

2024-2025

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Qualification en ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES.

**Apport du méthylome
dans le diagnostic des
tumeurs primitives du
système nerveux central**

BINY Pierre

Né le 16/05/1995 à Amiens (80)

Sous la direction de Mme la Professeure ROUSSEAU Audrey

Membres du jury

Madame la Professeure COPIN Marie-Christine		Président
Madame la Professeure ROUSSEAU Audrey		Directeur
Monsieur le Professeur LEMEE Jean-Michel		Membre
Madame la Docteure MICHALAK Sophie		Membre
Monsieur le Docteur KUBICEK Pierre		Membre

Soutenue publiquement
le 29 avril 2025

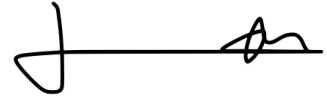


**FACULTÉ
DE SANTÉ**
UNIVERSITÉ D'ANGERS

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné BINY Pierre
déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une
partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet,
constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées
pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiant(e) le **09/02/2025**.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'BINY Pierre', written over a horizontal line.

SERMENT D'HIPPOCRATE

« Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu (e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré (e) et méprisé(e) si j'y manque ».

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE SANTÉ D'ANGERS

Doyen de la Faculté : Pr Cédric ANNWEILER

Vice-Doyen de la Faculté et directeur du département de pharmacie : Pr
Sébastien FAURE

Directeur du département de médecine : Pr Vincent DUBÉE

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

ABRAHAM Pierre	PHYSIOLOGIE	Médecine
ANGOULVANT Cécile	MEDECINE GENERALE	Médecine
ANNWEILER Cédric	GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT	Médecine
ASFAR Pierre	REANIMATION	Médecine
AUBE Christophe	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine
AUGUSTO Jean-François	NEPHROLOGIE	Médecine
BAUFRETON Christophe	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE	Médecine
BELLANGER William	MEDECINE GENERALE	Médecine
BELONCLE François	REANIMATION	Médecine
BIERE Loïc	CARDIOLOGIE	Médecine
BIGOT Pierre	UROLOGIE	Médecine
BONNEAU Dominique	GENETIQUE	Médecine
BOUCHARA Jean-Philippe	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE	Médecine
BOUET Pierre-Emmanuel	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
BOURSIER Jérôme	GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE	Médecine
BOUVARD Béatrice	RHUMATOLOGIE	Médecine
BRIET Marie	PHARMACOLOGIE	Médecine
CAMPONE Mario	CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE	Médecine
CAROLI-BOSC François-Xavier	GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE	Médecine
CASSEREAU Julien	NEUROLOGIE	Médecine
CLERE Nicolas	PHARMACOLOGIE / PHYSIOLOGIE	Pharmacie
COLIN Estelle	GENETIQUE	Médecine
CONNAN Laurent	MEDECINE GENERALE	Médecine
COPIN Marie-Christine	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES	Médecine
COUTANT Régis	PEDIATRIE	Médecine
CUSTAUD Marc-Antoine	PHYSIOLOGIE	Médecine
CRAUSTE-MANCIET Sylvie	PHARMACOTECHNIE HOSPITALIERE	Pharmacie
DE CASABIANCA Catherine	MEDECINE GENERALE	Médecine
DERBRE Séverine	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
DESCAMPS Philippe	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
D'ESCATHA Alexis	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine

DINOMAIS Mickaël	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION	Médecine
DUBEE Vincent	MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES	Médecine
DUCANCELLE Alexandra	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE	Médecine
DUVERGER Philippe	PEDOPSYCHIATRIE	Médecine
EVEILLARD Matthieu	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Pharmacie
FAURE Sébastien	PHARMACOLOGIE PHYSIOLOGIE	Pharmacie
FOURNIER Henri-Dominique	ANATOMIE	Médecine
FOUQUET Olivier	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE	Médecine
FURBER Alain	CARDIOLOGIE	Médecine
GAGNADOUX Frédéric	PNEUMOLOGIE	Médecine
GOHIER Bénédicte	PSYCHIATRIE D'ADULTES	Médecine
GUARDIOLA Philippe	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
GUILET David	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
HUNAUT-BERGER Mathilde	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
JEANNIN Pascale	IMMUNOLOGIE	Médecine
KAZOUR François	PSYCHIATRIE	Médecine
KEMPF Marie	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE	Médecine
KUN-DARBOIS Daniel	CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE	Médecine
LACOEUILLE FRANCK	RADIOPHARMACIE	Pharmacie
LACCOURREYE Laurent	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE	Médecine
LAGARCE Frédéric	BIOPHARMACIE	Pharmacie
LANDREAU Anne	BOTANIQUE/ MYCOLOGIE	Pharmacie
LASOCKI Sigismond	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION	Médecine
LEBDAI Souhil	UROLOGIE	Médecine
LEGENDRE Guillaume	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
LEGRAND Erick	RHUMATOLOGIE	Médecine
LEMEE Jean-Michel	NEUROCHIRURGIE	Médecine
LERMITE Emilie	CHIRURGIE GENERALE	Médecine
LEROLLE Nicolas	REANIMATION	Médecine
LIBOUBAN Hélène	HISTOLOGIE	Médecine
LUQUE PAZ Damien	HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE	Médecine
MARCHAIS Véronique	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Pharmacie
MARTIN Ludovic	DERMATO-VERERELOGIE	Médecine
MAY-PANLOUP Pascale	BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION	Médecine
MENEI Philippe	NEUROCHIRURGIE	Médecine
MERCAT Alain	REANIMATION	Médecine
ORVAIN Corentin	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
PAISANT Anita	RADIOLOGIE	Médecine
PAPON Nicolas	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE	Pharmacie

PASSIRANI Catherine	CHIMIE GENERALE	Pharmacie
PELLIER Isabelle	PEDIATRIE	Médecine
PETIT Audrey	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine
PICQUET Jean	CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE	Médecine
PODEVIN Guillaume	CHIRURGIE INFANTILE	Médecine
PROCACCIO Vincent	GENETIQUE	Médecine
PRUNIER Delphine	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
PRUNIER Fabrice	CARDIOLOGIE	Médecine
PY Thibaut	MEDECINE GENERALE	Médecine
RAMOND-ROQUIN Aline	MEDECINE GENERALE	Médecine
REYNIER Pascal	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
RIOU Jérémie	BIostatistique	Pharmacie
RINEAU Emmanuel	ANESTHESIOLOGIE REANIMATION	Médecine
RIQUIN Elise	PEDOPSYCHIATRIE ; ADDICTOLOGIE	Médecine
RODIEN Patrice	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES	Médecine
ROQUELAURE Yves	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine
ROUGE-MAILLART Clotilde	MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE	Médecine
ROUSSEAU Audrey	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES	Médecine
ROUSSEAU Pascal	CHIRURGIE PLASTIQUE, RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE	Médecine
ROUSSELET Marie-Christine	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES	Médecine
ROY Pierre-Marie	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
SAULNIER Patrick	BIOPHYSIQUE ET BIostatistiques	Pharmacie
SERAPHIN Denis	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie
SCHMIDT Aline	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
TESSIER-CAZENEUVE Christine	MEDECINE GENERALE	Médecine
TRZEPIZUR Wojciech	PNEUMOLOGIE	Médecine
UGO Valérie	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
URBAN Thierry	PNEUMOLOGIE	Médecine
VAN BOGAERT Patrick	PEDIATRIE	Médecine
VENARA Aurélien	CHIRURGIE VISCERALE ET DIGESTIVE	Médecine
VENIER-JULIENNE Marie-Claire	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
VERNY Christophe	NEUROLOGIE	Médecine
WILLOTEAUX Serge	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

AMMI Myriam	CHIRURGIE VASCULAIRE ET THORACIQUE	Médecine
BAGLIN Isabelle	CHIMIE THERAPEUTIQUE	Pharmacie

BASTIAT Guillaume	BIOPHYSIQUE ET BIostatISTIQUES	Pharmacie
BEAUVILLAIN Céline	IMMUNOLOGIE	Médecine
BEGUE Cyril	MEDECINE GENERALE	Médecine
BELIZNA Cristina	MEDECINE INTERNE	Médecine
BENOIT Jacqueline	PHARMACOLOGIE	Pharmacie
BERNARD Florian	ANATOMIE	Médecine
BESSAGUET Flavien	PHYSIOLOGIE PHARMACOLOGIE	Pharmacie
BLANCHET Odile	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
BOISARD Séverine	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
BOUCHER Sophie	ORL	Médecine
BRIET Claire	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES	Médecine
BRILLAND Benoit	NEPHROLOGIE	Médecine
BRIS Céline	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Pharmacie
BRUGUIERE Antoine	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
CAPITAIN Olivier	CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE	Médecine
CHABRUN Floris	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Pharmacie
CHAO DE LA BARCA Juan- Manuel	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
CHOPIN Matthieu	MEDEECINE GENERALE	
CODRON Philippe	NEUROLOGIE	Médecine
DEMAS Josselin	SCIENCES DE LA READAPTATION	Médecine
DESHAYES Caroline	BACTERIOLOGIE VIROLOGIE	Pharmacie
DOUILLET Delphine	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
FERRE Marc	BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
FORTRAT Jacques-Olivier	PHYSIOLOGIE	Médecine
GHALI Maria	MEDECINE GENERALE	Médecine
GUELFF Jessica	MEDECINE GENERALE	Médecine
HADJ MAHMOUD Dorra	IMMUNOLOGIE	Pharma
HAMEL Jean-François	BIostatISTIQUES, INFORMATIQUE MEDICALE	Médicale
HAMON Cédric	MEDECINE GENERALE	Médecine
HELESBEUX Jean-Jacques	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie
HERIVAUX Anaïs	BIOTECHNOLOGIE	Pharmacie
HINDRE François	BIOPHYSIQUE	Médecine
JOUSSET-THULLIER Nathalie	MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE	Médecine
JUDALET-ILLAND Ghislaine	MEDECINE GENERALE	Médecine
KHIATI Salim	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
LEFEUVRE Caroline	BACTERIOLOGIE ; VIROLOGIE	Médecine
LEGEAY Samuel	PHARMACOCINETIQUE	Pharmacie
LEPELTIER Elise	CHIMIE GENERALE	Pharmacie
LETOURNEL Franck	BIOLOGIE CELLULAIRE	Médecine
MABILLEAU Guillaume	HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE	Médecine
MALLET Sabine	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
MAROT Agnès	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE	Pharmacie
MESLIER Nicole	PHYSIOLOGIE	Médecine
MIOT Charline	IMMUNOLOGIE	Médecine
MOUILLIE Jean-Marc	PHILOSOPHIE	Médecine

NAIL BILLAUD Sandrine	IMMUNOLOGIE	Pharmacie
PAILHORIES Hélène	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Médecine
PAPON Xavier	ANATOMIE	Médecine
PASCO-PAPON Anne	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine
PENCHAUD Anne-Laurence	SOCIOLOGIE	Médecine
PIHET Marc	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE	Médecine
PIRAUX Arthur	OFFICINE	Pharmacie
POIROUX Laurent	SCIENCES INFIRMIERES	Médecine
RONY Louis	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE	Médecine
ROGER Emilie	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
SAVARY Camille	PHARMACOLOGIE-TOXICOLOGIE	Pharmacie
SCHMITT Françoise	CHIRURGIE INFANTILE	Médecine
SCHINKOWITZ Andréas	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
SPIESSER-ROBELET Laurence	PHARMACIE CLINIQUE ET EDUCATION THERAPEUTIQUE	Pharmacie
TEXIER-LEGENDRE Gaëlle	MEDECINE GENERALE	Médecine
VIAULT Guillaume	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie

AUTRES ENSEIGNANTS

ATER		
BARAKAT Fatima	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
ATCHADE Constantin	GALENIQUE	Pharmacie
PRCE		
AUTRET Erwan	ANGLAIS	Santé
BARBEROUSSE Michel	INFORMATIQUE	Santé
COYNE Ashley	ANGLAIS	Santé
O'SULLIVAN Kayleigh	ANGLAIS	Santé
RIVEAU Hélène	ANGLAIS	
PAST-MAST		
AUBRUCHET Hélène		
BEAUVAIS Vincent	OFFICINE	Pharmacie
BRAUD Cathie	OFFICINE	Pharmacie
CAVAILLON Pascal	PHARMACIE INDUSTRIELLE	Pharmacie
DILÉ Nathalie	OFFICINE	Pharmacie
GUILLET Anne-Françoise	PHARMACIE DEUST PREPARATEUR	Pharmacie
MOAL Frédéric	PHARMACIE CLINIQUE	Pharmacie
CHAMPAGNE Romain	MEECINE PHYSIQUE ET READAPTATION	Médecine
KAASSIS Mehdi	GASTRO-ENTEROLOGIE	Médecine
GUITTON Christophe	MEDECINE INTENSIVE-REANIMATION	Médecine
LAVIGNE Christian	MEDECINE INTERNE	Médecine
PICCOLI Giorgina	NEPHROLOGIE	Médecine

POMMIER Pascal	CANCEROLOGIE-RADIOTHERAPIE	Médecine
SAVARY Dominique	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
PLP		
CHIKH Yamina	ECONOMIE-GESTION	Médecine

REMERCIEMENTS

A la présidente du jury,

MADAME LA PROFESSEURE MARIE-CHRISTINE COPIN

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier
Département de Pathologie Cellulaire et Tissulaire, CHU Angers

Vous me faites l'honneur de présider le jury de ma thèse, Pour l'avoir accepté, mais aussi pour votre bienveillance, votre pédagogie et votre implication dans notre formation,

Soyez assurée, Madame la Professeure, de ma profonde reconnaissance et de mes remerciements les plus sincères.

A la Directrice de thèse,

MADAME LA PROFESSEURE AUDREY ROUSSEAU

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier
Département de Pathologie Cellulaire et Tissulaire, CHU Angers

Vous me faites l'honneur de diriger cette thèse,

Merci pour ce soutien sans faille, durant la thèse et durant mon internat. Merci pour votre forte implication dans mon enseignement.

Soyez assurée de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury de thèse,

MADAME LE DOCTEUR SOPHIE MICHALAK

Praticien Hospitalier en Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Angers

Vous me faites l'honneur de participer au jury de ma thèse,

Merci pour le partage de vos connaissances et de votre sympathie au quotidien dans le service.

Soyez assurée de toute ma reconnaissance et de mes plus sincères remerciements

MONSIEUR LE PROFESSEUR JEAN-MICHEL LEMEE

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier
Département de Neurochirurgie, CHU Angers

Vous me faites l'honneur de participer au jury de ma thèse,

Soyez assuré de ma reconnaissance et de mes sincères remerciements.

MADAME LE DOCTEUR PIERRE KUBICEK

Praticien de Centre de Lutte Contre le Cancer (CLCC)
Institut de Cancérologie de l'Ouest, Site Paul Papin – Angers

Vous me faites l'honneur de participer au jury de ma thèse,

Soyez assuré de ma reconnaissance et de mes sincères

REMERCIEMENTS

Au Département de Pathologie Cellulaire et Tissulaire du CHU d'Angers

MADAME LA DOCTEURE MERZOUKA ZIDANE-MARINNES,

Pour votre bienveillance, pour votre grande implication dans notre formation, et pour votre patience à mon égard, merci

MADAME LA DOCTEURE ANNE CROUE,

Pour toutes les connaissances que vous nous transmettez, merci

MADAME LA DOCTEURE SARAH BELLAL,

Pour toujours être là quand on en a besoin, pour ta grande implication dans tout, pour ton soutien, pour ton enthousiasme et ta bonne humeur constante, merci

MADAME LA DOCTEURE CAROLINE SAVARY,

Pour ton encadrement, pour ta grande pédagogie, et ta sympathie, merci

MONSIEUR LE DOCTEUR ALEXANDRE COLLIN,

Pour ta bienveillance, ton soutien et ton encadrement, merci

MONSIEUR LE DOCTEUR HELIES JEREMIE

Pour tous les moments de rigolades, mais aussi pour ton soutien, ton encadrement et ta patience à toutes épreuves, merci

Ps : tu remarqueras que tu es dans la partie des chefs !

REMERCIEMENTS

AUX INTERNES ANGEVINS DEVENU DES AMIS

A Alix, pour ta bonne humeur ou pas :p et ton amitié,

A Sam, pour nos discussions et ton humour, à ton amitié,

A Leslie, pour ta gentillesse et ton humour, à ton amitié

A Bertille, pour ton humour et ta bonne humeur perpétuelle, a ton amitié !

A Laurie, pour ton humour, et ton amitié !

A Grégoire, pour ton premier semestre, pour cette découverte et pour notre amitié naissante ! A nos fous rires

A Ismaïl, pour cette rencontre il y a 1 an, pour nos fous rires et pour notre amitié !

A Claire-Marie, AKA CMV, merci pour ton humour, ta bonne humeur, à ton amitié !

A MA FAMILLE

A ma maman, pour m'avoir soutenu et encouragé depuis 29 ans, merci de m'avoir appris à vivre maman.

A mon papa, comment te dire que tu es mon modèle, fier de suivre ta route. Merci pour tout papa.

A ma sœur, Pauline, trop de choses à dire, les larmes me montent, merci pour tout, je t'aime

A Lilian, tu es maintenant dans la famille, merci pour tous ces bons moments passés et à venir.

A Eva, cette petite puce qui vient éclaircir et éblouir nos journées. Tu peux être fière de ta famille, crois moi !

A mon papi, mon ange gardien, j'espère que là où tu es, tu es fier de moi !

A ma mamie, merci pour tous ces moments de bonheur, je t'aime.

REMERCIEMENTS

A MES AMIS

A François, Thomas, Céline pour votre amitié très précieuse, pour avoir été là pour moi depuis tellement d'années et pour les années à venir. A nos moments tellement importants pour moi !

A Clothilde, Léo et Hector, merci d'être là pour moi, et merci d'avoir fait rentrer Hector dans ma vie, je suis fier...

A Louis, Pierre et Clarisse, à ce semestre de génétique sans quoi je ne vous aurais jamais rencontrés, à notre amitié des plus sincères, putain je vous aime !

A François, Thomas, Quentin, Hugo, Alexandre, une bonne brochette de techniciens, merci pour tous les moments passés ensemble, à nos rigolades, mais aussi à noter, enfin à votre efficacité ! Merci pour tous !

A Léa, merci pour tous ce que tu m'as apporté, sans toi je ne serais probablement jamais arrivé jusque-là...

A Christelle, Nadine, Sylvie, Floriane, Karine, Aurélie merci de supporter mes dictées assez aléatoires ahah, merci pour votre sympathie, merci pour nos rires !

« **Merci pour les roses, merci pour les épines** » : **Jean d'Ormesson**

Enfin, Merci à tous pour le médecin que vous m'avez fait devenir !!

PLAN

SERMENT D'HIPPOCRATE

RESUME

INTRODUCTION

MATÉRIEL ET MÉTHODES

RÉSULTATS

- 1. Description de la cohorte**
- 2. Comparaison entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique selon la version v12.8 du *classifier***
 - 2.1. Description des catégories I et II (diagnostics concordants)
 - 2.2. Description de la catégorie III (changement de classe/sous-classe)
 - 2.3. Description de la catégorie IV (changement de super famille/famille)
 - 2.4. Description de la catégorie V (super famille « tissu contrôle » ou SC < 0,5)
- 3. Comparaison des résultats du méthylome entre les versions v12.8 et v12.5 du *classifier***
- 4. Comparaison des résultats obtenus à partir d'échantillons congelés versus FFPE**

DISCUSSION

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

BIBLIOGRAPHIE

LISTE DES FIGURES

ANNEXES

RESUME

Introduction : La classification de l'OMS 2021 des tumeurs du système nerveux central (SNC) a fait évoluer la démarche diagnostique en Neuro-Oncologie. Avec le développement de techniques de biologie moléculaire toujours plus performantes, le diagnostic histomoléculaire, ou « intégré » (intégrant les données histopathologiques et moléculaires), est devenu central dans la classification des tumeurs du SNC. Le méthylome y occupe une place croissante, notamment en pédiatrie. Même si l'apport de cette technique est indiscutable, les résultats obtenus à partir d'algorithmes d'intelligence artificielle doivent être considérés avec un regard critique. Le but de ce travail était d'évaluer l'apport du méthylome dans le diagnostic des tumeurs du SNC depuis sa mise en place en 2021 dans le département de Pathologie du CHU d'Angers.

