordination

Unité de Recherche Clinique Paris-Ouest, coordonnée par le Dr Philippe Aegerter.

Comité de pilotage

Le comité de pilotage est constitué de pathologistes et pathologistes moléculaires (P. Cervera, J.M. Coindre, J.F. Emile, G. Monges, J.Y. Scoazec), d'oncologues (J.Y. Blay, A. Le Cesne), de gastro-entérologues (O. Bouché, B. Landi), d'un chirurgien (S. Bonvalot) et d'un méthodologiste (P. Aegerter).

Laboratoires participants

Les analyses moléculaires seront effectuées dans les 5 centres de référence associés à l'étude :

Département de pathologie de l'Institut Bergonié (Bordeaux) Pr J.M. Coindre

Service de pathologie de l'hôpital Ambroise Paré (Boulogne) Pr J.F. Emile

Département de pathologie de l'hôpital E Herriot (Lyon) Pr J.Y. Scoazec

Département de biopathologie de centre P Calmette (Marseille) Dr G. Monges

Service de pathologie de l'hôpital Saint Antoine (Paris) Dr P. Cervera

et en interface avec 2 unités INSERM :

INSERM U602 (Villejuif) Pr J.F. Emile

INSERM U590 Equipe Cytokine et Cancer (Lyon) Pr J.Y. Blay

Réseaux médicaux

Groupe Sarcome Français (J.Y. Blay et A. Le Cesne)

Fédération Francophone de Cancérologie Digestive (O Bouché et B. Landi)

Groupe Digestif de la Fédération des CLCC (M. Ducreux)

Association Française de Chirurgie (C Meyer)

Pathologistes

Les blocs seront fournis par les pathologistes ayant fait le diagnostic initial (environ 600 laboratoires de pathologie en France potentiellement impliqués).

Rapport et publications

Le rapport final de l'étude sera écrit en collaboration par l'investigateur coordonnateur, le chef de projet et le statisticien nommés pour cette étude. Ce rapport sera soumis à chacun des investigateurs pour avis. Une fois qu'un consensus aura été obtenu, la version finale devra être avalisée par la signature de chacun, l'investigateur coordonnateur et les investigateurs de l'essai.

La ou les publications seront signées par les personnes impliquées dans la conception de l'essai, son déroulement et la rédaction de l'article selon un ordre qui sera discuté par l'investigateur coordonnateur et les investigateurs de l'essai. Le nombre des signataires sera déterminé selon la ou les revues. Cette ou ces publications mentionneront obligatoirement les sources de financement.

Références

- Blay JY, Bonvalot S, Casali P, et al.. Consensus meeting for the management of gastrointestinal stromal tumors. Report of the GIST Consensus Conference of 20-21 March 2004, under the auspices of ESMO.. *Ann Oncol.* 2005;16:566-78
- Corless CL, McGreevey L, Haley A, Town A, Heinrich MC. KIT mutations are common in incidental gastrointestinal stromal tumors one centimeter or less in size. *Am J Pathol* 2002; 160 : 1567-72.
- Corless CL, Fletcher JA, Heinrich MC. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol.* 2004;22:3813-25
- D'Agostino RB Jr. Propensity score methods for bias reduction in the comparison of a treatment to a non-randomized control group. *Stat Med.* 1998 Oct 15;17(19):2265-81.
- Debiec-Rychter M, Dumez H, Judson I, et al.. Use of c-KIT/PDGFR α mutational analysis to predict the clinical response to imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumours entered on phase I and II studies of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *Eur J Cancer.* 2004;40:689-95
- Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, et al.. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med.* 2002;347:472-80.
- Donner A, Eliasziw M. A goodness-of-fit approach to inference procedures for the kappa statistic: confidence interval construction, significance-testing and sample size estimation. *Stat Med.* 1992 Aug;11(11):1511-9.
- Emile JF, Lemoine A, Bienfait N, et al.. Length analysis of polymerase chain reaction products: a sensitive and reliable technique for the detection of mutations in KIT exon 11 in gastrointestinal stromal tumors. *Diagn Mol Pathol.* 2002;11:107-12
- Emile JF, Theou N, Tabone S, *et al.* Clinicopathologic, phenotypic, and genotypic characteristics of gastrointestinal mesenchymal tumors. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2 : 597-605.
- Ernst SI, Hubbs AE, Przygodzki RM, et al. KIT mutation portends poor prognosis in gastrointestinal stromal/smooth muscle tumors. *Lab Invest* 1998 ; 78 : 1633-6.
- Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: A consensus approach. *Hum Pathol.* 2002;33:459-65.
- Guillem P, Lavergne C, Cans C. How to calculate the completeness of ascertainment of a morbidity register? Example of the Isere childhood handicap register in Grenoble, France. *Rev Epidemiol Sante Publique.* 2000 Jan;48(1):41-51. French.