Matériel et Méthodes : Notre cohorte rétrospective comprenait 256 tumeurs du SNC ayant fait l'objet d'un diagnostic intégré avec analyse du profil de méthylation à l'aide de puces EPIC v1 (Illumina). Les données du méthylome ont été analysées par le *classifier* développé par l'Université de Heidelberg, en Allemagne. Le diagnostic proposé par le *classifier* a été comparé au diagnostic intégré pré-méthylomique retenu par un neuropathologiste expert. Les cas ont été répartis en 5 catégories : catégorie I : les deux diagnostics étaient concordants ; catégorie II : les diagnostics étaient concordants mais le méthylome apportait une précision diagnostique ; III : le méthylome proposait un diagnostic différent mais au sein de la même famille de tumeurs ; IV : les deux diagnostics étaient discordants (changement de famille/super famille) ; V : le méthylome était non contributif (score calibré (SC) < 0,5 ou diagnostic de tissu contrôle). Chaque catégorie a été scindée en deux sous-catégories : a pour les cas avec un SC > 0,9 (score de confiance élevé) et b pour les cas avec un SC entre 0,5 et 0,9 (score peu significatif). Les cas discordants ont été revus afin de formuler un diagnostic final en faveur ou non du diagnostic proposé par l'algorithme de Heidelberg.

Résultats :

Dans 19% des cas (48/256 cas), le diagnostic méthylomique était parfaitement concordant avec le diagnostic pré-méthylomique (catégorie I) et dans 41% des cas (104/256), il apportait une précision diagnostique (catégorie II). Dans 9% des cas (23/256), le diagnostic méthylomique était partiellement discordant (catégorie III) et dans 17% des cas (45/256 cas), il était discordant (catégorie IV). Parmi ces 45 cas, seuls 26 étaient réellement discordants (avec un SC > 0,9, catégorie IVa ; 10% (26/256)). Dans 15 cas (5,8% ; 15/256), les résultats

du méthylome ont amené à réviser le diagnostic intégré initial. Dans 14% des cas (36/256), le diagnostic méthylomique était non contributif (catégorie V).

Conclusion : Dans 60% des cas, les diagnostics histomoléculaire et méthylomique étaient concordants. Dans deux tiers de ces cas, le méthylome apportait une information supplémentaire. Dans seulement 5,8% des cas, les résultats du méthylome ont réellement modifié le diagnostic retenu. Le méthylome est un outil précieux pour confirmer et affiner le diagnostic des tumeurs du SNC, et choisir les traitements les plus adaptés. Cependant, il est indispensable de corrélérer les résultats obtenus aux données clinico-radiologiques, histopathologiques et moléculaires autres.

INTRODUCTION

Le diagnostic des tumeurs primitives du système nerveux central (SNC) a longtemps reposé sur une étude purement histopathologique (1) mais les critères morphologiques sont subjectifs et ne sont pas toujours corrélés à l'évolution clinique de la maladie (2).

L'avènement des techniques de biologie moléculaire à haut débit, notamment du séquençage de nouvelle génération (NGS pour *next generation sequencing*), a permis une caractérisation plus fine des tumeurs et donc un diagnostic plus précis du type et sous-type tumoral. La classification OMS 2021 des tumeurs du SNC repose sur un diagnostic histomoléculaire, dit « intégré », alliant les données histopathologiques aux données moléculaires. Les anomalies moléculaires clés font parfois partie du nom même de la tumeur (ex : oligodendrogliome IDH-muté 1p/19q-codéleté, gliome diffus de la ligne médiane H3K27-altéré). La caractérisation moléculaire des tumeurs du SNC a permis d'enrichir la classification OMS de nouveaux types tumoraux (3).

Le méthylome ou analyse de la méthylation de l'ADN à l'échelle du génome renseigne sur la cellule d'origine d'une tumeur et sur les modifications épigénétiques qu'elle a subies (4). La méthylation de l'ADN correspond à la présence d'un groupement méthyle (CH₃) sur une cytosine (C) reliée par une liaison phosphate (p) à une guanine (G) (pouvant former des îlots CpG) (5,6). Il s'agit d'une marque épigénétique impliquée dans l'embryogenèse, l'inactivation du chromosome X, le vieillissement et la cancérogenèse (7). Chaque cellule acquiert, au cours de l'embryogenèse, un profil de méthylation stable qui est propre à son organe d'origine. Ce profil peut être caractéristique d'une région de celui-ci ou d'un sous-type cellulaire (8). Ceci est particulièrement vrai dans le SNC où les profils de méthylation permettent de distinguer les différents types cellulaires (glial, neuronal, épendymaire, etc.) et leur localisation anatomique (hémisphères cérébraux, tronc cérébral/cervelet, moelle épinière) (8,9). Les modifications épigénétiques acquises au cours de la tumorigenèse altèrent peu cette signature (10). La méthylation de l'ADN est principalement déterminée par l'origine cellulaire et les programmes propres à chaque type cellulaire plutôt que par des facteurs génétiques ou environnementaux (11). Le profil de méthylation renseigne donc sur la nature d'une tumeur et peut aider au diagnostic, en complément de l'analyse histopathologique.

Le centre de recherche contre le cancer DKFZ de Heidelberg, en Allemagne, a développé un algorithme d'apprentissage supervisé (forme d'intelligence artificielle (IA)) permettant de classer les tumeurs du SNC à partir des données du méthylome (12). Le profil de méthylation de chaque échantillon est comparé à une cohorte de référence, initialement composée de 2 800 échantillons et enrichie régulièrement de nouveaux prélèvements (12). La classification OMS 2021 des tumeurs du SNC intègre cette classification pour le diagnostic de certains types tumoraux, dans une logique de diagnostic intégré, en s'appuyant conjointement sur les études moléculaires dites standards (13). Nous utilisons cet outil dans le département de Pathologie pour le diagnostic des tumeurs du SNC depuis 2021. Afin d'évaluer l'apport du méthylome dans la pratique quotidienne, nous avons constitué une cohorte rétrospective de 256 tumeurs pour lesquelles un méthylome avait été réalisé dans le cadre du diagnostic. Chaque cas avait eu une analyse histopathologique et une étude moléculaire par des méthodes conventionnelles (NGS ADN, RNAseq, SNP array) avec la production d'un diagnostic intégré. Ce diagnostic intégré a été comparé au diagnostic proposé par le *classifier* de Heidelberg.

Nous nous sommes principalement intéressés aux cas discordants, pour lesquels le diagnostic intégré ne correspondait pas au diagnostic méthylomique. L'objectif de cette étude était de comprendre les causes de cette discordance afin de parfaire le diagnostic dans un souci d'amélioration de la prise en charge des patients.

MÉTHODES

Patients

L'étude a été réalisée dans le Département de Pathologie du CHU d'Angers. Elle a porté sur 256 échantillons tumoraux obtenus entre 2005 et 2024. Un prélèvement était issu d'une autopsie scientifique réalisée chez un fœtus. Les autres patients avaient de 1 à 82 ans (médiane : 36 ans). 154 patients (60%) avaient au moment du diagnostic 25 ans ou plus (patients de type adulte) et 102 moins de 25 ans (patients de type pédiatrique). Chaque échantillon inclus provenait soit du service de Neurochirurgie du CHU d'Angers, soit de centres du Grand Ouest dans le cadre d'une relecture ou d'un second avis dans le réseau national RENOCLIP-LOC (INCa). Pour tous les patients inclus dans l'étude, un diagnostic histopathologique et moléculaire standard a été réalisé avant le méthylome (diagnostic histomoléculaire pré-méthylomique).

Extraction et quantification des ADN tumoraux

L'ADN de chaque échantillon a été extrait à partir du tissu tumoral congelé (180 cas) ou à partir du tissu fixé dans le formol et inclus en paraffine (FFPE pour *formalin-fixed paraffin-embedded*) (82 cas) avec les kits *NucleoSpin Tissue* ou *NucleoSpin DNA FFPE XS* (Macherey Nagel), respectivement. La qualité et la quantité de l'ADN ont été évaluées à l'aide du *Nanodrop® ND 1000* et du kit *Qubit dsDNA HS Assay* (Life Technologies).

Méthylome

Les profils de méthylation ont été générés sur puces *Infinium MethylationEPICv1* (Illumina) après une conversion bisulfite de l'ADN tumoral avec le kit *EZ DNA Methylation* (Ozyme) puis une restauration pour les ADN extraits de bloc FFPE avec le kit *Infinium FFPE DNA Restoration* (Illumina). La lecture de la puce a été effectuée sur le système *iScan* (Illumina).

Les résultats bruts au format *IDAT* ont été analysés selon les versions 12.5 et 12.8 de l'outil de classification des tumeurs du SNC de la plateforme de Heidelberg (<https://app.epignostix.com>) (14) (Annexe I). Le score calibré (SC), qui représente le degré de confiance dans le diagnostic proposé par l'algorithme, est compris entre 0 et 1. Seuls les $SC > 0,9$ sont considérés comme fiables. Le résultat est fourni sous forme d'une super famille, famille, classe et sous classe (Figure 1). Nous avons classé les cas en 5 catégories : I :

concordance entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique ; II : concordance entre les deux diagnostics mais le méthylome apportait une précision diagnostique (sous-type tumoral par exemple) ; III : discordance avec proposition par le méthylome d'une autre classe ou sous-classe au sein de la même famille de tumeurs ; IV : discordance avec proposition d'une autre famille ou super famille ; V : $SC < 0,5$ ou classement en tissu contrôle ou microenvironnement inflammatoire par le méthylome (résultat non contributif). Chaque catégorie comprenait 2 sous catégories a et b, correspondant, respectivement, à un $SC > 0,9$ et à un SC compris entre 0,5 et 0,9 (résultat peu significatif) (Tableau 1).

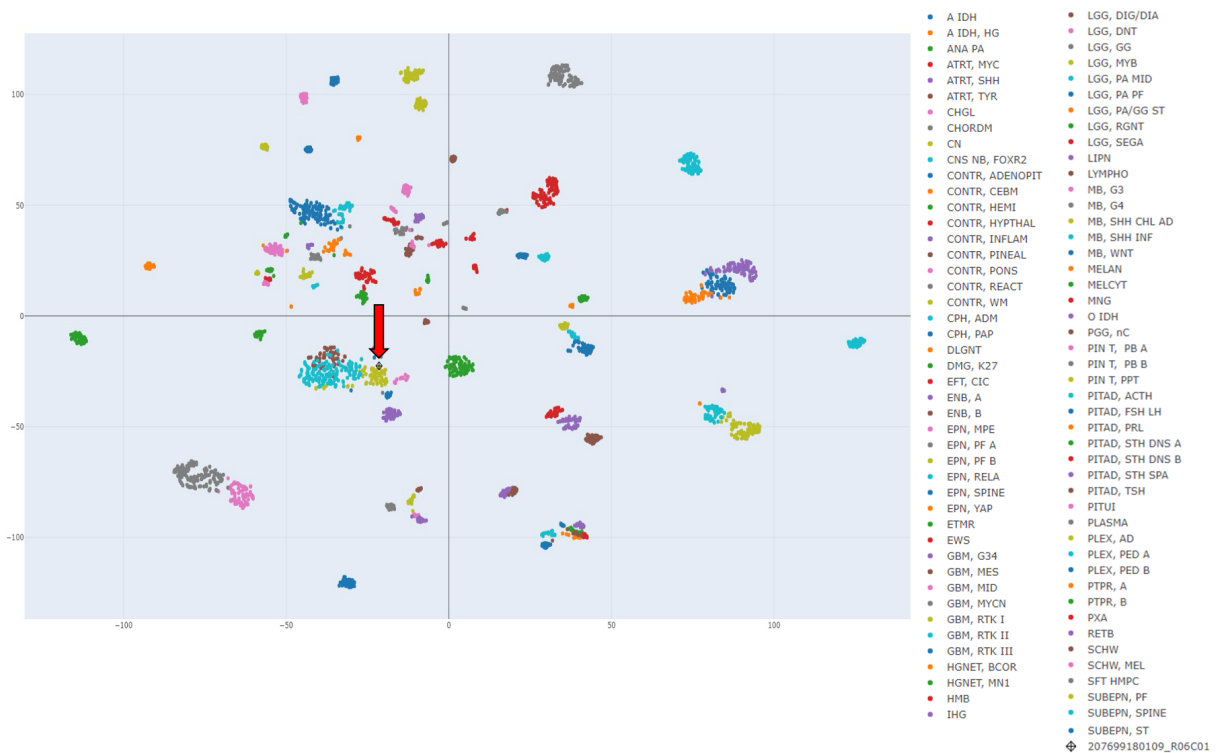
Tous les cas de la catégorie IV ont été réévalués par un neuropathologiste (AR). Les tumeurs ont été classées selon l'OMS 2021 à l'aide d'analyses immunohistochimiques et moléculaires. Pour mieux évaluer les cas discordants, nous avons utilisé des algorithmes de réduction de dimensions, comme le t-SNE (*t-distributed stochastic neighbor embedding*) ou l'UMAP (*Uniform Manifold Approximation and Projection*) qui permettent de définir des groupes homogènes de tumeurs. Ces derniers peuvent être représentés en deux ou trois dimensions comme des nuages de points (ou *clusters*) indépendants. On peut alors visualiser, comme sur une carte de géographie, à quel groupe (ou « pays ») appartient une tumeur d'intérêt (Figure 2). Enfin, pour certains cas de la catégorie IV, un autre *classifieur*, développé récemment par le NIH à Bethesda, USA (<https://ccr.cancer.gov/laboratory-of-pathology>), a été testé afin de comparer les résultats obtenus.

Figure 1: Extrait de l'arborescence diagnostique selon la version 12.8 du *classif*ier de Heidelberg

- Super-famille** Adult-type diffuse gliomas
 - Famille** Glioblastoma, IDH-wildtype
 - Classe** Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK1 type
 - [MC Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK1 subtype](#)
 - Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK2 type
 - [MC Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK2 subtype](#)
 - Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal type
 - [MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype, subclass B \(novel\)](#)
 - [MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype](#)
 - Glioblastoma, IDH-wildtype, with primitive neuronal component
 - [MC Glioblastoma, IDH-wildtype with primitive neuronal component \(novel\)](#)
 - High-grade diffuse glioma of the midline/posterior fossa; H3/IDH-wildtype
 - [MC Glioblastoma, IDH-wildtype, subtype posterior fossa \(novel\)](#)
 - Famille** Diffuse glioma, IDH mutant
 - Classe** Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q co-deleted [oligodendroglial type]
 - [MC Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted](#)
 - [MC Oligosarcoma, IDH-mutant \(novel\)](#)
 - Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type]
 - [MC Astrocytoma, IDH-mutant; lower grade](#)
 - Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type], high grade
 - [MC Astrocytoma, IDH-mutant; high grade](#)

Sont détaillés ici les gliomes diffus de l'adulte avec deux types principaux : les glioblastomes IDH-non mutés, qui se répartissent en différents sous-types (RTK1, RTK2...) et les gliomes IDH-mutés, qui comprennent les astrocytomes de bas grade, les astrocytomes de haut grade et les oligodendrogliomes (avec codélétion 1p/19q). Ces différents types et sous-types tumoraux présentent des profils de méthylation distincts permettant de les classer de manière plus objective que l'analyse histopathologique. Les entités en bleu correspondent aux sous-classes.

Figure 2 : Exemple de représentation par réduction de dimensions (t-SNE)



Visualisation après réduction de dimensions par t-SNE. La réduction de dimensions permet de visualiser, comme sur une carte de géographie, l'appartenance d'une tumeur à un groupe de tumeurs (ou « pays »). Chaque nuage de couleur correspond à un type ou sous-type tumoral, caractérisé par un profil de méthylation distinct. La croix (indiquée par la flèche rouge) correspond à la tumeur étudiée. A droite, figure le code couleur avec le nom des différents types ou sous-types tumoraux présents dans la base de données de Heidelberg. La tumeur étudiée se classe dans le groupe des glioblastomes IDH-non mutés, sous-type RTK1. L'algorithme utilisé ne peut classer correctement la tumeur étudiée que si des tumeurs de même nature (aux profils de méthylation similaires) sont présentes dans la base de données. Si le « pays » est absent de la carte de géographie, la tumeur se placera de façon aberrante dans un autre pays. La liste des abréviations des diagnostics est disponible sur le site du DKFZ (14).

Tableau 1: Définition des différentes catégories

Concordance entre diagnostic intégré et méthylome	I
Concordance diagnostic intégré/méthylome avec précision diagnostique	II
Modification diagnostique classe/sous-classe	III
Modification diagnostique superfamille/famille	IV
Score calibré (SC) < 0,5 ou tissu contrôle	V
Sous-catégorie a si SC > 0,90 ; b si SC entre 0,90 et 0,5	

Un SC > 0,9 indique une forte confiance dans le diagnostic proposé par l'algorithme. Néanmoins, ce diagnostic doit être en accord avec les aspects histopathologiques, les données moléculaires autres et les données clinico-radiologiques. Les propositions diagnostiques avec un SC entre 0,5 et 0,9 sont exploitables (surtout entre 0,7 et 0,9) et peuvent orienter le diagnostic, toujours en conjonction avec les données histomoléculaires et clinico-radiologiques. Les résultats avec un SC inférieur à 0,5 ne sont pas pris en compte.

Analyse des données

Nous avons défini un diagnostic pré-méthylomique à l'aide du diagnostic histopathologique initial et des données de biologie moléculaire (diagnostic histomoléculaire ou « intégré ») selon la classification OMS 2021. Lorsque la tumeur ne correspondait à aucun type tumoral de l'OMS, un diagnostic descriptif a été proposé. Chaque diagnostic pré-méthylomique a ensuite été comparé au diagnostic proposé par l'algorithme de Heidelberg. Lorsque le diagnostic pré-méthylomique était de nature descriptive, sans correspondre à un diagnostic selon l'OMS, seule une super famille lui a été attribuée (ex : gliome diffus de l'adulte ou tumeur gliale/glioneuronale de bas grade).

Les diagnostics pré-méthylomiques et méthylomiques de la cohorte ont été rattachés à leur super famille, famille, classe et sous-classe. A l'aide d'un algorithme maison, nous avons comparé pour chaque cas, les deux diagnostics, niveau par niveau, jusqu'à atteindre la première discordance. Si cette discordance intéressait la super famille ou la famille la tumeur était classée dans la catégorie IV. Si elle intéressait la classe ou la sous classe, la tumeur était classée dans la catégorie III. Si aucune discordance n'était identifiée jusqu'au dernier point de comparaison entre le diagnostic pré-méthylomique et le diagnostic méthylomique, la tumeur

appartenait à la catégorie I. S'il n'y avait aucune discordance mais que le méthylome apportait une précision diagnostique (sous-type tumoral), la tumeur était classée dans la catégorie II. S'il n'y avait aucune discordance et que le méthylome n'apportait pas de précision diagnostique, la tumeur appartenait à la catégorie I.

Concernant le score, comme précédemment mentionné, chaque catégorie a été scindée en deux sous-catégories : a pour les cas avec un SC > 0,9 (score de confiance élevé) et b pour les cas avec un SC entre 0,5 et 0,9 (score peu significatif).

La concordance entre le diagnostic pré-méthylomique et le diagnostic méthylomique a été analysée avec les deux versions les plus récentes du *classifier*, v12.5 et v12.8.

RÉSULTATS

1. Description de la cohorte

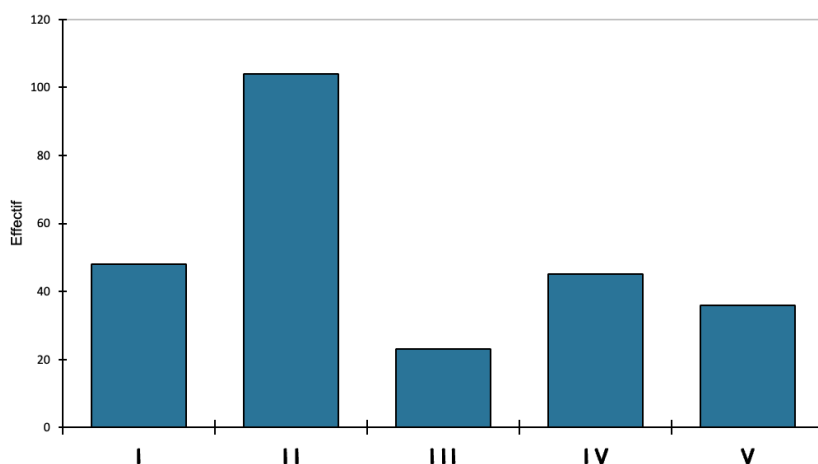
La cohorte comprenait 256 patients dont 134 hommes (134/256, 52%) et 122 femmes (122/256, 48%). Quarante pourcents (102/256) des patients avaient moins de 25 ans (patients d'âge « pédiatrique »). L'âge médian au diagnostic était de 36 ans avec des extrêmes de 1 an et 82 ans. Parmi les 256 cas, 205 (80%) avaient un diagnostic pré-méthylomique correspondant à un type tumoral de l'OMS 2021. Le diagnostic était seulement descriptif pour 51 tumeurs de diagnostic difficile (20%). Dans la cohorte, les tumeurs les plus fréquentes étaient les glioblastomes IDH-non mutés (N=61, 24%), les astrocytomes IDH-mutés (N=16, 6%), les gangliogliomes (N=12, 5%) et les astrocytome pilocytiques (N=11, 4%). Les diagnostics descriptifs les plus fréquents étaient « tumeur gliale/glioneuronale de bas grade » (N=20, 8%) et « gliome diffus de l'adulte » (N=17, 7%).

2. Comparaison entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique selon la version v12.8 du classifieur

Le méthylome a fourni un résultat avec un SC > 0,9 dans 167/256 (66%) cas (Annexe II). Quarante-huit des 256 tumeurs (19%) avaient un diagnostic méthylomique parfaitement concordant avec le diagnostic pré-méthylomique (catégorie I) et 104 (41%) avaient un diagnostic méthylomique concordant mais apportant une précision diagnostique (catégorie II). Au total, dans 60% des cas, les diagnostics pré-méthylomique et méthylomique concordent (catégories I et II). Parmi les cas avec un **score > 0,9, 71% (119/167) avaient un diagnostic concordant** entre les analyses pré-méthylomique et méthylomique (catégories Ia et IIa).

Pour 68 tumeurs (68/256, **26%**), il existait une **discordance** entre les diagnostics pré-méthylomique et méthylomique (catégories III et IV). Vingt-trois cas (23/256, 9%) appartenaient à la catégorie III (discordance mineure) et 45 (45/256, 17%) à la catégorie IV (discordance majeure). Trente-six cas (36/256, 14%) étaient classés dans la catégorie V (résultat non contributif) (Figure 3).

Figure 3 : Distribution de la cohorte en fonction des catégories



Histogramme montrant la répartition des cas en fonction des catégories I à V. Dans 41% des cas, le diagnostic méthylomique était concordant avec le diagnostic pré-méthylomique mais apportait une précision diagnostique (catégorie II, la plus représentée de la cohorte). Le méthylome permettait de confirmer et affiner le diagnostic.

2.1. Description des catégories I et II (diagnostics concordants)

Quarante-huit tumeurs (48/256, 19%) appartenaient à la catégorie I dont 33 (33/48, 69%) avec un SC > 0,9 (sous-catégorie Ia) et 15 (15/47, 32%) avec un SC compris entre 0,5 et 0,9 (sous-catégorie Ib).

Cent quatre tumeurs (41%) appartenaient à la catégorie II dont 86 (86/104, 83%) avec un SC > 0,9 (sous-catégorie IIa) et 18 (18/104, 17%) avec un SC compris entre 0,5 et 0,9 (sous-catégorie IIb).

Au total, **dans 46,5% des cas** (119/256 cas), le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique étaient **concordants avec un SC élevé, > 0,9** (catégories Ia et IIa) (Figure 4). (Annexe III)

Figure 4 : Correspondance entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique pour les catégories Ia et IIa

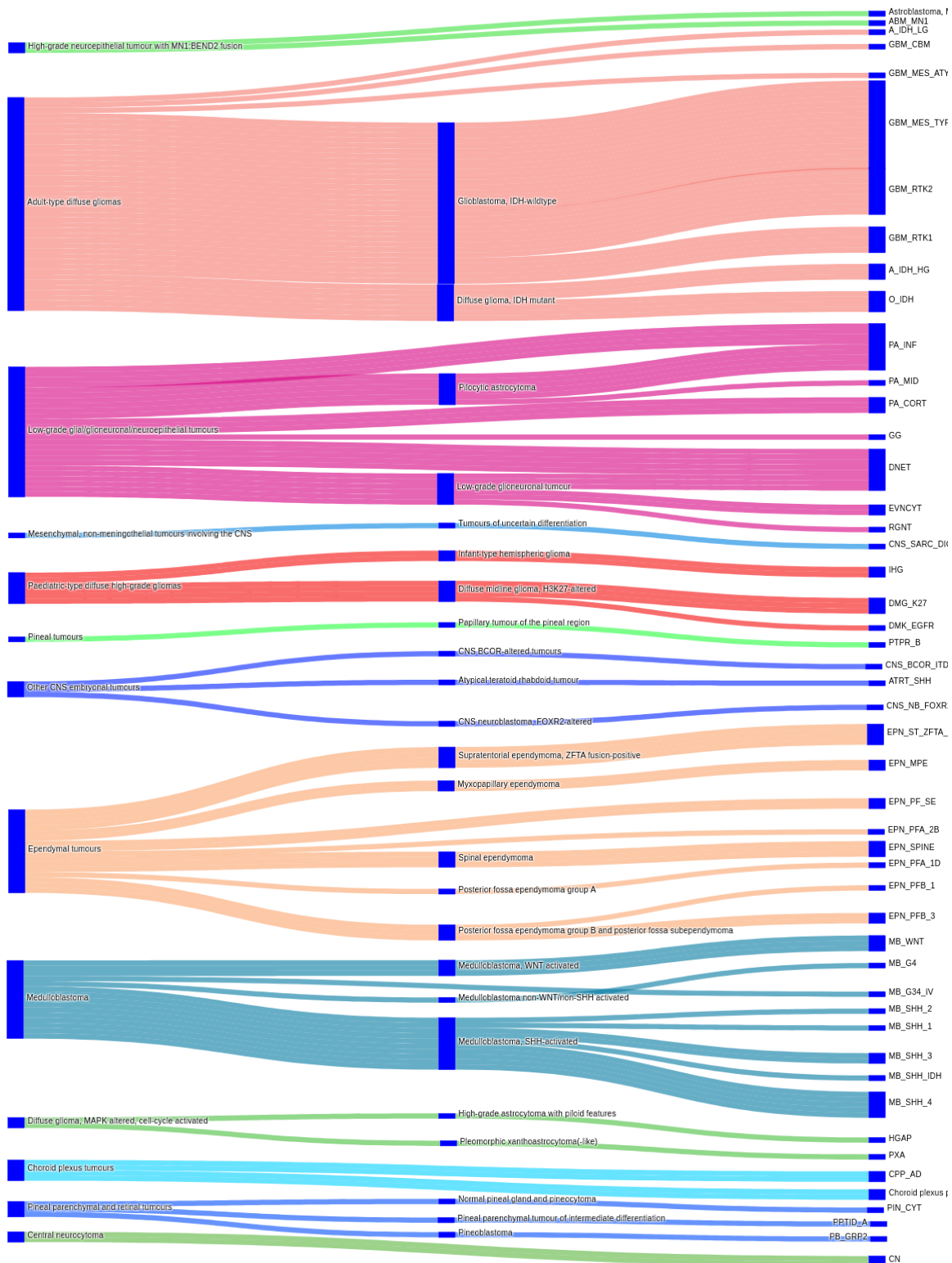


Diagramme de Sankey montrant la redistribution des diagnostics en fonction des résultats du méthylome. La colonne de gauche correspond au diagnostic pré-méthylomique en termes de super famille et la colonne du milieu correspond au diagnostic pré-méthylomique en termes de famille. La colonne de droite correspond au diagnostic méthylomique. Liste des abréviations des diagnostics sur le site du DKFZ (14).

Gliomes diffus de l'adulte

Parmi les 152 cas des catégories I et II, 51 avaient un diagnostic histomoléculaire initial de gliome diffus de l'adulte.

Concernant les cas avec un score calibré > 0,9 : Trente-huit cas de gliomes diffus de l'adulte (38/51, 74,5%) avaient un SC > 0,9, dont 30 GB IDH-non mutés. Sur ces 30 tumeurs, 17 ont été classées par le méthylome en GB IDH-non mutés de sous-type mésenchymateux, quatre en sous-type RTK1 et 7 en sous-type RTK2 (précision diagnostique, catégorie II). Ce sous-typage, possible que par le méthylome, peut apporter des informations pronostiques (sans implication thérapeutique).

Parmi les huit cas restants, un a été classé par le méthylome en GB IDH-non muté de sous-type mésenchymateux. Une fusion *FGFR3::SH3GLB1* a été mise en évidence par RNAseq ; le diagnostic final retenu a été celui de GB IDH-non muté avec fusion *FGFR3* (équivalente à une fusion *FGFR3::TACC3*). Quatre cas ont été classés en oligodendrogliomes IDH-mutés 1p/19q-codélétés et 3 cas en astrocytomes IDH-mutés de haut grade (grade 4 selon le DKFZ).

Concernant les cas avec un score calibré entre 0,5 et 0,9 : Treize cas de la cohorte se classaient dans la super famille des gliomes diffus de l'adulte, dont 7 avec un SC compris entre 0,70 et 0,90. Même si ce score est inférieur au seuil utilisé en méthylome, les résultats obtenus sont exploitables et peuvent contribuer à orienter le diagnostic final. En dessous de 0,7, les résultats du méthylome sont rarement pris en considération.

Parmi les 7 cas avec un SC entre 0,70 et 0,90, trois ont été classés par le méthylome en GB IDH-non mutés de sous-type mésenchymateux (catégorie II). Deux tumeurs ont été classées en GB IDH-non mutés de sous-type RTK1, une en GB IDH-non muté de sous-type RTK2 (catégorie II) et une autre dans la famille des gliomes diffus de la ligne médiane/fosse postérieure H3-/IDH-non mutés (classe des GB IDH-non mutés de sous-type fosse postérieure (nouveau sous-type)).

Médulloblastomes

Parmi les 152 cas des catégories I et II, 11 avaient un diagnostic histomoléculaire initial de médulloblastomes.

Concernant les cas avec un score calibré > 0,9 : Neuf cas appartenait à la famille des médulloblastomes SHH-activés et un à la famille des médulloblastomes non-WNT non-SHH. Dans 5 cas, le méthylome a précisé le diagnostic en classant la tumeur en médulloblastome SHH-activé de sous-type 1, 2, 3 ou 4 (catégorie II).

Concernant les cas avec un score calibré entre 0,5 et 0,9 : Un cas a été classé en médulloblastome SHH-activé (catégorie I) avec un SC à 0,59. Le diagnostic final retenu, sur la base des données histopathologiques et moléculaires, a été celui de médulloblastome nodulaire/desmoplasique SHH-activé *TP53*-non muté.

Diagnostics pré-méthylomiques descriptifs

Parmi les 22 tumeurs avec un diagnostic pré-méthylomique descriptif, 21 ont été classées par le méthylome (précision diagnostique, catégorie II) dont 17 avec un SC > 0,9 et 4 avec un SC < 0,9 (Tableau S2). Une tumeur a été classée dans la catégorie I avec un SC < 0,9. Il s'agissait d'un épendymome spinal en pré-méthylomique que le méthylome a également classé en épendymome spinal mais avec un SC à 0,58 (cas n°204).

2.2. Description de la catégorie III (changement de classe/sous-classe)

Vingt-trois des 256 tumeurs (**9%**) présentaient un diagnostic méthylomique partiellement discordant (changement de classe/sous-classe) dont **16 (16/23, 70%) avec un SC > 0,9** (sous-groupe IIIa) et 7 (7/23, 30%) avec un SC compris entre 0,5 et 0,9 (sous-groupe IIIb). Trois de ces sept cas avaient un SC entre 0,7 et 0,9 (Tableau 2).

Tableau 2 : Cas de la catégorie III

Cas	Sexe	Age	diagnostic intégré pré-méthylome	Méthylome V12.8	Score	C	Diagnostic final retenu
13	H	62	astrocytome IDHm grade 3	Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type]	0.99	3a	astrocytome IDHm de grade 3
51	F	76	épendymome de la fosse postérieure groupe B	Posterior fossa subependymoma	0.99	3a	épendymome fosse postérieure de sous type B
98	H	17	gangliogliome	Supratentorial pilocytic astrocytoma	0.99	3a	gangliogliome
109	H	50	astrocytome IDHm grade 3	Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type]	0.99	3a	astrocytome IDHm de grade 3
132	H	65	épendymome de la fosse postérieure groupe B	Posterior fossa subependymoma	0.99	3a	épendymome fosse postérieure de sous type B
139	H	13	gangliogliome	Supratentorial pilocytic astrocytoma	0.99	3a	gangliogliome
152	F	29	astrocytome IDHm grade 3	Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type]	0.99	3a	astrocytome IDHm de grade 3
156	F	50	astrocytome IDHm grade 3	Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type]	0.99	3a	astrocytome IDHm de grade 3
194	H	14	gangliogliome avec mutation BRAFV600E	Supratentorial pilocytic astrocytoma	0.99	3a	gangliogliome
225	H	30	astrocytome IDHm grade 3	Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type]	0.99	3a	astrocytome IDHm de grade 3
3	H	35	astrocytome IDHm grade 3	Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type]	0.98	3a	astrocytome IDHm de grade 3
248	F	36	astrocytome IDHm grade 3	Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type]	0.98	3a	astrocytome IDHm de grade 3
15	H	74	astrocytome IDHm grade 3	MC Oligosarcoma, IDH-mutant (novel)	0.96	3a	astrocytome IDHm de grade 3
133	F	18	gangliogliome	Supratentorial pilocytic astrocytoma	0.96	3a	gangliogliome
218	H	13	gangliogliome	Supratentorial pilocytic astrocytoma	0.94	3a	gangliogliome
235	F	9	tumeur glioneuronale myxoïde	Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	0.94	3a	DNET
72	F	46	astrocytome IDHm grade 3	Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type]	0.84	3b	astrocytome IDHm de grade 3
97	H	21	astrocytome IDHm grade 3	MC Astrocytoma, IDH-mutant; lower grade	0.78	3b	astrocytome IDHm de grade 3
22	F	5	gangliome anaplasique	Desmoplastic infantile ganglioglioma/astrocytoma	0.77	3b	gangliogliome anaplasique
95	H	39	DNET	Myxoid glioneuronal tumour, PDGFRA-mutant	0.68	3b	DNET
153	F	47	astrocytome IDHm grade 4	MC Astrocytoma, IDH-mutant; lower grade	0.61	3b	astrocytome IDHm de grade 4
129	F	11	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, hemispheric	0.60	3b	gangliogliome
141	H	47	DGONC	MC Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	0.54	3b	DNET

C : catégorie, DNET : *dysembryoplastic neuroepithelial tumour* (tumeur neuroépithéliale dysembryoplasique), MC : *methylation class* (terminologie utilisée par le DFKZ pour désigner la sous classe). DGONC : *Diffuse glioneuronal tumor with oligodendroglioma-like features and nuclear clusters* (tumeur glioneuronale diffuse avec caractéristiques de type oligodendrogliome et *clusters* de noyaux).

Gliomes diffus de l'adulte

Parmi les 23 tumeurs de la catégorie III, 11 avaient un diagnostic histomoléculaire initial de gliome diffus de l'adulte (Figure 5).

Concernant les cas avec un score calibré > 0,9 : Huit cas avaient un SC > 0,9 (8/23, 35%) et avaient un diagnostic pré-méthylomique d'astrocytome IDH-muté de grade 3 selon l'OMS. Sept de ces tumeurs ont été reclassées par le méthylome en astrocytomes IDH-mutés de bas grade. Un cas a été reclassé en oligosarcome IDH-muté. A noter que dans la classification proposée par Heidelberg les astrocytomes IDH-mutés de bas grade comprennent les astrocytomes de grade 2 et 3 alors que l'OMS classe les astrocytomes de grade 3 en tumeurs de haut grade. Selon le *classifier* de Heidelberg, seuls les gliomes de grade 4 sont des tumeurs de haut grade. Ces 7 cas ne correspondent donc pas à de vraies discordances mais à une différence entre les classifications de l'OMS et de Heidelberg.

Concernant les cas avec un score calibré entre 0,5 et 0,9 : Trois cas de la cohorte avaient un diagnostic histomoléculaire initial de gliome diffus de l'adulte. Deux des trois cas avaient en méthylome un SC entre 0,7 et 0,9. Il s'agissait de deux astrocytomes IDH-mutés de grade 3 que le méthylome classait en astrocytomes IDH-mutés de bas grade. Le troisième cas (SC entre 0,5 et 0,7) était classé en astrocytome IDH-muté de grade 4 en préméthylomique et classé par le méthylome en astrocytome IDH-muté de bas grade mais avec un SC à 0,61 (cas n°153). Le diagnostic final retenu a été celui d'astrocytome IDH-muté de grade 4 (haut grade ; présence de nécrose et d'une prolifération endothéliocapillaire).

Figure 5 : Correspondance entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique des gliomes diffus de l'adulte de la catégorie IIIa

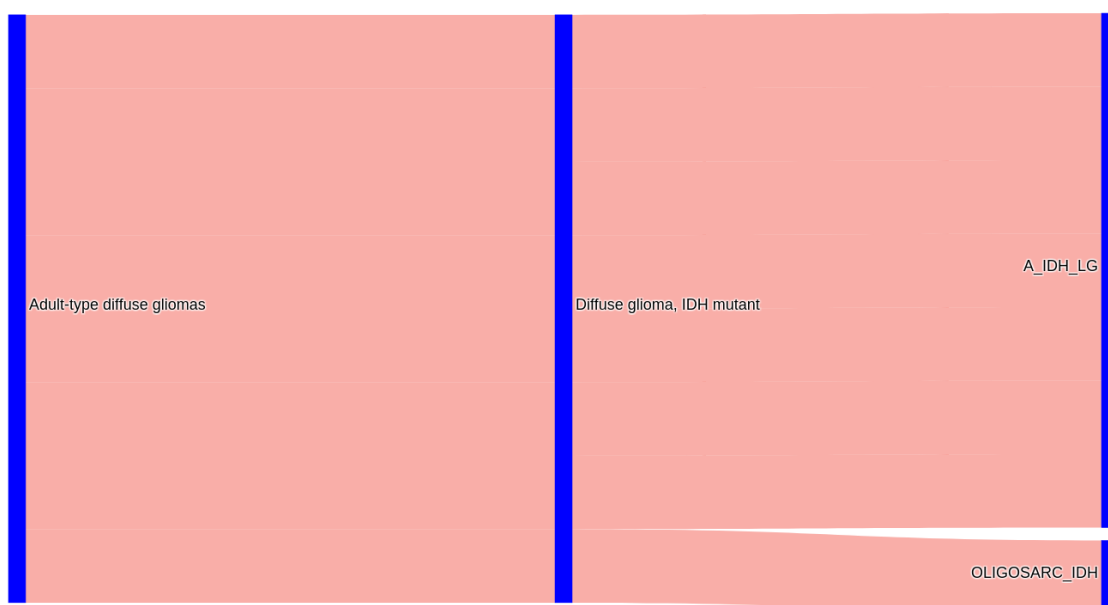


Diagramme de Sankey montrant la redistribution des diagnostics en fonction des résultats du méthylome. La colonne de gauche correspond au diagnostic pré-méthylomique en termes de super famille et la colonne du milieu correspond au diagnostic pré-méthylomique en termes de famille. La colonne de droite correspond au diagnostic méthylomique. A_IDH_LG : astrocytome IDH-muté de bas grade, oligosarc_IDH : oligosarcome IDH-muté.

Tumeurs gliales/glioneurales de bas grade

Parmi les 23 tumeurs de la catégorie III, 10 avaient un diagnostic histomoléculaire initial de tumeur gliale/glioneuronale de bas grade (Figure 6).

Concernant les cas avec un score calibré > 0,9 : Six des 23 cas avaient un SC > 0,9 (6/23, 26%). Cinq cas avaient un diagnostic pré-méthylomique de gangliogliome (grade 1 de l'OMS). Tous ces cas ont été reclassés en astrocytome pilocytique supratentoriel (grade 1). A noter que la classe de méthylation « astrocytome pilocytique supratentoriel » du DKFZ comprend aussi des gangliogliomes. Ces cinq cas ne sont donc pas de réelles discordances. Un cas correspondant à une tumeur glioneuronale myxoïde avec mutation de *PDGFRA* en préméthylomique a été classé par le méthylome en tumeur neuroépithéliale dysembryoplasique (DNET, grade 1).