- Harrell FE, Jr., Lee KL, Mark DB. Multivariable prognostic models: issues in developing models, evaluating assumptions and adequacy, and measuring and reducing errors. *Stat Med* 1996;15(4):361-87.
- Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, et al. PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science*. 2003;299:708-10
- Heinrich MC, Corless CL, Demetri GD, et al. Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. *J Clin Oncol*. 2003;21:4342-9.
- Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, et al. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science*. 1998;279:577-80
- Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M, et al. Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N Engl J Med*. 2001;344:1052-6.
- Lasota J, Jasinski M, Sarlomo-Rikala M, et al.. Mutations in exon 11 of c-Kit occur preferentially in malignant versus benign gastrointestinal stromal tumors and do not occur in leiomyomas or leiomyosarcomas. *Am J Pathol* 1999 ; 154(1) : 53-60.
- Martin J, Poveda A, Llombart-Bosch A, et al. Deletions affecting codons 557-558 of the c-KIT gene indicate a poor prognosis in patients with completely resected gastrointestinal stromal tumors: a study by the Spanish Group for Sarcoma Research (GEIS). *J Clin Oncol*. 2005;23:6190-8.
- Mazur MT, Clark HB. Gastric stromal tumors. Reappraisal of histogenesis. *Am J Surg Pathol*. 1983;7:507-19.
- Nilsson B, Bumming P, Meis-Kindblom JM, et al. Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era--a population-based study in western Sweden. *Cancer*. 2005;103:821-9.
- Sakurai S, Fukasawa T, Chong JM, et al. C-kit gene abnormalities in gastrointestinal stromal tumors (tumors of interstitial cells of Cajal). *Jpn J Cancer Res* 1999 ; 90 : 1321-8.
- Taniguchi M, Nishida T, Hirota S, et al. Effect of c-kit mutation on prognosis of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 1999 ; 59(17) : 4297-300.
- van Oosterom AT, Judson I, Verweij J, et al. Safety and efficacy of imatinib (STI571) in metastatic gastrointestinal stromal tumours: a phase I study. *Lancet*. 2001;358:1421-3.
- Walter SD, Eliasziw M, Donner A. Sample size and optimal designs for reliability studies. *Stat Med*. 1998 Jan 15;17(1):101-10.
- Went PT, Dirnhofer S, Bundi M, et al. Prevalence of KIT expression in human tumors. *J Clin Oncol*. 2004;22:4514-22

Annexe 1 : Eléments de calcul budgétaire

NB : La demande de financement ne concerne que les surcoûts.

1) Transport des prélèvements : 26 490 euros

Nombre de cas annuel attendus : 730 GIST dont 50 congelés

Etude sur 2 ans

Transport des prélèvements fixés (aller et retour) : $4.62 \times 2 \times 1460 = 13\,490$ euros pour 1460 prélèvements en envoi recommandé

Transport entre 2 grandes villes en carboglace d'un prélèvement humain congelé (aller simple) en moyenne 130 euros soit 13 000 euros pour 100 prélèvements

2) Technique : 397 119 euros

Pour chaque cas :

| | Consommable (en euros) | T* secrétariat | T* technique | T* Pathologiste |
|--|---------------------------|----------------|--------------|-----------------|
| Réception, archivage, Rendu des résultats | 0.2 | 20 | 5 | 10 |
| Contrôle Morphologique | 0.2 | | 10 | 5 |
| Fabrication du TMA | 0.2 | | 20 | |
| IHC sur TMA** | 1.2 | | 1.2 | 15 |
| Extraction ADN | 8 | | 40 | |
| Contrôle qualité ADN | 1 | | 10 | 5 |
| Total hors analyse exons | 10.8 | 20 | 81.2 | 35 |
| | | | | |
| Analyse d'un exon | 20 | | 15 | 3 |
| Total pour 6 exons | 120 | | 90 | 18 |
| | | | | |
| Total général | 130.8 | 20 | 171.2 | 53 |

* temps en minutes

** Evalué pour 50 cas par TMA, 10 Ac par TMA (ex : 6 euros x 10 HIC / 50 cas = 1.2 euros)

Coût du personnel à l' APHP (soit pour 1600 heures de travail annuel)

| | Salaire annuel chargé | Coût horaire |
|-----------------------------------|-----------------------|--------------|
| Secrétaire | 39 760 | 24.85 |
| Technicien | 42 330 | 26.46 |
| Assistant de recherche clinique | 42 330 | 26.46 |
| Praticien hospitalier spécialiste | 104 520 | 65 euros |

Ce qui fait un coût total de technique par prélèvement (hors transport) d'environ 270 euros.