Concernant les cas avec un score calibré entre 0,5 et 0,9 : Quatre cas de la cohorte avaient un diagnostic intégré de tumeurs gliales/glioneurales de bas grade avec un SC entre 0,5 et 0,9, dont un avec un SC > 0,7. Ce cas pour lequel a été proposé le diagnostic de gangliogliome anaplasique a été reclassé par le méthylome en gangliogliome desmoplasique infantile (cas n°22).

Parmi les 3 autres cas, un cas (n°95) avec un diagnostic pré-méthylomique de DNET a été classé par le méthylome en tumeur glioneuronale myxoïde avec mutation de *PDGFRA* avec un SC à 0,68. Ce cas ne présentait pas, en NGS, de mutation de *PDGFRA* mais une mutation de *FGFR1*, altération classique des DNET. Un diagnostic final de DNET a donc été retenu. Les deux autres cas avaient un SC < 0,6 (Tableau 2).

Tumeurs épendymaires

Parmi les 23 tumeurs de la catégorie III, deux avaient un diagnostic intégré de tumeurs épendymaires, toutes deux avec un SC > 0,9 en méthylome. Il s'agissait d'épendymomes de la fosse postérieure du groupe B (PFB pour *posterior fossa ependymoma*) en préméthylomique, classés par le méthylome en subépendymomes de la fosse postérieure. A noter que cette dernière classe de méthylation, selon le DKFZ, comprend aussi des épendymomes de type PFB. Ces deux cas ne sont donc pas discordants.

Figure 6 : Correspondance entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique des tumeurs gliales/glioneurales de bas grade et des tumeurs épendymaires de la catégorie IIIa



Diagramme de Sankey montrant la redistribution des diagnostics en fonction des résultats du méthylome. La colonne de gauche correspond au diagnostic pré-méthylomique en termes de super famille et la colonne du milieu correspond au diagnostic pré-méthylomique en termes de famille. La colonne de droite correspond au diagnostic méthylomique. EPN_PF_SE : épendymome de la fosse postérieure/subépendymome, PA_CORT : astrocytome pilocytique supratentoriel (cortical).

2.3 Description de la catégorie IV (changement de super famille/famille)

Quarante-cinq tumeurs (45/256, **17%**) appartenait à la catégorie IV (discordance diagnostique majeure), **dont 32 (32/45, 71%) avec un SC > 0,9** (sous-catégorie IVa) et 13 (13/45, 29%) avec un SC entre 0,5 et 0,9 (sous-catégorie IVb).

Trente tumeurs ont été reclassées dans une super famille différente de celle correspondant au diagnostic pré-méthylomique et 15 ont été classées dans la même super famille, mais dans une famille différente.

Gliomes diffus de l'adulte

Parmi les 45 cas de la catégories IV, 15 avaient un diagnostic histomoléculaire initial de gliome diffus de l'adulte (Tableau 3 et Figure 7).

Concernant les cas avec un score calibré > 0,9 : Parmi ces 10 cas avec un SC > 0,9 (10/15, 67%), deux ont été classés dans la même super famille mais en « tumeur neuroépithéliale diffuse de haut grade, de type adulte ». Cette famille, très générique, est composée de gliomes diffus IDH- et H3-non mutés et correspond à une classe de méthylation provisoire encore mal définie. Il ne s'agit donc pas d'une réelle discordance mais plutôt d'une précision diagnostique. En effet ce type tumoral, non reconnu par l'OMS 2021, ne peut être diagnostiqué sans le méthylome et n'a pas pour l'instant de valeur pronostique.

Huit cas de gliome diffus de l'adulte ont été classés par le méthylome dans une autre super famille. Parmi ces cas, 3 ont été classés dans la super famille des gliomes diffus de haut grade de type pédiatrique. Les patients étaient âgés de 9 ans, 26 ans et 39 ans (médiane de 26 ans). Parmi les 5 autres cas, un a été classé par le méthylome en « tumeur neuroépithéliale de haut grade avec fusion *MN1::BEND2* ». Une fusion *MN1::BEND2* a été mise en évidence par RNAseq et le diagnostic final retenu a été celui d'astroblastome *MN1*-fusionné (sous classe de la famille « tumeur neuroépithéliale de haut grade avec fusion *MN1::BEND2* »). Une tumeur a été classée en « sarcome MPNST-like » (MPNST pour *malignant peripheral nerve sheath tumor*), une en « tumeur du SNC avec fusion *EP300::BCOR(L1)* » (cas n°40, non résolu), et une en « tumeur gliale/glioneuronale de bas grade » (cas n°119, non résolu). A l'exception des deux cas non résolus, le diagnostic méthylomique a prévalu sur le diagnostic histopathologique initial pour ces huit cas (Tableau 3). De plus, une tumeur classée en GB IDH-non muté en pré-méthylomique (cas n°237) a été reclassée en xanthoastrocytome pléomorphe par le méthylome. Une mutation *BRAF-V600E* et une délétion homozygote des gènes *CDKN2A/B* ont été mises en évidence par NGS. Le diagnostic méthylomique a donc prévalu.

Concernant les cas avec un score calibré entre 0,5 et 0,9 : Cinq cas de gliomes diffus de l'adulte, dont trois avec un SC entre 0,7 et 0,9, ont été classés dans une autre super famille (Tableau 3). Parmi ces cas, 4 ont été classés dans la super famille des gliomes diffus de haut grade de type pédiatrique. Les patients étaient âgés de 14 à 82 ans avec une médiane de 73 ans. Un cas a été classé par le méthylome en « astrocytome de haut grade avec aspects

piloïdes » (cas n°180). Le diagnostic méthylomique a prévalu dans tous les cas sauf le cas n°11, où du fait d'un SC faible (à 0,63) et d'une délétion homozygote des gènes *CDKN2A/B* et *PTEN*, un diagnostic final de GB IDH-non muté a été retenu.

Tableau 3 : Gliome diffus de type adulte de la catégorie IV

Cas	Sexe	Age	Diagnostic intégré pré-méthylome	Méthylome V12.8	Score	C	Diagnostic final retenu	
2	H	26	tumeur gliale de haut grade	MC Diffuse paediatric-type high grade glioma, H3 wildtype	0.99	4a	Gliome diffus de haut grade de type pédiatrique	en faveur méthylome
18	F	64	tumeur gliale de haut grade	High-grade neuroepithelial tumour with MN1:BEND2 fusion	0.99	4a	MC Astroblastoma, MN1-altered, MN1:BEND2-fused	en faveur méthylome
40	F	40	glioblastome	CNS tumour with EP300:BCOR(L1) fusion	0.99	4a		cas non résolu
130	H	18	glioblastome	Diffuse high-grade neuroepithelial tumour [adult-type, C]	0.99	4a	Glioblastome	non discordant
28	F	45	tumeur gliale de haut grade	Malignant peripheral nerve sheath tumour [spinal or atyp]	0.96	4a	Sarcome MPNST like	en faveur méthylome
62	H	39	glioblastome	Diffuse paediatric-type high grade glioma, RTK1 subtype	0.94	4a	Gliome diffus de haut grade de type pédiatrique de sous type RTK1	en faveur méthylome
174	H	9	glioblastome	MC Diffuse paediatric-type high grade glioma, RTK2 subt	0.94	4a	MC Diffuse paediatric-type high grade glioma, RTK2 subtype	en faveur méthylome
119	F	38	tumeur gliale de haut grade	Low-grade glial/glioneuronal/neuroepithelial tumours	0.92	4a		cas non résolu
237	H	23	glioblastome	Pleomorphic xanthoastrocytoma(-like)	0.92	4a	Xanthoastrocytome pleomorphe grade 3 BRAFm	en faveur méthylome
171	H	43	glioblastome	Diffuse high-grade neuroepithelial tumour [adult-type, D]	0.90	4a	Glioblastome	non discordant
211	F	75	tumeur gliale diffus de haut grade	Diffuse paediatric-type high grade glioma, MYCN subtype	0.83	4b	Gliome diffus de haut grade de type pédiatrique de sous type MYCN	en faveur méthylome
180	H	75	tumeur gliale diffus de haut grade	High-grade astrocytoma with piloid features	0.73	4b	Astrocytome de haut grade avec aspects piloïdes	en faveur méthylome
19	H	71	tumeur gliale de haut grade	MC Diffuse paediatric-type high grade glioma, RTK1 subt	0.72	4b	Gliome diffus de type pédiatrique H3wildtype et IDHwildtype	en faveur méthylome
11	F	82	glioblastome	Diffuse paediatric-type high grade glioma, RTK1 subtype	0.63	4b	Glioblastome	en faveur du DI
21	H	14	tumeur gliale de haut grade	Diffuse paediatric-type high grade glioma, RTK1 subtype	0.56	4b	Gliome diffus de type pédiatrique H3wildtype et IDHwildtype	en faveur méthylome

En vert : diagnostic retenu en faveur du méthylome. En jaune : cas considéré comme non discordant. En rouge : cas non résolu. En violet : diagnostic en faveur du diagnostic intégré (DI). C : catégorie, MC : *methylation class* (terminologie utilisée par le DFKZ pour désigner la sous classe).

Figure 7 : Correspondance entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique des gliomes diffus de l'adulte de la catégorie IVa

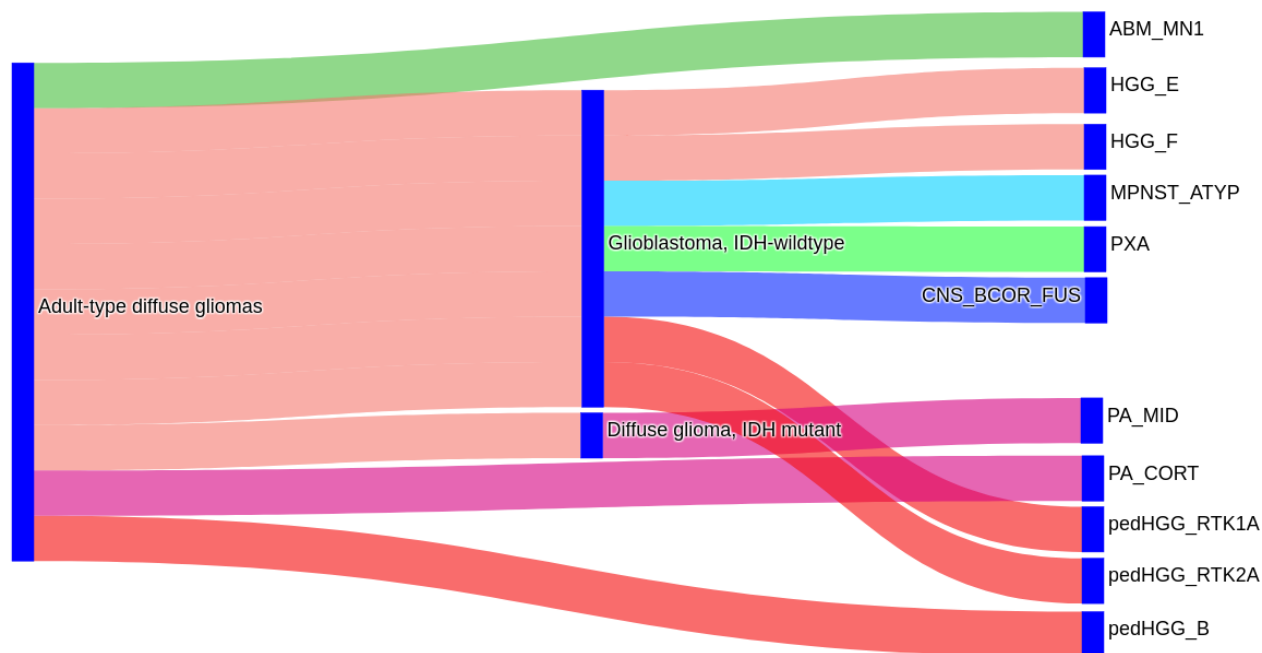


Diagramme de Sankey montrant la redistribution des diagnostics en fonction des résultats du méthylome. La colonne de gauche correspond au diagnostic pré-méthylomique en termes de super famille et la colonne du milieu correspond au diagnostic pré-méthylomique en termes de famille. La colonne de droite correspond au diagnostic méthylomique. Liste des abréviations des diagnostics sur le site du DKFZ (14).

Tumeurs gliales/glioneuronales de bas grade

Parmi les 45 cas de la catégorie IV, 12 avaient un diagnostic histomoléculaire initial de tumeur gliale/glioneuronale de bas grade. Le méthylome a proposé la même super famille pour chaque tumeur mais une famille, classe et sous classe différente (Tableau 4 et Figure 8).

Concernant les cas avec un score calibré > 0,9 : Parmi ces 10 cas avec un SC > 0,9 (10/12, 83%), quatre ont été classés en gangliogliome en préméthylomique et en astrocytome pilocytique infratentorial par le méthylome. Le DKFZ ne précise pas si cette classe de méthylation peut contenir des gangliogliomes (comme c'est le cas pour les astrocytomes pilocytiques supratentoriels). Ces cas ont été classés comme discordants, car pour chaque tumeur, un authentique contingent tumoral ganglionnaire a été mis en évidence en microscopie (et confirmé en immunohistochimie) par le neuropathologiste.

Parmi les 6 cas restants, un cas a été reclassé par le méthylome en « astrocytome de haut grade avec aspects piloïdes », un en GB IDH-non muté de sous-type mésenchymateux

(cas n°55, non résolu), trois en astrocytomes pilocytiques (cas n°138, 134 et 92) et enfin, un en tumeur neuroépithéliale avec fusion *PATZ1* (cas n°163). Ce dernier type tumoral ne peut être diagnostiqué que par le méthylome (ou via un RNAseq ciblant *PATZ1*). De même, le diagnostic d'astrocytome de haut grade avec aspects piloïdes repose sur le méthylome (critère diagnostique essentiel de l'OMS 2021).

Un des cas reclassés en astrocytome pilocytique (cas n°138, SC à 0,98) avait un diagnostic histomoléculaire initial de tumeur glioneuronale leptoméningée diffuse. Ce cas est non résolu car il présente une codélétion 1p/19q (sans mutation *IDH1/2*), incompatible avec un diagnostic d'astrocytome pilocytique mais tout à fait en accord avec celui de tumeur glioneuronale leptoméningée diffuse, qui présente par définition une perte du 1p ou une codélétion 1p/19q (identique à celle observée dans les oligodendrogliomes IDH-mutés). Pour le cas n°134, le diagnostic histomoléculaire initial de tumeur glioneuronale à rosettes a prévalu sur le diagnostic méthylomique d'astrocytome pilocytique car la tumeur présentait la triade classique de mutations *FGFR1*, *PIK3CA* et *NF1* des tumeurs glioneuronales à rosettes (Tableau 4).

Concernant les cas avec un score calibré entre 0,5 et 0,9 : Parmi ces 2 cas, un avait un SC entre 0,7 et 0,9. Pour ce cas, le diagnostic histomoléculaire initial de tumeur glioneuronale leptoméningée diffuse a été retenu plutôt que le diagnostic méthylomique d'astrocytome pilocytique (cas n°54) car la tumeur présentait une perte du 1p (voir paragraphe précédent) (Tableau 4).

Tableau 4 : Tumeurs gliales/glioneuronales de bas grade de la catégorie IV

Cas	Sexe	Age	Diagnostic intégré pré-méthylome	Méthylome V12.8	Score	C	Diagnostic final retenu	
44	H	22	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	4a	Gangliogliome	en faveur du DI
114	H	5	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	4a	Gangliogliome	en faveur du DI
140	H	11	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	4a	Gangliogliome	en faveur du DI
163	H	48	xanthoastrocytome pleomorphe	Neuroepithelial tumour with PATZ1 fusion	0.99	4a	Tumeur neuroépithéliale avec fusion PATZ1	en faveur méthylome
131	F	5	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.98	4a	Gangliogliome	en faveur du DI
138	H	25	tumeur glioneuronale leptoméningée diffuse	Supratentorial pilocytic astrocytoma	0.98	4a		cas non résolu
212	F	57	xanthoastrocytome pleomorphe	High-grade astrocytoma with piloid features	0.98	4a	Astrocytome de haut grade avec aspect piloides	en faveur méthylome
92	F	82	xanthoastrocytome pleomorphe	Supratentorial pilocytic astrocytoma	0.97	4a	Astrocytome pilocytique	en faveur méthylome
55	H	26	xanthoastrocytome pleomorphe	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.92	4a		cas non résolu
134	H	58	tumeur glioneuronale à rosette	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.92	4a	Tumeur glioneuronale à rosette	en faveur du DI
54	H	40	tumeur glioneuronale leptoméningée diffuse	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.71	4b	Tumeur glioneuronale leptoméningée diffuse	en faveur du DI
7	H	46	xanthoastrocytome pleomorphe	High-grade astrocytoma with piloid features	0.57	4b	Xanthoastrocytome pleomorphe anaplasique	en faveur du DI

En rouge : cas non résolu. En vert : diagnostic final retenu en faveur du diagnostic méthylomique (SC > 0,9). Bleu : cas avec un diagnostic méthylomique réellement discordant mais pour lesquels le diagnostic intégré initial (DI) a prévalu. C : catégorie, MC : *methylation class* (terminologie utilisée par le DFKZ pour désigner la sous classe).

Figure 8 : Correspondance entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique des tumeurs gliales/glioneurales de bas grade de la catégorie IVa

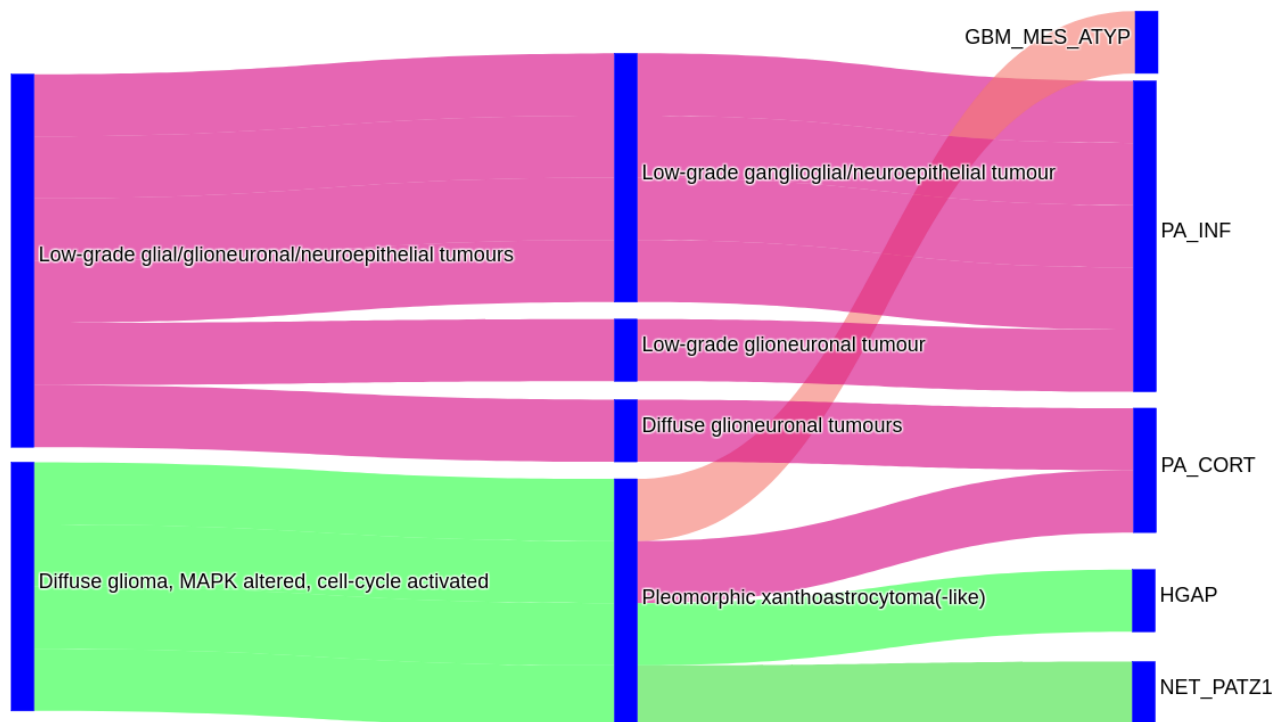


Diagramme de Sankey montrant la redistribution des diagnostics en fonction des résultats du méthylome. La colonne de gauche correspond au diagnostic pré-méthylomique en termes de super famille et la colonne du milieu correspond au diagnostic pré-méthylomique en termes de famille. La colonne de droite correspond au diagnostic méthylomique. GBM_MES_ATYP : glioblastome IDH-non muté de sous-type mésenchymateux, PA_INF : astrocytome pilocytique infratentorial, PA_CORT : astrocytome pilocytique supratentorial (cortical), HGAP : astrocytome de haut grade avec aspects piloïdes, NET_PATZ1 : tumeur neuroépithéliale *PATZ1*-fusionnée.

Autres super familles

Une tumeur diagnostiquée comme étant un méningiome anaplasique (grade 3 de l'OMS) en pré-méthylomique a été classée en tumeur neuroépithéliale avec duplication en tandem de *BCOR* avec un SC à 0,99 (cas n°1, Tableau 5). La recherche de duplication en tandem du gène *BCOR* montrait une duplication avec une fréquence allélique de 85%. Une tumeur classée en tumeur épendymaire de type PFB de grade 2 en pré-méthylomique a été reclassée en schwannome *VGL*-fusionné avec un SC à 0,99 (Cas n°221, Tableau 5). Après immunohistochimie complémentaire, le diagnostic final retenu a été celui de schwannome (grade 1 de l'OMS).

Description détaillée de la catégorie IVa (changement de super famille/famille)

Sur les 32 cas de la catégorie IVa (Tableau 5), nous avons considéré comme non discordants les cas classés par le méthylome en « tumeur neuroépithéliale diffuse de haut grade de type adulte, sous-type C » (classe de méthylation provisoire, voir plus haut ; cas n°130 et 171).

Un cas de tumeur sellaire primitive de l'adulte INI1-déficiente (cas n°208) a été classé par le méthylome en tumeur rhabdoïde térétoïde atypique (ATRT) MYC-activée. Il est admis que cette entité de la région sellaire se classe en méthylome dans les ATRT MYC-activées (15). Ce cas n'a donc pas été considéré comme une véritable discordance.

Après relecture des diagnostics histomoléculaires, d'autres cas n'ont pas été considérés comme discordants car le diagnostic faisait partie des 2 hypothèses diagnostiques de départ dans les cas difficiles. Parmi ces cas, il y avait une tumeur classée comme tumeur à différenciation incertaine (cas n°117) avec une immunohistochimie évoquant un hémangioblastome, confirmé par le méthylome. Un cas diagnostiqué comme épendymome spinal (cas n°157) en préméthylomique a été classé par le méthylome en épendymome myxopapillaire. Or, la classe de méthylation « épendymome myxopapillaire » comprend quelques épendymomes spinaux (à l'image des gangliogliomes qui se classent dans les astrocytomes pilocytiques supratentoriels). La distinction entre ces deux types tumoraux est parfois difficile mais notre cas ne présentait pas de structure papillaire ni de remaniements mucoïdes. Un cas classé en épendymome de la fosse postérieure de groupe B (cas n°252) a été classé par le méthylome en épendymome spinal. A l'IRM, la lésion se trouvait au niveau de l'obex, à la partie toute initiale de la moelle. Ce cas n'a pas été classé comme discordant.

De plus, quatre cas ont été classés par le méthylome dans la super famille des gliomes diffus de haut grade de type pédiatrique. Ces cas n'avaient pas les altérations spécifiques de certains gliomes malins pédiatriques telles qu'une mutation des histones H3K27M ou H3G34R/V. Le diagnostic précis de ces tumeurs nécessitait un méthylome.

Au total, il existait donc **26 cas (26/256, 10%) réellement discordants** dans la cohorte totale avec un SC > 0,9. Tous les cas ont été réanalysés hormis les quatre cas de gliome diffus de haut grade de type pédiatrique (Tableau 5). Certaines tumeurs ont fait l'objet d'analyses moléculaires complémentaires en fonction de l'orientation diagnostique donnée par le méthylome.

Dans 2 cas discordants (2/26, 8%), le méthylome a proposé un diagnostic avec un grade OMS différent de celui proposé lors du diagnostic initial. Nous avons proposé le

diagnostic d'épendymome remanié de grade 2 de l'OMS de type PFB avec un profil moléculaire compatible avec ce diagnostic (perte du chromosome 22q) (cas n°221). Le méthylome a proposé le diagnostic de schwannome (également caractérisé par une perte du 22q). Après relecture des lames et réalisation d'une étude immunohistochimique complémentaire, nous avons reclassé le cas en schwannome, grade 1 de l'OMS. Nous avons ici un changement de type tumoral et un changement de grade. Concernant le deuxième cas, nous avons proposé le diagnostic de glioblastome IDH-non muté (grade 4) (cas n°237). Le méthylome a proposé le diagnostic de xanthoastrocytome pléomorphe. Le diagnostic final retenu a été celui de xanthoastrocytome pléomorphe de grade 3 avec mutation *BRAF-V600E*.

Dix cas ont été soumis au *classifier* du NIH afin de confronter les résultats. Dans 9 de ces cas, les deux *classifiers* étaient en accord et dans un cas (cas n°55), en désaccord. Le *classifier* de Heidelberg (v12.8) proposait, pour ce cas, le diagnostic de GB IDH-non muté avec un score à 0,92 tandis que le *classifier* de Bethesda proposait le diagnostic de xanthoastrocytome pléomorphe avec un score à 0,99. Ce cas fait partie des cas non résolus (voir ci-dessous).

Tableau 5 : Cas classés dans la catégorie IVa

Cas	Sexe	Age	Diagnostic intégré pré-méthylome	Méthylome V12.8	Score	C	Diagnostic final retenu	
1	H	11	méningiome anaplasique	Neuroepithelial tumour with BCOR internal tandem duplication	0.99	4a	tumeur avec altération en tandem BCOR	en faveur méthylome
2	H	26	tumeur gliale de haut grade	MC Diffuse paediatric-type high grade glioma, H3 wildtype and IDHwt	0.99	4a	Gliome diffus de haut grade de type pédiatrique	en faveur méthylome
18	F	64	tumeur gliale de haut grade	High-grade neuroepithelial tumour with MN1:BEND2 fusion	0.99	4a	MC Astroblastoma, MN1-altered, MN1:BEND2-fused	en faveur méthylome
40	F	40	glioblastome	CNS tumour with EP300:BCOR(L1) fusion	0.99	4a		cas non résolu
44	H	22	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	4a	Gangliogliome	en faveur du DI
47	F	67	tumeur papillaire de la région pinéale	MC Choroid plexus papilloma, adult subtype (novel)	0.99	4a	Papillome des plexus choroïdes	en faveur méthylome
112	H	18	astroblastome de bas grade	Supratentorial midline pilocytic astrocytoma	0.99	4a	Astrocytome pilocytique de la ligne médiane BRAFV600Em	en faveur méthylome
114	H	5	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	4a	Gangliogliome	en faveur du DI
140	H	11	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	4a	Gangliogliome	en faveur du DI
163	H	48	xanthoastrocytome pleomorphe	Neuroepithelial tumour with PATZ1 fusion	0.99	4a	Tumeur neuroépthéliale avec fusion PATZ1	en faveur méthylome
221	H	12	épendymome	CNS Schwannoma, VGLL-fused	0.99	4a	Schwannome avec VGLL fusionné	en faveur méthylome
93	F	67	tumeur mésenchymateux myxoïde	MC Meningioma, subtype benign, subclass 3 (novel)	0.98	4a	Tumeur mésenchymateuse intracrânienne avec fusion FET::CREB	en faveur du DI
131	F	5	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.98	4a	Gangliogliome	en faveur du DI
138	H	25	tumeur glioneuronale leptoméningée diffuse	Supratentorial pilocytic astrocytoma	0.98	4a		cas non résolu
117	H	66	tumeur avec différenciation incertaine	Haemangioblastoma	0.98	4a	Hemangioblastome cerebelleux grade 1	non discordant
212	F	57	xanthoastrocytome pleomorphe	High-grade astrocytoma with piloid features	0.98	4a	Astrocytome de haut grade avec aspect piloides	en faveur méthylome
130	H	18	glioblastome	Diffuse high-grade neuroepithelial tumour [adult-type, C]	0.99	4a	Glioblastome	non discordant
92	F	82	xanthoastrocytome pleomorphe	Supratentorial pilocytic astrocytoma	0.97	4a	Astrocytome pilocytique	en faveur méthylome
177	H	1	tumeur tératoïde rhabdoïde atypique	MC Medulloblastoma, SHH-activated, subclass 2 (novel)	0.97	4a		cas non résolu
28	F	45	tumeur gliale de haut grade	Malignant peripheral nerve sheath tumour [spinal or atypical type]	0.96	4a	Sarcome MPNST like	en faveur méthylome
62	H	39	glioblastome	Diffuse paediatric-type high grade glioma, RTK1 subtype	0.94	4a	Gliome diffus de haut grade de type pédiatrique de sous type RTK1	en faveur méthylome
157	H	10	épendymome spinal grade 2	Myxopapillary ependymoma	0.99	4a	Ependymome spinal de grade 2	non discordant
174	H	9	glioblastome	MC Diffuse paediatric-type high grade glioma, RTK2 subtype, subclass	0.94	4a	MC Diffuse paediatric-type high grade glioma, RTK2 subtype	en faveur méthylome
171	H	43	glioblastome	Diffuse high-grade neuroepithelial tumour [adult-type, D]	0.90	4a	Glioblastome	non discordant
55	H	26	xanthoastrocytome pleomorphe	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.92	4a		cas non résolu
110	F	9	tumeur avec altération BCOR	MC Pineoblastoma, subtype miRNA processing altered 1, subclass A	0.92	4a	Pineoblastome	en faveur méthylome
119	F	38	tumeur gliale de haut grade	Low-grade glial/glioneuronal/neuroepithelial tumours	0.92	4a		cas non résolu
208	F	59	tumeur sellaire primaire de l'adulte INI1 déf	Atypical teratoid rhabdoid tumour, MYC activated	0.99	4a	Tumeur sellaire primaire de l'adulte INI1 déficient	non discordant
134	H	58	tumeur glioneuronale à rosette	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.92	4a	Tumeur glioneuronale à rosette	en faveur du DI
237	H	23	glioblastome	Pleomorphic xanthoastrocytoma(-like)	0.92	4a	Xanthoastrocytome pleomorphe grade 3 BRAFm	en faveur méthylome
203	F	12	épendymome	Diffuse midline glioma, H3K27-altered, subtype EGFR-altered	0.91	4a	Gliome diffus ligne médiane H3K27 alt, EGFR muté	en faveur méthylome
252	F	54	épendymome fosse postérieure de groupe B	Spinal ependymoma	0.99	4a	Ependymome spinale	non discordant

En vert : diagnostic retenu en faveur du méthylome ; en rouge : cas non résolu ; en bleu : diagnostic retenu en faveur du diagnostic intégré (DI) ; en jaune : cas considéré comme non réellement discordant. C : catégorie, MC : *methylation class* (terminologie utilisée par le DFKZ pour désigner la sous classe).

Concernant les cinq dossiers non résolus, le premier intéressait un patient de 25 ans (cas n°55) pour lequel nous avons proposé un diagnostic intégré de xanthoastrocytome pléomorphe de grade 3. Le NGS montrait une mutation *BRAF-V600E*. Le *classifier* de Heidelberg (v12.8) proposait le diagnostic de GB IDH-non muté avec un score à 0,92 tandis que le *classifier* du NIH proposait le diagnostic de xanthoastrocytome pléomorphe avec un score à 0,99. La représentation en réduction de dimensions (UMAP) fournie par le NIH montrait

néanmoins que la tumeur se positionnait dans le *cluster* des GB IDH-non mutés. La représentation en réduction de dimensions réalisée par nos soins montrait que la tumeur se positionnait entre le *cluster* des GB IDH-non mutés et celui des astrocytomes IDH-mutés de haut grade. Parmi les 10 cas pour lesquels nous avons intégré les résultats des deux *classifiers*, ce cas est le seul avec des résultats contradictoires.

Le deuxième cas (cas n°119) intéressait une patiente de 38 ans pour laquelle nous avons proposé un diagnostic intégré de gliome diffus de haut grade devant le caractère infiltrant de la lésion et la présence de deux mutations du gène *TP53* et d'une mutation du gène *NF1*, sans mutation ou fusion *BRAF* ni délétion homozygote de *CDKN2A/B*. Le *classifier* de Heidelberg proposait le diagnostic générique de « tumeur gliale/glioneuronale de bas grade » avec un SC à 0,96. Le *classifier* du NIH proposait le diagnostic d'astrocytome pilocytique hémisphérique (supratentorial) avec un SC à 0,99. La représentation en réduction de dimensions fournie par le NIH montrait un positionnement de la tumeur dans le *cluster* des astrocytomes pilocytiques hémisphériques, ce qui semble peu compatible avec le profil moléculaire de la tumeur (mutations de *TP53*).

Le troisième cas (cas n°177) intéressait un patient de 1 an pour lequel nous avons proposé un diagnostic intégré de tumeur rhabdoïde térétoïde atypique (ATRT, grade 4 de l'OMS) de la fosse postérieure devant une prolifération tumorale de morphologie embryonnaire avec perte d'expression en immunohistochimie d'*INI1* (avec témoin interne positif). Le *classifier* de Heidelberg proposait le diagnostic de médulloblastome SHH-activé, sous-type 2 avec un SC à 0,97. Le *classifier* de Bethesda proposait le diagnostic de médulloblastome SHH-activé, de sous-type 2 avec un SC à 0,96. La représentation en réduction de dimensions fournie par le NIH montrait un positionnement de la tumeur dans le *cluster* des médulloblastomes SHH-activés, de sous-type 2. Aucun variant pathogène du gène *INI1* n'a été mis en évidence, mais une mutation intronique a été détectée, non décrite dans la littérature donc de signification indéterminée. Il a été retrouvé une perte du chromosome 22q, sans délétion homozygote du gène *INI1* en 22q11. Ce cas ne présentait aucune des mutations habituellement observées dans les médulloblastomes SHH-activés et le profil pangénomique était équilibré (comme classiquement observé dans les ATRT).

Le quatrième cas (cas n°138) intéressait un patient de 25 ans avec une tumeur temporale pour laquelle nous avons proposé un diagnostic intégré de tumeur glioneuronale leptoméningée diffuse devant un phénotype « oligodendroglial-like », une expression en immunohistochimie d'OLIG2 et de la synaptophysine ainsi qu'une codélétion 1p/19q. Cependant il n'a pas été identifié d'altération de la voie des MAP Kinases. Les *classifiers* de Heidelberg et du NIH proposaient le diagnostic d'astrocytome pilocytique supratentorielle avec un SC à 0,98 et 0,99, respectivement. La représentation en réduction de dimensions fournie par le NIH ainsi que celle réalisée par nos soins montraient un positionnement de la tumeur dans le *cluster* des astrocytomes pilocytiques supratentoriels, incompatible avec la présence d'une codélétion 1p/19q.

Le cinquième cas (cas n°40) intéressait une patiente de 40 ans pour laquelle nous avons proposé un diagnostic intégré de GB IDH-non muté. Les *classifiers* de Heidelberg et du NIH proposaient le diagnostic de tumeur du SNC avec fusion *BCOR/BCORL1* avec un SC à 0,99 chacun. La recherche de fusion par RNAseq n'a pas été possible car le matériel était épuisé.

Au total, parmi les 26 cas discordants, 15 cas (15/26, 58%) ont été reclassés selon les données du méthylome tandis que pour 6 cas (6/26, 23%), le diagnostic pré-méthylomique a prévalu. Cinq cas (5/26, 19% ou 5/256, 2% de la cohorte totale) sont restés non résolus.

Tableau 6 : Cas discordants de la catégorie IVa

Cas	Sexe	Age	Diagnostic intégré pré-méthylome	Méthylome V12.8	Score	C	Diagnostic final retenu	
1	H	11	méningiome anaplasique	Neuroepithelial tumour with BCOR internal tandem duplication	0.99	4a	tumeur avec altération en tandem BCOR	en faveur méthylome
2	H	26	tumeur gliale de haut grade	MC Diffuse paediatric-type high grade glioma, H3 wildtype and IDHwt	0.99	4a	Gliome diffus de haut grade de type pédiatrique	en faveur méthylome
18	F	64	tumeur gliale de haut grade	High-grade neuroepithelial tumour with MN1:BEND2 fusion	0.99	4a	MC Astroblastoma, MN1-altered, MN1:BEND2-fused	en faveur méthylome
40	F	40	glioblastome	CNS tumour with EP300:BCOR(L1) fusion	0.99	4a		cas non résolu
44	H	22	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	4a	Gangliogliome	en faveur du DI
47	F	67	tumeur papillaire de la région pinéale	MC Choroid plexus papilloma, adult subtype (novel)	0.99	4a	Papillome des plexus choroïdes	en faveur méthylome
112	H	18	astroblastome de bas grade	Supratentorial midline pilocytic astrocytoma	0.99	4a	Astrocytome pilocytique de la ligne médiane BRAFV600Em	en faveur méthylome
114	H	5	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	4a	Gangliogliome	en faveur du DI
140	H	11	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	4a	Gangliogliome	en faveur du DI
163	H	48	xanthoastrocytome pleomorphe	Neuroepithelial tumour with PATZ1 fusion	0.99	4a	Tumeur neuroépithéliale avec fusion PATZ1	en faveur méthylome
221	H	12	épendymome	CNS Schwannoma, VGLL-fused	0.99	4a	Schwannome avec VGLL fusionné	en faveur méthylome
93	F	67	tumeur mésenchymateux myxoïde	MC Meningioma, subtype benign, subclass 3 (novel)	0.98	4a	Tumeur mésenchymateuse intracrânienne avec fusion FET::CREB	en faveur du DI
131	F	5	gangliogliome	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.98	4a	Gangliogliome	en faveur du DI
138	H	25	tumeur glioneuronale leptoméningée diffuse	Supratentorial pilocytic astrocytoma	0.98	4a		cas non résolu
212	F	57	xanthoastrocytome pleomorphe	High-grade astrocytoma with piloid features	0.98	4a	Astrocytome de haut grade avec aspect piloïdes	en faveur méthylome
92	F	82	xanthoastrocytome pleomorphe	Supratentorial pilocytic astrocytoma	0.97	4a	Astrocytome pilocytique	en faveur méthylome
177	H	1	tumeur térétoïde rhabdoïde atypique	MC Medulloblastoma, SHH-activated, subclass 2 (novel)	0.97	4a		cas non résolu
28	F	45	tumeur gliale de haut grade	Malignant peripheral nerve sheath tumour [spinal or atypical type]	0.96	4a	Sarcome MPNST like	en faveur méthylome
62	H	39	glioblastome	Diffuse paediatric-type high grade glioma, RTK1 subtype	0.94	4a	Gliome diffus de haut grade de type pédiatrique de sous type RTK1	en faveur méthylome
174	H	9	glioblastome	MC Diffuse paediatric-type high grade glioma, RTK2 subtype, subclass	0.94	4a	MC Diffuse paediatric-type high grade glioma, RTK2 subtype	en faveur méthylome
55	H	26	xanthoastrocytome pleomorphe	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.92	4a		cas non résolu
110	F	9	tumeur avec altération BCOR	MC Pineoblastoma, subtype miRNA processing altered 1, subclass A	0.92	4a	Pineoblastome	en faveur méthylome
119	F	38	tumeur gliale de haut grade	Low-grade glial/glioneuronal/neuroepithelial tumours	0.92	4a		cas non résolu
134	H	58	tumeur glioneuronale à rosette	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.92	4a	Tumeur glioneuronale à rosette	en faveur du DI
237	H	23	glioblastome	Pleomorphic xanthoastrocytoma(-like)	0.92	4a	Xanthoastrocytome pleomorphe grade 3 BRAFm	en faveur méthylome
203	F	12	épendymome	Diffuse midline glioma, H3 K27-altered, subtype EGFR-altered	0.91	4a	Gliome diffus ligne médiane H3K27 alt, EGFR muté	en faveur méthylome

En vert : diagnostic retenu en faveur du méthylome ; en rouge : cas non résolu ; en bleu : diagnostic retenu en faveur du diagnostic intégré (DI) ; C : catégorie, MC : *methylation class* (terminologie utilisée par le DFKZ pour désigner la sous classe).