NB: Il s'agit ici d'une évaluation des coûts directs.

Donc pour 1460 prélèvements 394 200 Euros

Cette somme sera répartie entre les 5 centres experts en fonction du nombre d'analyses effectuées.

3) Recueil et analyse des données : 257 690 euros

- 1) ARC : plein temps pendant 2 ans puis mi-temps pendant 2 ans : 126 990 euros
- 3) Ingénieur d'étude pour création et test de la base de données : 2 mois : 10 000 euros
- 4) Ingénieur d'études pour l'analyse statistique : 3 mois : 15 000 euros
- 5) Indemnisation des praticiens référents pour l'enregistrement des patients et l'envoi des données cliniques : (40 euros/patients), et des pathologistes pour la fiche initiale et la sélection et l'envoi du bloc de tumeur (30 euros/patient) ; soit pour 1460 patients : 102 200 euros
- 6) Frais de poste, téléphone, édition des fiches de recueil de données, papeterie : 5 000 euros

Missions : 15 000 euros

- 1) Réunions initiale, intermédiaire et finale des investigateurs (transport, repas), relecture des lames : 10 investigateurs par réunion, 300 euros de frais par investigateurs, soit 2 500 euros par réunion x 3.
- 2) Missions sur site de l'ARC pour les gros centres (pour 25 missions réparties sur 2 ans) : 7 500 euros

Direction et suivi du projet : 33 000 euros

2 demi-journées de médecin spécialiste par semaine pendant 2 ans, puis 1 demi-journée pendant 2 ans

Frais de gestion : 21 878 euros

DRRC de l'AP-HP : 3%

Total pour l'étude : 752 Keuros

Un financement de 200 000 euros a déjà été accordé par la Ligue Nationale Contre le Cancer.

Un financement complémentaire de 550 000 euros est donc sollicité.

Annexe 2 : Immunohistochimie sur TMA

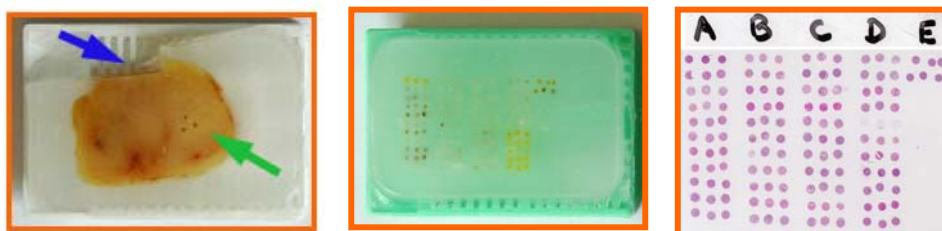
Prélèvements effectués sur les blocs de tissu tumoral fixés en formol et inclus en paraffine pour la recherche d'altérations de l'ADN tumoral et l'immunohistochimie sur Tissue Micro Arrays (TMA)

1) Sur le bloc d'origine ("donneur") (à droite) :

Après une coupe colorée à l'HES pour le contrôle histologique,

- . prélèvements de 3 carottes de 0,6mm au sein de la tumeur (flèche verte)
- . prélèvement d'un fragment qui permettra l'extraction d'ADN (flèche bleue)

NB : de préférence, les carottes sont faites en premier et le prélèvement pour l'extraction d'ADN emporte la zone perforée. Ceci assure de contrôle histologique du territoire dont l'ADN est extrait.



2) Sur le bloc TMA receveur (au centre) :

Les 3 petites carottes de tumeur sont déposées dans le bloc receveur selon un ordre prévu auparavant. A l'issue de ce travail, le bloc de TMA contient des échantillons de plusieurs dizaines de tumeurs. Il peut être conservé, comme les autres blocs de paraffine pendant de nombreuses années.

A partir de ce bloc, il est possible de faire 50 à 100 coupes de 4 µmètres pour réaliser des colorations histologiques (à droite) ou d'immunohistochimie.

3) L'analyse de l'ADN tumoral se fait après broyage des tissus et extraction.

Annexe 3 : Formulaire d'information et consentement

| |
|--|
| <p align="center">Formulaire d'information et de consentement pour une personne participant à une recherche biomédicale</p> |
|--|

| |
|---|
| <p align="center">Epidémiologie moléculaire des tumeurs stromales digestives (GIST) en France et valeur pronostique des mutations des gènes <i>KIT</i> et <i>PDGFRA</i></p> |
|---|

Les pages de ce document sont numérotées (1/nombre total de pages), et doivent être paraphées par le médecin investigateur et la personne donnant son consentement ; la dernière page doit être datée et signée par ces deux mêmes personnes.