2.4 Description de la catégorie V (super famille « tissu contrôle » ou score calibré < 0,5)

Trente-six tumeurs (36/256, 14%) appartenait à la catégorie V (non contributif). Trente (30/36, 83%) avaient un SC < 0,5 dont 8 (8/30, 27%) un SC < 0,3. Six cas avaient un SC > 0,5 mais ont été classés par le méthylome en « tissu contrôle » ou en « microenvironnement inflammatoire », en faveur d'un prélèvement peu représentatif de la tumeur. A noter que vingt cas de la catégorie V (20/36, 56%) étaient des échantillons FFPE.

3. Comparaison des résultats du méthylome entre les versions v12.8 et v12.5 du classifieur

Parmi les 256 cas, 129 (129/256, 50,3%) présentaient un diagnostic méthylomique concordant avec le diagnostic intégré initial (catégories I et II) et identique entre les deux versions du *classifieur*. Pour les 127 autres cas (49,7%), les diagnostics entre les deux versions du *classifieur* n'étaient pas identiques ; en effet, la classe ou la sous classe variait ou le SC était $< 0,90$.

Trois cas présentaient un changement significatif (changement de super famille ou famille) entre les versions v12.5 et v12.8. Un cas (n° 237) avait un diagnostic intégré de GB IDH-non muté et était classé par le *classifieur* v12.5 en GB IDH-non muté de sous-type mésoenchymateux avec un SC à 0,98 tandis qu'il était classé en xanthoastrocytome pléomorphe avec un SC à 0,92 en v12.8. Le diagnostic final retenu a été celui de xanthoastrocytome pléomorphe *BRAF*-V600E-muté de grade 3 du fait du jeune âge du patient (26 ans), de la présence d'une mutation *BRAF*-V600E et d'une délétion homozygote de *CDKN2A/B*. Les deux autres tumeurs (n°134 et 212) avaient un diagnostic méthylomique discordant par rapport au diagnostic histomoléculaire initial avec un SC $> 0,9$ en v12.8 et un diagnostic concordant en v12.5 mais avec un SC $< 0,5$. Le cas n° 212 a été reclassé en faveur du méthylome selon la v12.8, tandis que le cas n°134 a été reclassé en faveur du diagnostic intégré (Tableau 6).

Dans notre cohorte, 36 cas étaient non contributifs selon la v12.8 (catégorie V). Parmi ces cas, 21 étaient non contributifs en v12.5 et 15 étaient exploitables (SC entre 0,5 et 0,9).

A noter que les types tumoraux présents dans les *classifieurs* v12.5 et v12.8 sont strictement identiques ; seul le nombre de cas présents dans la base de données pour chaque type tumoral est différent. Les résultats du méthylome sont dépendants de la composition de la cohorte d'entraînement.

4. Comparaison des résultats obtenus à partir d'échantillons congelés versus FFPE

Sur les 256 cas inclus dans l'étude, 82 (32%) correspondaient à du matériel FFPE. Vingt tumeurs parmi les 82 (20/82, 24,5%) ont été classées dans la catégorie V (sur les 36 cas de la catégorie V de l'étude, soit 55% (20/36 cas)). La moitié des diagnostics méthylomiques non contributifs ($SC < 0,5$ ou diagnostic de tissu contrôle/microenvironnement inflammatoire) de la cohorte provenaient donc de cas FFPE. Les échantillons FFPE inclus dans l'étude étaient majoritairement issus de centres extérieurs.

DISCUSSION

Nous avons comparé, dans une cohorte de 256 tumeurs du SNC, le diagnostic proposé par le méthylome via le *classifier* de Heidelberg au diagnostic intégré pré-méthylomique. Dans 60% des cas, le diagnostic méthylomique était en accord avec le diagnostic histomoléculaire pré-méthylomique. Dans notre cohorte, le SC était $> 0,9$ dans 65% des cas (167/256). Parmi ces cas avec un score contributif, 71% (119/167) avaient un diagnostic concordant entre les analyses pré-méthylomique et méthylomique (catégories Ia et IIa). Dans 41% des cas (104/256), le méthylome apportait une précision diagnostique. Dans 9% des cas (23/256), le diagnostic méthylomique était partiellement discordant, proposant un type ou sous-type tumoral différent au sein de la même famille. Dans 17% des cas (45/256 cas), il existait une discordance avec changement de famille ou super famille mais après ré-analyse des résultats, seuls 10% des cas (26/256) étaient réellement discordants. Au final, dans 5,8% des cas (15/256), les résultats du méthylome ont amené à réviser le diagnostic intégré initial.

La classification de l'OMS 2021 est une classification histomoléculaire proposant un diagnostic intégré des tumeurs du SNC. Ce diagnostic en couches, ou strates, prend en compte les données clinico-radiologiques, histopathologiques et moléculaires (16). Il est plus objectif que la seule appréciation des cellules tumorales au microscope et représente une avancée majeure en Neuro-Oncologie.

Les progrès de la biologie moléculaire ont permis d'explorer une autre facette des tumeurs : leur épigénétique. Le diagnostic intégré comprend maintenant un niveau supplémentaire (après les données cliniques, le type histologique, le grade et l'altération génétique *driver*) : la classe de méthylation. La classification OMS 2021 intègre dans la démarche diagnostique, pour certains types tumoraux, les données du méthylome. Cette analyse épigénétique fait partie des critères désirables, voire essentiels, pour porter un diagnostic en Neuro-Oncologie (17).

L'introduction du méthylome a été une véritable révolution pour les neuropathologistes impliqués dans le diagnostic des tumeurs du SNC (12). L'étude princeps de Capper *et al.* parue en 2018 a porté sur 1104 tumeurs du SNC et a permis d'identifier 82 classes de tumeurs définies chacune par un profil de méthylation distinct (12). Parmi les 1104 tumeurs analysées, 977 (88%) présentaient un SC $> 0,9$ (12). Dans 76% des cas (838/1104), le diagnostic intégré selon l'OMS et la classe de méthylation proposée par l'IA étaient concordants. Dans 16% des

cas (171/1104), la tumeur a été classée par le méthylome dans un sous-groupe moléculaire que l'histopathologie seule ne pouvait identifier. Dans 13% des cas (139/1104), il existait une discordance entre le diagnostic histopathologique et la classe de méthylation. Dans 129/139 cas (soit 12% de la cohorte totale), des analyses moléculaires complémentaires (séquençage NGS d'un panel plus large de gènes, séquençage des ARN (RNAseq) ou recherche d'anomalies chromosomiques) ont permis de réviser le diagnostic en faveur de la classe de méthylation proposée. Cette révision du diagnostic a entraîné un changement de grade dans 71% des cas (92/129), avec une augmentation et une diminution de celui-ci dans, respectivement, 41% des cas (53/129) et 30% des cas (39/129). Douze pourcents des cas (127/1104) n'ont pu être classés ($SC < 0,9$) et une réduction de dimensions par t-SNE plaçait ces cas en dehors des classes de méthylation connues, suggérant de nouveaux types tumoraux. Dix cas ($< 1\%$ de la cohorte totale) n'ont pu être résolus et le diagnostic histopathologique a prévalu. Au total, la sensibilité et la spécificité du méthylome était, respectivement, de 0,98 et 0,99 (12).

D'autres études ont évalué la fiabilité du méthylome en confrontant le diagnostic proposé par l'IA au diagnostic intégré (18–22). Dans l'étude de Wu *et al.* portant sur 1258 tumeurs du SNC, 694 avaient un SC suffisant (fixé à $> 0,84$) (18). La moitié des diagnostics proposés par le méthylome étaient concordants avec le diagnostic intégré (53%, 369/694). Dans 27% des cas (187/694), un nouveau diagnostic a été retenu et dans presque 20% des cas (137/694), le diagnostic a été affiné (proposition d'un sous-type tumoral). De plus, l'analyse du t-SNE a permis de mettre en évidence de nouveaux types tumoraux (formant des *clusters* distincts), non répertoriés dans la base de données du DKFZ (18).

Dans notre étude, le méthylome a permis d'affiner le diagnostic dans 41% des cas (dans 83% des cas avec un $SC > 0,9$). Trente-huit GB IDH-non mutés ont pu être classés en sous-type RTK1 (16%), RTK2 (21%) ou mésenchymateux (63%). Cette précision moléculaire pourrait avoir un intérêt pronostique (même si elle n'est pas actuellement prise en compte dans les décisions thérapeutiques) ; en effet, les patients avec un GB RTK1 auraient une survie plus brève que ceux avec les deux autres sous-types (23). Au-delà du pronostic, le sous-type moléculaire est le miroir d'un comportement biologique différent. Ceci s'applique aussi aux médulloblastomes SHH-activés qui se répartissent en 4 sous classes (24,25). A noter que certains essais thérapeutiques (nord-américains) tiennent compte de ces sous classes.

Vingt-six cas de notre cohorte (10%) présentaient des diagnostics pré-méthylomique et méthylomique discordants (avec un SC > 0,9). Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres études (2,26). Comme discuté plus haut, nous avons exclu de la catégorie IV les « faux discordants » (astrocytomes IDH-mutés de grade 3 classés en tumeurs de bas grade, gangliogliomes supratentoriels classés en astrocytomes pilocytiques, épendymomes de type PFB classés en subépendymomes, épendymomes spinaux classés en épendymomes myxopapillaires et la tumeur sellaire primitive de l'adulte INI1-déficiente classée en ATRT).

Dans 15 cas de la cohorte (5,8% ; dont 4 cas pédiatriques) avec un SC > 0,9, le méthylome a permis de redresser un diagnostic histomoléculaire initial erroné. Dans un cas pédiatrique (cas n°203), il n'a pas été possible de trancher entre un épendymome de type PFA de grade 3 et un gliome diffus de la ligne médiane H3K27-altéré (grade 4). Le méthylome a permis de retenir ce dernier diagnostic avec un SC à 0,91. Les enjeux pronostiques et thérapeutiques étaient ici majeurs. La survie globale des gliomes diffus de la ligne médiane est inférieure à un an tandis que celle des épendymomes de type PFA de grade 3 est supérieure à 5 ans (13).

Le *classif*ier de Heidelberg n'est pas entièrement superposable à la classification OMS 2021. Certaines entités du *classif*ier ne sont pas (encore) reconnues par l'OMS (ex : tumeur neuroépithéliale *PATZ1*-fusionnée) et certains types tumoraux de l'OMS n'ont pas de signature méthylomique propre. Le *grading* des gliomes IDH-mutés n'est pas non plus tout à fait superposable. Comme précédemment mentionné, la classe de méthylation « astrocytomes IDH-mutés de bas grade » comprend les astrocytomes de grade 2 et 3 de l'OMS et la classe « astrocytomes IDH-mutés de haut grade » ne comprend que les tumeurs de grade 4. Selon la classification OMS 2021, les astrocytomes IDH-mutés de haut grade correspondent aux tumeurs de grade 3 et 4. Cette différence peut prêter à confusion et avoir éventuellement un impact sur le choix des traitements. En effet, seuls les patients ayant un astrocytome IDH-muté de grade 2 de l'OMS sont éligibles aux inhibiteurs d'IDH tels que le vorasidenib, qui ralentit l'évolution de la maladie . Les patients ayant une tumeur de grade 3 ne peuvent actuellement recevoir ce traitement (27).

Notre cohorte comprenait 102 tumeurs pédiatriques (< 25 ans) et dans 68% des cas, le SC était > 0,9. Pour 47% (48/102) des cas avec un SC > 0,9 les diagnostics pré-méthylomique et méthylomique étaient concordants avec, dans 71 % (34/48) des cas, l'apport d'une précision diagnostique. Dans 21% des cas avec un SC > 0,9, les diagnostics étaient discordants (catégories III et IV). Les tumeurs primitives du SNC de l'enfant sont beaucoup plus variées que celles de l'adulte (majoritairement représentées par les GB IDH-non mutés). Par ailleurs, nombre de ces tumeurs pédiatriques sont des tumeurs gliales/glioneuronales de bas grade sous-tendues par une altération de la voie des MAP Kinases (mutation ou réarrangement *BRAF*, *FGFR1*, *NF1*, *RAS*, etc.), qui peut être commune à plusieurs types tumoraux (28). Les analyses de biologie moléculaire (hors méthylome) ne sont donc pas d'une grande aide pour définir le type tumoral précis. C'est une des raisons pour lesquelles le méthylome est réalisé de manière quasi systématique chez l'enfant. A noter que 43% des cas pédiatriques discordants de la cohorte avaient un diagnostic intégré initial de tumeur gliale/glioneuronale de bas grade.

Un nouveau type tumoral introduit dans la classification OMS 2021 est le gliome diffus de type pédiatrique de haut grade. Notre cohorte comprenait sept cas (2,7%, 7/256) de gliome diffus de l'adulte (dont quatre GB IDH-non mutés) reclassés par le méthylome dans la super famille des « gliomes diffus de haut grade de type pédiatrique ». Cette super famille comprend les gliomes diffus de la ligne médiane H3K27-altérés, les gliomes diffus hémisphériques H3G34-mutés, les gliomes hémisphériques de type infantile et les gliomes diffus de type pédiatrique de haut grade H3- et IDH-non mutés. Parmi les 7 cas de la cohorte, 6 (85%) ont été reclassés selon les données du méthylome (le dernier cas avait un SC < 0,5). La présentation clinico-radiologique et histopathologique des gliomes diffus de type adulte et de type pédiatrique peut être similaire. Ceci souligne l'intérêt du méthylome, notamment dans les gliomes diffus de haut grade de type pédiatrique H3- et IDH-non mutés, qui ne peuvent être détectés par une analyse histomoléculaire conventionnelle (29). L'absence de gain du chromosome 7/perte du chromosome 10, de mutation du promoteur de *TERT* ou d'amplification d'*EGFR* peut éventuellement orienter vers ce diagnostic face un gliome diffus IDH-non muté chez un adulte. Le diagnostic de gliome diffus de haut grade de type pédiatrique n'a pas d'incidence pronostique ou thérapeutique à l'exception des gliomes hémisphériques de type infantile qui peuvent bénéficier d'une thérapie ciblée (fusion *NTRK*, *ALK*, *ROS1*, *FGFR* ou

MET). Néanmoins, ces tumeurs se développent majoritairement chez le petit enfant et font donc rarement partie des diagnostics différentiels des gliomes diffus de l'adulte.

Pour affiner le diagnostic et résoudre certaines discordances nous avons utilisé un *classifieur* récemment développé par le NIH (Bethesda, USA), qui contient quelques nouveaux (sous-)types tumoraux absents du jeu de données du DKFZ (ex : gliome de haut grade avec aspects pléomorphes et pseudo-papillaires, non (encore) reconnu par l'OMS)(30). Même si la base de données de Heidelberg s'enrichit au cours du temps (grâce à l'inclusion de nouveaux cas soumis par des pathologistes du monde entier), certains types ou sous-types tumoraux ne figurent pas dans la base allemande et ne peuvent donc pas être identifiés par l'algorithme. Ce dernier classera de tels cas par défaut dans la mauvaise (super)famille. Dans neuf cas sur les dix testés, les diagnostics proposés par les deux *classifieurs* étaient concordants.

Malgré une ré-analyse fine des dossiers, une interrogation des deux *classifieurs* ainsi que la réalisation d'un tSNE/UMAP et parfois d'analyses moléculaires complémentaires, cinq dossiers restent non résolus.

L'incorporation des données du méthylome dans la démarche diagnostique est délicate lorsque le SC est compris entre 0,5 et 0,9 (31). Plusieurs paramètres peuvent expliquer des scores faibles tels que la non représentation du type tumoral dans la base de données du *classifieur* (18). Comme précédemment mentionné, une IA ne peut correctement classer une entité qu'elle n'a jamais rencontrée. Hormis l'utilisation de méthodes plus conventionnelles, telles que la recherche de fusions ou l'analyse des anomalies de nombre des chromosomes, une réduction de dimensions peut être réalisée (tSNE/UMAP). Les 13 cas de la cohorte classés dans la catégorie IVb (SC entre 0,5 et 0,9) ont été étudiés à l'aide d'un tSNE. Dans 12 cas, les résultats fournis par ce dernier étaient en accord avec le diagnostic méthylomique, rattrapant en partie le SC faible.

Un SC entre 0,5 et 0,9 peut orienter la réalisation d'analyses moléculaires complémentaires. Par exemple, un diagnostic méthylomique de tumeur du parenchyme pinéal à différenciation intermédiaire peut inciter à rechercher une mutation du gène *KBTBD4*, spécifique de ce type tumoral et absente des pinéaloctomes et des pinéoloblastomes. Ou un diagnostic de xanthoastrocytome pléomorphe (XAP) doit inciter à rechercher une mutation *BRAF-V600E* et une délétion homozygote des gènes *CDKN2A/B*. Même si ces altérations ne

sont pas spécifiques du XAP, dans un contexte approprié, elles peuvent conforter le diagnostic de XAP (en conjonction avec les données histopathologiques).

La catégorie V correspondait aux cas avec un SC < 0,5 ou les cas classés en tissu contrôle ou microenvironnement tumoral. Dans notre cohorte, 14% (36/256) des cas ont été classés dans cette catégorie, dont 30 du fait d'un SC < 0,5. Plusieurs paramètres peuvent influencer le SC et la pertinence du diagnostic proposé par le méthylome. Une étude récente a montré une corrélation positive entre le pourcentage de cellules tumorales et le SC (18). Par ailleurs, un diagnostic méthylomique de tissu contrôle ou microenvironnement inflammatoire correspond le plus souvent à un prélèvement non représentatif (non ou très peu tumoral).

Lorsque la quantité d'ADN (tumoral) disponible est faible (< 100 ng), il est en général plus pertinent de réaliser un méthylome qu'un séquençage ciblé de l'ADN, qui consomme plus d'ADN et ne permettra pas toujours de porter un diagnostic précis. Il s'agit d'un examen robuste qui tolère un ADN de mauvaise qualité ou en faible quantité. Il est donc performant là où d'autres techniques de biologie moléculaire sont en échec. Le méthylome peut être réalisé à partir de tissu tumoral congelé mais aussi à partir de matériel FFPE.

De façon intéressante, six cas pour lesquels nous avons du matériel pour la tumeur initiale et la récurrence montrent que les profils de méthylation sont stables dans le temps, même après traitement (par radiochimiothérapie) (données non présentées). Les profils de méthylation reflètent principalement l'origine cellulaire de la tumeur (4) et, à un moindre degré, les modifications épigénétiques subies pendant le processus de tumorigenèse (ou de progression tumorale).

En plus de proposer un diagnostic, le méthylome fournit également un profil pangénomique de type CGH (*Comparative Genomic Hybridization*) qui peut apporter des informations diagnostiques. C'est tout particulièrement vrai en cas de suspicion de GB IDH-non muté où la mise en évidence d'un gain du 7 associé à une perte du 10, parfois avec une amplification du gène *EGFR*, permettra de retenir le diagnostic (même si le SC obtenu est < 0,9).

Le méthylome permet, de plus, d'analyser le statut méthylé ou non du promoteur du gène de la MGMT. Cette analyse permet de prédire la réponse aux agents alkylants, tels que

le témozolomide, tout particulièrement dans les GB IDH-non mutés (32,33). Le méthylome peut ainsi être vu comme une technique « 3 en 1 » (proposition diagnostique, profil pangénomique et statut MGMT) (34).

La Neuro-Oncologie a été pionnière dans le développement de classifications basées sur l'analyse du méthylome. Depuis l'article princeps de 2018 (12), d'autres *classifiers* ont été développés, notamment pour les sarcomes ou les tumeurs cutanées (35–38). Des *classifiers* propres aux médulloblastomes et aux méningiomes sont maintenant proposés par le DKFZ (39). Récemment, a été mise au point une classification des tumeurs salivaires basée sur leurs profils de méthylation (40). A partir des connaissances acquises en Neuro-Oncologie, l'introduction de classifications méthylomiques s'annonce dans un nombre croissant d'organes.

Avec l'avènement des techniques de biologie moléculaire à haut débit, la classification OMS des tumeurs du SNC est en constante (r)évolution. Même si certains reprochent un niveau de preuve insuffisant concernant l'existence de types tumoraux définis par le méthylome, cette technique occupera sans nul doute une place croissante dans la sixième édition de la classification OMS des tumeurs du SNC. Les prochaines années verront la construction d'une base de données française (sous l'égide du réseau RENOCLIP-LOC (INCa)), ce qui permettra de s'affranchir des *classifiers* étrangers (bientôt payants) et du transfert de données associé.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au total, le méthylome est apparu comme un outil fiable dans notre étude, confirmant et affinant le diagnostic dans la majorité des cas. Dans de rares cas, il a permis de redresser le diagnostic. Ailleurs, il pouvait induire en erreur (cas faussement discordants).

Le méthylome est devenu incontournable en Neuro-Oncologie, tant sur le plan diagnostique que pronostique, tout particulièrement chez l'enfant. Néanmoins, le diagnostic d'un type tumoral donné repose sur un faisceau d'arguments : cliniques, radiologiques, microscopiques et moléculaires. L'ensemble de ces éléments doit concorder. Les diagnostics les plus justes sont ceux qui intègrent toutes les données pertinentes. Le méthylome représente un niveau d'information supplémentaire et n'est pas à lui seul un outil diagnostique. Un diagnostic ne peut entièrement reposer sur les données issues d'algorithmes d'IA.

BIBLIOGRAPHIE

1. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol (Berl)*. août 2007;114(2):97-109.
2. Jaunmuktane Z, Capper D, Jones DTW et al. Methylation array profiling of adult brain tumours: diagnostic outcomes in a large, single centre. *Acta Neuropathol Commun*. 20 févr 2019;7(1):24.
3. Louis DN, Aldape K, Brat DJ, Capper D, Ellison DW, Hawkins C, et al. a new initiative in advancing nervous system tumor classification. *Brain Pathol*. 2017 Nov;27(6):851-852.
4. Fernandez AF, Assenov Y, Martin-Subero JI, Balint B, Siebert R, et al. A DNA methylation fingerprint of 1628 human samples. *Genome Res*. 2012 Feb;22(2):407-19.
5. Cain JA, Montibus B, Oakey RJ. Intragenic CpG Islands and Their Impact on Gene Regulation. *Front Cell Dev Biol*. 11 févr 2022;10:832348.
6. Herman JG, Baylin SB. Gene Silencing in Cancer in Association with Promoter Hypermethylation. *N Engl J Med*. 20 nov 2003;349(21):2042-54.
7. Moore, L., Le, T. & Fan, G. DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacol*. (2013);38, 23–38.
8. Ghosh S, Yates AJ, Fruhwald MC, Miecznikowski JC, Plass C, Smiraglia DJ. Tissue specific DNA methylation of CpG islands in normal human adult somatic tissues distinguishes neural from non-neural tissues. *Epigenetics*. 16 août 2010;5(6):527-38.

9. Ladd-Acosta C, Pevsner J, Sabunciyan S, Yolken RH, Webster MJ, Dinkins T, et al. DNA Methylation Signatures within the Human Brain. *Am J Hum Genet.* déc 2007;81(6):1304-15.
10. Shimizu D, Taniue K, Matsui Y, Haeno H, Araki H, Miura F, et al. Pan-cancer methylome analysis for cancer diagnosis and classification of cancer cell of origin. *Cancer Gene Ther.* mai 2022;29(5):428-36.
11. Loyfer N, Magenheim J, Peretz A, Cann G, Bredno J, Klochendler A, et al. A DNA methylation atlas of normal human cell types | *Nature.* Nature. janv 2023;613(7943):355-64.
12. Capper D, Jones DTW, Sill M, Hovestadt V, Schrimpf D, Sturm D, et al. DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. *Nature.* 2018 Mar 22;555(7697):469-474.
13. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Central nervous system tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer. (2021). (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 6).
14. DKFZ. <https://app.epignostix.com> [Internet]. Disponible sur: <https://app.epignostix.com>
15. Duan Z, Yao K, Yang S, Qu Y, Ren M, Zhang Y, et al. Primary adult sellar SMARCB1/INI1-deficient tumor represents a subtype of atypical teratoid/rhabdoid tumor. *Mod Pathol.* déc 2022;35(12):1910-20.
16. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Central nervous system tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2016. (WHO classification of tumours series, revised 4th ed. ; vol. 1).
17. Khalighi S, Reddy K, Midya A, Pandav KB, Madabhushi A, Abedalthagafi M. Artificial intelligence in neuro-oncology: advances and challenges in brain tumor

diagnosis, prognosis, and precision treatment. *Npj Precis Oncol.* 29 mars 2024;8(1):80.

18. Wu Z, Abdullaev Z, Pratt D, Chung HJ, Skarshaug S, Zgonc V, et al. Impact of the methylation classifier and ancillary methods on CNS tumor diagnostics. *Neuro-Oncol.* 1 avr 2022;24(4):571-81.

19. Pickles JC, Stone TJ, Jacques TS. Methylation-based algorithms for diagnosis: experience from neuro-oncology. *J Pathol.* 2020 Apr;250(5):510-517.

20. Pages M, Uro-Coste E, Colin C, Meyronet D, Gauchotte G, Maurage CA, et al. The Implementation of DNA Methylation Profiling into a Multistep Diagnostic Process in Pediatric Neuropathology: A 2-Year Real-World Experience by the French Neuropathology Network. *Cancers.* 18 mars 2021;13(6):1377.

21. Sturm D, Capper D, Andreiuolo F, Gessi M, Kölsche C, Reinhardt A, et al. Multiomic neuropathology improves diagnostic accuracy in pediatric neuro-oncology. *Nat Med.* avr 2023;29(4):917-26.

22. Capper D, Stichel D, Sahm F, Jones DTW, Schrimpf D, Sill M, et al. Practical implementation of DNA methylation and copy-number-based CNS tumor diagnostics: the Heidelberg experience. *Acta Neuropathol.* 2018 Aug;136(2):181-210.

23. Kessler T, Schrimpf D, Doerner L, Hai L, Kaulen LD, Ito J, et al. Prognostic Markers of DNA Methylation and Next-Generation Sequencing in Progressive Glioblastoma from the EORTC-26101 Trial. *Clin Cancer Res.* 2 oct 2023;29(19):3892-900.

24. Northcott PA, Robinson GW, Kratz CP, Mabbott DJ, Pomeroy SL, Clifford SC, et al. Medulloblastoma. *Nat Rev Dis Primer.* 14 févr 2019;5(1):11.

25. Rajagopal R, Teng AJ, Jawin V, Wong OL, Mahsin H, Abd Rani NH, et al. Prognostic significance of molecular subgroups in survival outcome for children with medulloblastoma in Malaysia. *Front Oncol.* 18 oct 2023;13:1278611.
26. Galbraith K, Vasudevaraja V, Serrano J, Shen G, Tran I, Abdallat N, et al. Clinical utility of whole-genome DNA methylation profiling as a primary molecular diagnostic assay for central nervous system tumors—A prospective study and guidelines for clinical testing. *Neuro-Oncol Adv.* 1 janv 2023;5(1).
27. Mellinghoff IK, Van Den Bent MJ, Blumenthal DT, Touat M, Peters KB, Clarke J, et al. Vorasidenib in IDH1- or IDH2-Mutant Low-Grade Glioma. *N Engl J Med.* 17 août 2023;389(7):589-601.
28. Fukuoka K, Mamatjan Y, Tatevossian R, Zapotocky M, Ryall S, Stucklin AG, et al. Clinical impact of combined epigenetic and molecular analysis of pediatric low-grade gliomas. *Neuro-Oncol.* 14 oct 2020;22(10):1474-83.
29. Pickles JC, Fairchild AR, Stone TJ, Brownlee L, Merve A, Yasin SA, et al. DNA methylation-based profiling for paediatric CNS tumour diagnosis and treatment: a population-based study. *Lancet Child Adolesc Health.* févr 2020;4(2):121-30.
30. Methyscape Analysis [Internet]. [cité 8 déc 2024]. Disponible sur: <https://methyscape.ccr.cancer.gov/>
31. Karimi S, Zuccato JA, Mamatjan Y, Mansouri S, Suppiah S, Nassiri F, et al. The central nervous system tumor methylation classifier changes neuro-oncology practice for challenging brain tumor diagnoses and directly impacts patient care. *Clin Epigenetics.* déc 2019;11(1):185.
32. Della Monica R, Cuomo M, Buonaiuto M, Costabile D, Franca RA, Del Basso De Caro M, et al. MGMT and Whole-Genome DNA Methylation Impacts on

Diagnosis, Prognosis and Therapy of Glioblastoma Multiforme. *Int J Mol Sci.* 27 juin 2022;23(13):7148.

33. Olson RA, Brastianos PK, Palma DA. Prognostic and predictive value of epigenetic silencing of MGMT in patients with high grade gliomas: a systematic review and meta-analysis. *J Neurooncol.* 2011 Nov;105(2):325-35.

34. Kilaru V, Knight AK, Katrinli S, Cobb D, Lori A, Gillespie CF, et al. Critical evaluation of copy number variant calling methods using DNA methylation. *Genet Epidemiol.* mars 2020;44(2):148-58.

35. Silva FLT, Euzébio MF, Ruas JS, Franco MT, Cassone AE, Junqueira T, et al. Classification of pediatric soft and bone sarcomas using DNA methylation-based profiling. *BMC Cancer.* 20 nov 2024;24(1):1428.

36. Rodríguez-Paredes M, Bormann F, Raddatz G, Gutekunst J, Lucena-Porcel C, Köhler F, et al. Methylation profiling identifies two subclasses of squamous cell carcinoma related to distinct cells of origin. *Nat Commun.* 8 févr 2018;9(1):577.

37. Jurmeister P, Glöß S, Roller R, Leitheiser M, Schmid S, Mochmann LH, et al. DNA methylation-based classification of sinonasal tumors. *Nat Commun.* 28 nov 2022;13(1):7148.

38. Koelsche C, Schrimpf D, Stichel D, Sill M, Sahm F, Reuss DE, et al. Sarcoma classification by DNA methylation profiling. *Nat Commun.* 21 janv 2021;12(1):498.

39. Sahm F, Schrimpf D, Stichel D, Jones DTW, Hielscher T, Schefzyk S, et al. DNA methylation-based classification and grading system for meningioma: a multicentre, retrospective analysis. *Lancet Oncol.* mai 2017;18(5):682-94.

40. Jurmeister P, Leitheiser M, Arnold A, Capilla EP, Mochmann LH, Zhdanovic Y, et al. DNA Methylation Profiling of Salivary Gland Tumors Supports and Expands Conventional Classification. *Mod Pathol.* déc 2024;37(12):100625.

Liste des figures

Figure 1: Extrait de l'arborisation diagnostique selon la version 12.8 du <i>classif</i>ier de Heidelberg	7
Figure 2 : Exemple de représentation par réduction de dimensions (t-SNE)	8
Figure 3 : Distribution de la cohorte en fonction des catégories	12
Figure 4 : Correspondance entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique pour les catégories Ia et IIa	13
Figure 5 : Correspondance entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique des gliomes diffus de l'adulte de la catégorie IIIa	17
Figure 6 : Correspondance entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique des tumeurs gliales/glioneurales de bas grade et des tumeurs épendymaires de la catégorie IIIa	19
Figure 7 : Correspondance entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique des gliomes diffus de l'adulte de la catégorie IVa	22
Figure 8 : Correspondance entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique des tumeurs gliales/glioneurales de bas grade de la catégorie IVa	25

Liste des tableaux

Tableau 1: Définition des différentes catégories.....	9
Tableau 2: Cas de la catégorie III	16
Tableau 3: Gliome diffus de type adulte de la catégorie IV	21
Tableau 4 : Tumeurs gliales/glioneuronales de bas grade de la catégorie IV.....	24
Tableau 5: Cas classés dans la catégorie IVa.....	28
Tableau 6 : Cas de la catégorie IVa discordants	31

Table des matières

SERMENT D'HIPPOCRATE	1
RESUME	1
INTRODUCTION	3
MATÉRIEL ET MÉTHODES	5
RÉSULTATS	11
1. Description de la cohorte	11
2. Comparaison entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique selon la version v12.8 du <i>classifier</i>	11
2.1. Description des catégories I et II (diagnostics concordants).....	12
2.2. Description de la catégorie III (changement de classe/sous-classe)	15
2.3 Description de la catégorie IV (changement de super famille/famille).....	19
2.4 Description de la catégorie V (super famille « tissu contrôle » ou SC < 0,5).....	31
3. Comparaison des résultats du méthylome entre les versions v12.8 et v12.5 du <i>classifier</i>	32
4. Comparaison des résultats obtenus à partir d'échantillons congelés versus FFPE	33
DISCUSSION	34
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	40
BIBLIOGRAPHIE	41
LISTE DES FIGURES	47
ANNEXES	I

Annexes

Annexe I : Rapport type fourni par le DKFZ

Brain tumor classifier results (12.5)

Methylation classes (Highest level >= 0.3, lower levels >= 0.1, all of lowest level)		Calibrated score	Interpretation	
Medulloblastoma		0.99	match	✓
Medulloblastoma Non Wnt/non Shh Activated		0.99	match	✓
Medulloblastoma Group 3		0.99	match	✓
Mc Medulloblastoma, Non Wnt/non Shh, Group 3 Subtype, Subclass Iv		0.99	match	✓
Mc Medulloblastoma, Non Wnt/non Shh, Group 3 Subtype, Subclass Iii		0.00	no match	✗
Mc Medulloblastoma, Non Wnt/non Shh, Group 3 Subtype, Subclass Ii		0.00	no match	✗
Mc Medulloblastoma, Non Wnt/non Shh, Group 3 Subtype, Subclass I		0.00	no match	✗

Legend: ✓ Match (score >= 0.9) ✗ No match (score < 0.9); possibly still relevant for low tumor content and low DNA quality cases. ● Match to MC family member (score >= 0.5)

Class descriptions

MC Medulloblastoma, non-WNT/non-SHH, Group 3 subtype, subclass IV: The "mc medulloblastoma, subclass Group 3" comprises the subclasses I-IV of the "mf medulloblastoma non-WNT/non-SHH activated" and accordingly represents a subset of the tumor type "medulloblastoma, molecularly defined, non-WNT/non-SHH activated". Overexpression of MYC and MYC amplification (often with PVT1:MYC fusion) occurs in 17%. GF11 and GF11B are overexpressed due to enhancer hijacking in 15%. Chromosome 17 copy-number alterations are found in 55–58%: 17p deletion, 17q gain, or isochromosome 17q. Most frequently mutant/amplified genes in both group 3 and 4 are KDM6A (mutated in 7% of cases), OTX2 (amplified in 6%), ZMYM3 (mutated in 6%), KMT2C (mutated in 6%), KBTBD4 (mutated in 6%), MYCN (amplified in 6%), ZIC1 (mutated in 4%), CDK6 (amplified in 4%), KMT2D (mutated in 3%), and TBR1 (mutated in 3%) (28726821). Deleterious heterozygous germline mutations in BRCA2 and PALB2 are present in 1–2% of patients. Classic morphology is most frequent in both group 3 and 4, whereas large cell / anaplastic cases are enriched in group 3 subclass II.

Classifier prediction (Brain tumor classifier; Version: 11b4)

Methylation classes (MCs with score >= 0.3)	Calibrated score	Interpretation	
Methylation class family Medulloblastoma group 3 and 4	0.99632	match	✓
MC family members with score >= 0.1			
Methylation class medulloblastoma, subclass group 3	0.99051		●

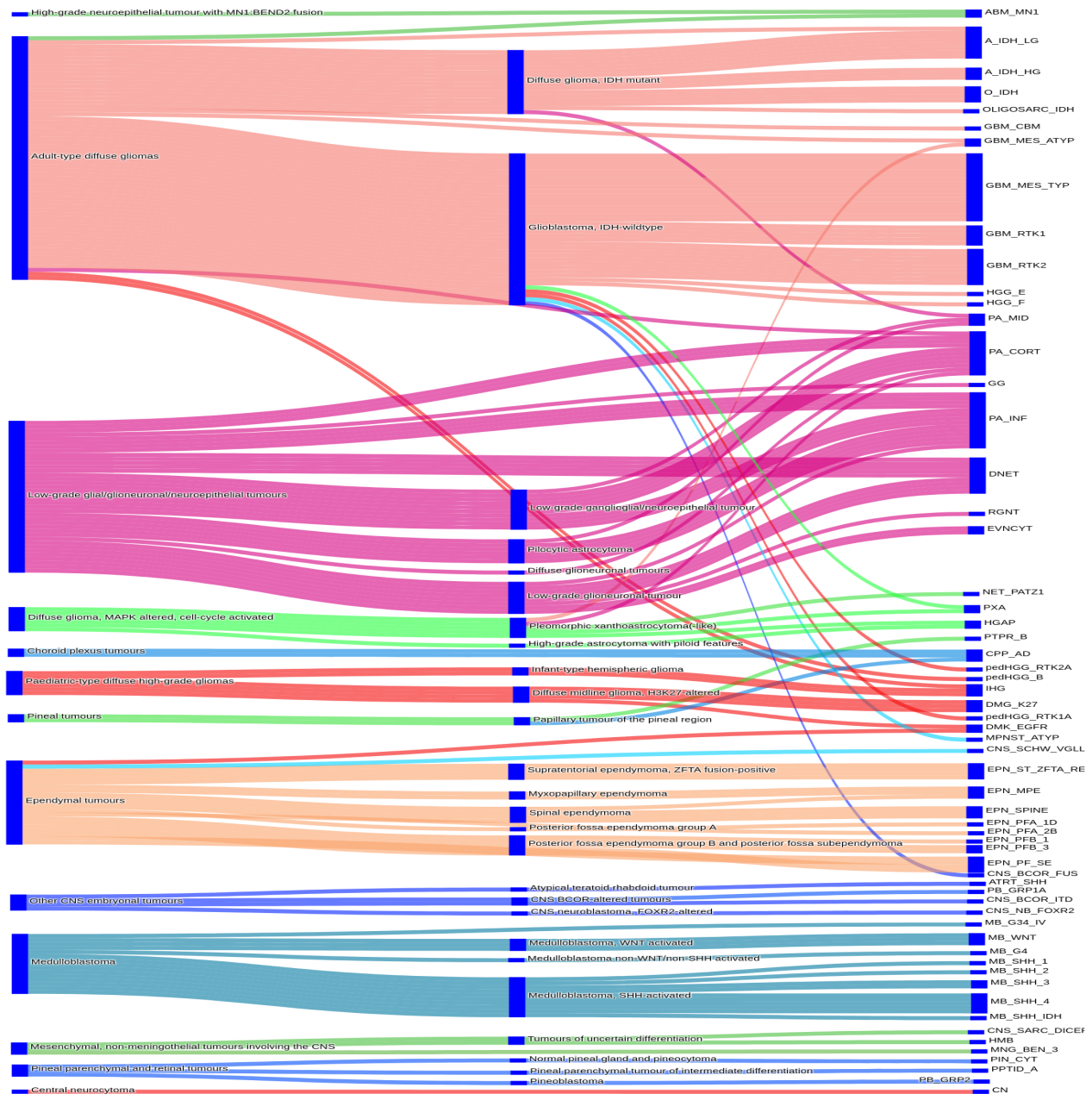
Legend: ✓ Match (score >= 0.9) ✗ No match (score < 0.9); possibly still relevant for low tumor content and low DNA quality cases. ● Match to MC family member (score >= 0.5)

Group descriptions:

Methylation class family Medulloblastoma group 3 and 4: The methylation class family "Medulloblastoma class 3 and 4" comprises the methylation classes medulloblastoma, class 3 and medulloblastoma, class 4.

Methylation class medulloblastoma, subclass group 3: The methylation class "medulloblastoma, subclass group 3" is comprised of tumors with the diagnosis medulloblastoma, genetically defined, group 3. Histologically most cases fall into the classical and large cell/anaplastic groups. Tumors are located in the cerebellum, typically in the vermis. Median age is 4 years (range 1 to 17). Group 3 medulloblastomas are more common in males than females. MYC amplification, aneuploidy, isochromosome 17q and GF11/1B activation by enhancer hijacking are recurrent features, but a fraction lack an obvious driving genetic change.

Annexe II : Correspondance entre le diagnostic intégré et le diagnostic méthylomique pour les sous-catégories a



Légende : Diagramme de Sankey montrant la redistribution des diagnostics en fonction des résultats du méthylome. Dans la plupart des cas, ce dernier apporte une précision diagnostique (sous-type tumoral). La super famille dans laquelle il existe le plus de re-classements est celle des tumeurs gliales/glioneuronales de bas grade. Ceci s'explique, en partie, par le fait que ces tumeurs présentent d'importants chevauchements morphologiques et qu'une altération moléculaire donnée peut correspondre à plusieurs types tumoraux, rendant le diagnostic histomoléculaire difficile.