Le docteur (1), médecin investigateur m'a proposé de participer à la recherche biomédicale intitulée " ". L'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, promoteur de cet essai, a contracté une assurance conformément à la loi. Le médecin m'a précisé que j'étais libre d'accepter ou de refuser de participer à cette recherche.

Afin d'éclairer ma décision, j'ai reçu et bien compris les informations suivantes :

Cette étude de cohorte prospective multicentrique prévoit d'inclure tous les patients adultes vivant en France et dont le diagnostic de tumeur stromale digestive (GIST) sera établi entre Avril 2006 et Avril 2008. Après inclusion des patients, les prélèvements tumoraux seront recueillis auprès des pathologistes qui les ont reçu initialement. Ceci permettra de confirmer le diagnostic et de rechercher de mutations de *KIT* et *PDGFRA* au sein de l'ADN tumoral. Des données sur l'identité et le dossier médical des patients seront également collectées.

Les objectifs de cette étude sont :

- 1) Etablir une épidémiologie moléculaire descriptive des GIST en France.
- 2) Mesurer les corrélations entre la présence et la nature des mutations de *KIT* et *PDGFRA* et l'évolution spontanée ou sous traitement par des inhibiteurs de ces RTK.
- 3) Etablir un contrôle de qualité entre les laboratoires effectuant la recherche de ces mutations en France.
- 4) Déterminer la meilleure stratégie pour le diagnostic de GIST : panel d'anticorps pour l'immunohistochimie et/ou recherche de mutations.

Cette étude ne nécessite aucun prélèvement supplémentaire et ne nécessite aucune modification du traitement. Des informations sur le dossier médical seront sollicités pendant

une durée de 2 ans après le diagnostic. Le bénéfice individuel pour chaque patient est la confirmation du diagnostic par un groupe d'experts. Après réalisation des analyses, les prélèvements tumoraux transmis par le pathologiste initial seront soit restitués, soit conservés sous la responsabilité du promoteur, dans le cadre de la législation en vigueur.

Cette recherche a reçu l'avis favorable du Comité Consultatif de Protection des Personnes participant à une Recherche Biomédicale de le

Le fichier informatique utilisé pour la recherche contient mes coordonnées nominatives (nom, adresse) ainsi que des données cliniques et d'évolution me concernant. Il a fait l'objet d'une demande d'avis auprès de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés en application des articles 40-1 et suivants de la loi " informatique et libertés ".

J'accepte que les données médicales me concernant puissent faire l'objet d'un traitement informatisé par les organisateurs de la recherche.

** à mettre si ces données sont recueillies dans l'étude*

Le droit d'accès et de rectification prévu par la loi " Informatique et Liberté " s'exerce à tout moment auprès des responsables de l'étude. Pour toutes les informations de nature médicale, j'exercerai ce droit directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de mon choix, le Dr (article 40 de la loi 78.17 du 6 janvier 1978 et art. L.1111-7 du Code de la Santé Publique).

Les données recueillies demeureront strictement confidentielles. Elles ne pourront être consultées que par l'équipe médicale, les personnes dûment mandatées par le promoteur de la recherche et éventuellement par des représentants des autorités sanitaires et judiciaires habilités.

Après en avoir discuté et avoir obtenu réponse à toutes mes questions, j'accepte librement et volontairement de participer à la recherche décrite ci-dessus. Je suis parfaitement conscient(e) que je peux retirer à tout moment mon consentement à ma participation à cette recherche et cela quelles que soient mes raisons et sans supporter aucune responsabilité. Le fait de ne plus participer à cette recherche ne portera pas atteinte à mes relations avec le médecin investigateur.

Je peux à tout moment demander toute information complémentaire au Dr..... (n° de téléphone).

Si je le souhaite, à son terme, je serai informé(e) par l'investigateur qui recueille mon consentement des résultats globaux de cette recherche.

Mon consentement ne décharge en rien l'investigateur et le promoteur de l'ensemble de leurs responsabilités et je conserve tous mes droits garantis par la loi.

L'investigateur :

Personne donnant le consentement :

: Fait à le

Fait à , le :

Nom, prénom :

Nom, prénom :

Signature

Signature

(1) Indiquer le nom, prénom, adresse, téléphone.

Ce document est à réaliser en 3 exemplaires originaux, dont l'un doit être gardé 15 ans par l'investigateur, un autre remis à la personne donnant son consentement et le troisième transmis au promoteur.