Annexe III : Tableau de la cohorte pour les catégories I et II

Cas	Sexe	Age	Diagnostic intégré pré-méthylome	Méthylome V12.8	Score	C	Diagnostic final retenu
5	F	57	astroblastome	High-grade neuroepithelial tumour with MN1:BEND2 fusion	0.99	1a	tumeur neuroépithéliale de haut grade avec fusion MNT-BEND2
6	H	45	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal type	0.505	2b	glioblastome
8	H	48	gliome diffus de haut grade avec mutation IDH	Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type]	0.96	2a	astrocytome IDHm de haut grade
9	H	8	gliome diffus de la ligne médiane H3K27m	Diffuse midline glioma, H3 K27-altered, subtype EGFR-altered	0.99	2a	gliome diffus ligne médiane H3K27 altéré/EGFRaltéré
10	H	52	Astrocytome IDH muté de grade 3	Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type], high	0.98	1a	astrocytome IDHm haut grade
12	F	9	ependymome anaplasique	MC Posterior fossa group A (PFA) ependymoma, subclass 2b (novel)	0.96	2a	ependymome fosse postérieure de sous type A sous classe 2b
14	H	7	tumeur avec duplication tandem Bcor	Neuroepithelial tumour with BCOR internal tandem duplication	0.99	1a	tumeur avec duplication en tandem BCOR
16	F	53	oligodendrogliome IDHm, 1p19q co-déléte	MC Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	0.99	1a	oligodendrogliome IDHm, 1p19q co-déléte
24	F	4	tumeur gliale de haut grade de type pédiatrique	Infant-type hemispheric glioma	0.99	2a	Infant-type hemispheric glioma
25	H	13	tumeur glioneuronale à rosettes	Rosette-forming glioneuronal tumour	0.99	1a	tumeur glioneuronale à rosettes
26	H	62	oligodendrogliome IDHm, 1p19q co-déléte	MC Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	0.99	1a	oligodendrogliome IDHm, 1p19q co-déléte grade 3
27	H	56	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal type	0.81	2b	glioblastome de sous type mesenchymateux
29	H	44	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.94	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
30	F	4	astrocytome pilocytique	Supratentorial midline pilocytic astrocytoma	0.99	1a	astrocytome pilocytique
31	F	7	gliome bas grade infiltrant	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	2a	astrocytome pilocytique
32	H	67	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype	0.99	2a	glioblastome
33	H	64	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.99	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
34	H	43	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK2 type	0.95	2a	glioblastome de sous type RTK2
35	H	40	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.99	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
36	F	3	ATRT	Atypical teratoid rhabdoid tumour, SHH activated	0.99	2a	MC Atypical teratoid/rhabdoid tumour, SHH-subtype
37	F	58	glioblastome non muté avec fusion FGFR3	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.68	2b	Gliome avec fusion FGFR3, astrocytome anaplasique
38	H	5	DNET	Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	0.97	1a	DNET
39	H	10	ependymome anaplasique avec fusion RELA	MC Supratentorial ependymoma, ZFTA fusion-positive, subtype ZFTA	0.99	2a	ependymome anaplasique avec fusion ZFTA
41	H	1	medulloblastome SHH activé sous-classe 2	Medulloblastoma, SHH-activated, subtype 2	0.99	2a	medulloblastome SHH activé sous-classe 2
42	H	43	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype	0.98	2a	glioblastome de sous type RTK2
43	H	29	tumeur glioneuronale de bas grade infiltrant	Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	0.97	2a	DNET
45	H	49	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.99	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
48	F	27	sarcome indifférencié	Primary intracranial sarcoma, DICER1-mutant	0.99	1a	sarcome intracranien associé à la mutation DICER1
50	F	29	gliome hemispherique infantile NTRK3 fusion	Infant-type hemispheric glioma	0.99	1a	gliome hemispherique infantile NTRK3 fusion
52	F	12	astrocytome pilocytique	Pilocytic astrocytoma	0.97	1a	astrocytome pilocytique
57	H	50	glioblastome moléculaire	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.99	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
58	H	42	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal type	0.65	2b	glioblastome de sous type mesenchymateux
60	H	20	tumeur gliale/glioneuronale de bas grade	Low-grade glial/glioneuronal/neuroepithelial tumours	0.93	2a	tumeur glioneuronale de bas grade
61	F	18	ependymome	Myxopapillary ependymoma	0.99	1a	ependymome myxopapillaire
63	F	6	astrocytome pilocytique	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	2a	astrocytome pilocytique
64	H	61	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.63	2b	glioblastome avec fusion FGFR3
66	H	63	astrocytome IDHm de grade 3	Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type], high	0.99	1a	astrocytome IDHm de haut grade
67	H	63	tumeur papillaire de la région pinéale	MC Papillary tumour of the pineal region, subtype B	0.99	2a	tumeur papillaire de la région pinéale de sous type B
68	F	27	medulloblastome WNT activé	Medulloblastoma, WNT activated	0.99	1a	medulloblastome WNT activé
70	H	26	oligodendrogliome IDH2m/1p19qdel	MC Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	0.99	1a	oligodendrogliome IDHm, 1p19q co-déléte
71	F	8	medulloblastome non WNT/non SHH	Medulloblastoma Group 4	0.96	2a	medulloblastome non WNT/non SHH groupe 4
73	F	53	medulloblastome SHH-activer	Medulloblastoma, SHH-activated	0.99	2a	medulloblastome SHH active
74	H	12	tumeur gliale/glioneuronale de bas grade	Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	0.98	2a	DNET
75	F	32	XAP	Pleomorphic xanthoastrocytoma(-like)	0.93	1a	xanthoastrocytome pleomorphe
76	H	52	ependymome supraT fusion ZFTA	MC Supratentorial ependymoma, ZFTA fusion-positive, subtype ZFTA	0.85	2b	ependymome supratentoriel avec fusion ZFTA
77	H	9	astrocytome pilocytique avec fusion BRAF	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.97	2a	astrocytome pilocytique
78	F	68	tumeur glioneuronale FGFR-TACC1 fusion	Supratentorial pilocytic astrocytoma	0.96	2a	gangliogliome
79	H	10	XAP BRAFm	Diffuse glioma, MAPK altered, cell-cycle activated	0.65	1b	xanthoastrocytome pleomorphe braf muté grade 3
80	F	32	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK2 type	0.90	2a	glioblastome de sous type RTK2
81	F	31	tumeur gliale/glioneuronale de bas grade	Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	0.99	2a	DNET
82	H	70	ependymome fosse postérieure	Ependymal tumours	0.93	2a	ependymome de la fosse postérieure
83	H	20	tumeur gliale de bas grade	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.96	2a	astrocytome pilocytique
84	H	54	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.99	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
85	H	65	ependymome spinal	Spinal ependymoma	0.99	1a	ependymome spinal
89	H	60	tumeur gliale de haut grade	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK1 type	0.99	2a	glioblastome de sous type RTK1
91	H	44	oligodendrogliome IDHm, 1p19q co-déléte	MC Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	0.99	1a	oligodendrogliome IDHm, 1p19q co-déléte
101	H	15	tumeur gliale bas grade avec altération MAPK	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.97	2a	astrocytome pilocytique
102	H	62	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK2 type	0.99	2a	glioblastome de sous type RTK2
104	F	35	Gliome diffus de la ligne médiane H3K27m muté	Diffuse midline glioma, H3 K27-mutant / EZHIP overexpressing	0.99	2a	gliome diffus de la ligne médiane H3K27m
105	F	54	glioblastome IDH non muté	Glioblastoma, IDH-wildtype	0.53	1b	glioblastome de sous type RTK2
106	F	9	glioneuronale bas grade	Ganglioglioma	0.72	2b	gangliogliome
107	F	10	DNET	Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	0.94	1a	DNET
108	F	7	ependymome fosse postérieure de sous type A	Posterior fossa ependymoma group A1	0.99	2a	ependymome de la fosse postérieure groupe A1
111	H	52	medulloblastome nodulaire/desmoplasique SHH activé	Medulloblastoma, SHH-activated, subtype 4	0.99	2a	medulloblastome SHH activé de sous type 4
113	F	1	medulloblastome	MC Medulloblastoma, non-WNT/non-SHH, Group 3 subtype, subclass	0.99	2a	medulloblastome non WWNT/ non SHH groupe 3 sous catégorie 4
115	F	24	gliome diffus pédiatrique bas grade avec activation MAP-kinase	Low-grade glial/glioneuronal/neuroepithelial tumours	0.74	1b	gliome diffus pédiatrique bas grade avec activation MAP-kinases
120	H	40	DNET/PLNTY/gliome diffus avec altération MAP_kinase	Low-grade glioneuronal tumour	0.59	2b	DNET/PLNTY/gliome diffus avec altération MAP_kinase
122	F	10	tumeur gliale diffus de bas grade	Low-grade glial/glioneuronal/neuroepithelial tumours	0.92	2a	gliome diffus de bas grade
123	F	13	astrocytome pilocytique	Supratentorial midline pilocytic astrocytoma	0.81	1b	astrocytome pilocytique
125	F	44	medulloblastome nodulaire/desmoplasique SHH activé P53 non muté	Medulloblastoma, SHH-activated	0.99	2a	medulloblastome nodulaire/desmoplasique SHH activé P53 non muté
126	H	6	astrocytome pilocytique	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	2a	astrocytome pilocytique infratentoriel
127	H	51	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK2 type	0.99	2a	glioblastome de sous type RTK2
135	F	33	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.99	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
136	H	10	medulloblastome nodulaire/desmoplasique SHH-activer-P53w	Medulloblastoma, SHH-activated	0.59	1b	medulloblastome nodulaire/desmoplasique SHH activé P53 non muté
137	F	15	DNET	MC Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	0.78	1b	DNET
142	F	12	astrocytome pilocytique	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.96	2a	astrocytome pilocytique
143	F	79	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.97	2a	glioblastome
144	F	43	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.99	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
146	F	3	astrocytome pilocytique	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.71	1b	astrocytome pilocytique
147	F	46	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.99	2a	glioblastome
148	H	3	ependymome anaplasique	MC Supratentorial ependymoma, ZFTA fusion-positive, subtype ZFTA	0.99	2a	ependymome supratentoriel avec fusion ZFTA
149	F	23	ependymome myxopapillaire	Myxopapillary ependymoma	0.99	1a	ependymome myxopapillaire
150	H	14	tumeur gliale diffus de haut grade	High-grade diffuse glioma of the midline/posterior fossa; H3/IDH-wild	0.93	2a	glioblastome de sous type fosse postérieure
151	F	61	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK2 type	0.95	2a	glioblastome de sous type RTK2
154	H	34	pinéocytome	Pineocytoma	0.96	1a	pineocytome
155	H	47	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.99	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
158	F	51	tumeur gliale diffus de haut grade	Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal type	0.98	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
159	H	64	subependymome	Posterior fossa subependymoma	0.99	2a	sub-ependymome de la fosse postérieure
160	F	45	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK1 type	0.99	2a	glioblastome de sous type RTK1

161	F	64	schwannome	MC Schwannoma	0.72	1b	Schwannome
162	F	30	astrocytome IDHm grade 4	MC Astrocytoma, IDH-mutant; high grade	0.57	1b	astrocytome IDH muté de haut grade
164	H	56	ependymome fosse postérieure groupe B	Posterior fossa ependymoma group B	0.93	2a	ependymome fosse postérieure de sous type B
165	F	1	gliome hémisphérique infantile	Infant-type hemispheric glioma	0.99	1a	gliome hémisphérique infantile
166	F	4	ganglioneuroblastome FOXR2-activé	CNS neuroblastoma, FOXR2-altered	0.99	1a	ganglioneuroblastome FOXR2 active
167	H	26	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.97	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
168	H	20	tumeur gliale de bas grade	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.92	2a	astrocytome pilocytique
169	H	15	tumeur glioneuronale bas grade	Extraventricular neurocytoma	0.99	2a	neurocytome extra ventriculaire
170	H	24	medulloblastome SHH activé	Medulloblastoma, SHH-activated, subtype 4	0.93	2a	medulloblastome SHH activé de sous type 4
175	F	11	Gliome diffus de la ligne médiane H3K27M muté	Diffuse midline glioma, H3K27-mutant / EZHIP overexpressing	0.98	2a	Gliome diffus de la ligne médiane H3K27M muté
176	F	32	Ependymome spinal de grade 2	Spinal ependymoma	0.99	1a	ependymome spinal
178	H	74	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.81	2b	glioblastome
179	F	66	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK2 type	0.96	2a	glioblastome de sous type RTK2
183	H	67	Glioblastome moléculaire.	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK1 subtype	0.70	2b	glioblastome
184	F	7	medulloblastome SHH-active	Medulloblastoma, WNT activated	0.99	1a	medulloblastome WNT activé
185	H	64	glioblastome IDH non muté	High-grade diffuse glioma of the midline/posterior fossa; H3/IDH-wildtype	0.73	2b	glioblastome
187	H	1	medulloblastome SHH activé	Medulloblastoma, SHH-activated, subtype 1	0.99	2a	medulloblastome SHH activé sous type 1
188	H	15	un gliome de haut grade	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype, subclass B (novel)	0.69	2b	glioblastome
189	H	10	medulloblastome SHH activé	MC Medulloblastoma, SHH-activated, subclass 3 (novel)	0.82	2a	medulloblastome SHH activé sous classe 3
190	F	53	astrocytome IDHm grade 3	Diffuse glioma, IDH-mutant and 1p19q retained [astroglial type], high grade	0.99	1a	astrocytome IDHm de grade 3
191	H	1	tumeur térétoïde rhabdoïde atypique	MC Atypical teratoid/rhabdoid tumour, TYR-subtype	0.87	2b	tumeur térétoïde rhabdoïde atypique
192	H	24	DNET	Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	0.94	1a	DNET
193	F	57	gliome haut grade difficile à classer	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.52	2b	gliome de haut grade
195	H	24	astrocytome haut grade avec aspects piloides	High-grade astrocytoma with piloid features	0.94	1a	astrocytome haut grade avec aspects piloides
198	H	36	medulloblastome SHH activé	Medulloblastoma, SHH-activated	0.99	2a	medulloblastome SHH activé
199	F	53	gliome diffus de haut grade IDH non muté	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.64	2b	gliome diffus de haut grade
200	H	51	papillome des plexus choroïdes	MC Choroid plexus papilloma, adult subtype (novel)	0.99	2a	papillome des plexus choroïdes
201	F	68	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK2 type	0.82	2b	glioblastome de sous type RTK2
202	H	35	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.99	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
204	F	45	tumeur épendymaire	Ependymal tumours	0.58	1b	épendymome
205	F	69	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.99	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
206	H	48	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK2 type	0.99	2a	glioblastome de sous type RTK2
207	H	22	neurocytome central atypique	Central neurocytoma	0.99	1a	neurocytome central atypique
210	F	54	glioblastome IDH non muté épithélioïdes	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.92	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
213	H	41	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.73	2b	glioblastome de sous type mesenchymateux
214	F	32	medulloblastome SHH activé	Medulloblastoma, SHH-activated	0.97	2a	medulloblastome SHH activé
215	F	42	épendymome myxopapillaire	Myxopapillary ependymoma	0.68	1b	épendymome myxopapillaire
217	H	68	tumeur pinéal à différenciation intermédiaire	MC Pineal parenchymal tumour of intermediate differentiation, KBTB	0.99	2a	tumeur du parenchyme pinéale KBTD4 altéré, sous type A
220	H	63	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype	0.98	2a	glioblastome
222	H	18	medulloblastome SHH activé	Medulloblastoma, SHH-activated, subtype 3	0.92	2a	medulloblastome SHH activé sous groupe 3
223	H	13	DNET	MC Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	0.53	1b	DNET
224	F	66	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK1 type	0.99	2a	glioblastome de sous type RTK1
226	F	11	ependymome supratentoriel avec fusion ZFTA	MC Supratentorial ependymoma, ZFTA fusion-positive, subtype ZFTA	0.99	2a	ependymome supratentoriel avec fusion ZFTA
227	F	2	astrocytome pilocytique	MC Pilocytic astrocytoma, infratentorial	0.99	2a	astrocytome pilocytique
228	H	15	Gliome diffus de la ligne médiane H3K27M muté	Diffuse midline glioma, H3K27-mutant / EZHIP overexpressing	0.99	2a	Gliome diffus de la ligne médiane H3K27M muté
229	F	37	papillome atypique des plexus choroïdes	MC Choroid plexus papilloma, adult subtype (novel)	0.99	1a	papillome atypique des plexus choroïdes
230	F	7	astroblastome MN1 altéré	High-grade neuroepithelial tumour with MN1:BEND2 fusion	0.53	1b	astroblastome MN1 altéré
231	F	55	ependymome fosse postérieure groupe B	MC Posterior fossa group B (PFB) ependymoma, subclass 1 (novel)	0.98	2a	ependymome de la fosse postérieure de sous type B
232	F	16	pinealoblastome	Pineoblastoma, miRNA pathway altered, group 2	0.99	2a	pinéaloblastome
233	F	68	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.91	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
234	H	23	tumeur gliale ou glioneuronale de bas grade	Low-grade glial/glioneuronal/neuroepithelial tumours	0.91	2a	tumeur gliale/glioneuronale
238	H	38	neurocytome extra ventriculaire	Extraventricular neurocytoma	0.93	1a	neurocytome extra ventriculaire
240	F	49	épendymome supratentoriel ZFTA-fusionné	MC Supratentorial ependymoma, ZFTA fusion-positive, subtype ZFTA	0.98	2a	ependymome supratentoriel avec fusion ZFTA
241	F	18	tumeur gliale/glioneuronale de bas grade	Low-grade glial/glioneuronal/neuroepithelial tumours	0.97	2a	astrocytome pilocytique
242	F	35	medulloblastome WNT activé	Medulloblastoma, WNT activated	0.99	1a	medulloblastome WNT activé
244	F	65	glioblastome IDH non muté	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK1 type	0.89	2b	glioblastome de sous type RTK1
245	H	39	ependymome spinal	Spinal ependymoma	0.99	1a	ependymome spinal
246	H	56	tumeur glioneuronale à rosette	MC Rosette forming glioneuronal tumour	0.55	1b	tumeur glioneuronale à rosette
247	H	14	astrocytome pilocytique	Low-grade glial/glioneuronal/neuroepithelial tumours	0.69	1b	astrocytome pilocytique
249	H	66	glioblastome	MC Glioblastoma, IDH-wildtype, mesenchymal subtype	0.93	2a	glioblastome de sous type mesenchymateux
251	F	37	ependymome fosse postérieure de groupe B	MC Posterior fossa group B (PFB) ependymoma, subclass 3 (novel)	0.99	2a	ependymome fosse postérieure de sous type B sous classe 3
253	F	43	glioblastome	Glioblastoma, IDH-wildtype, RTK1 type	0.98	2a	glioblastome de sous type RTK1
254	H	30	tumeur gliale/glioneuronale de bas grade	Low-grade glioneuronal tumour	0.95	2a	tumeur gliale/glioneuronale de bas grade

C : catégorie, DNET : *dysembryoplastic neuroepithelial tumour* (tumeur neuroépithéliale dysembryoplasique), MC : *methylation class* (terminologie utilisée par le DFKZ pour désigner la sous classe), XAP : *xanthoastrocytome pléomorphe*, ATRT : *tumeur rhabdoïde térétoïde atypique*.

Apport du méthylome dans le diagnostic des tumeurs primitives du système nerveux central

RÉSUMÉ

Introduction : Le diagnostic histomoléculaire, ou « intégré », est devenu central dans la classification des tumeurs du système nerveux central (SNC). Le méthylome y occupe une place croissante, notamment en pédiatrie. Le but de ce travail était d'évaluer l'apport du méthylome en Neuro-Oncologie depuis sa mise en place dans le département de Pathologie du CHU d'Angers.

Matériel et Méthodes : Notre cohorte rétrospective comprenait 256 tumeurs du SNC ayant fait l'objet d'un diagnostic intégré avec analyse du profil de méthylation. Le diagnostic proposé par l'algorithme du méthylome a été comparé au diagnostic intégré pré-méthylomique. Les cas ont été répartis en 5 catégories : catégorie I : diagnostics concordants ; II : apport d'une précision diagnostique ; III : diagnostic méthylomique différent mais au sein de la même famille de tumeurs ; IV : diagnostics discordants ; V : méthylome non contributif. Les cas discordants ont été revus afin de formuler un diagnostic final en faveur ou non du diagnostic proposé par l'algorithme.

Résultats : Dans 19% des cas, le diagnostic méthylomique était parfaitement concordant avec le diagnostic pré-méthylomique (catégorie I) et dans 41% des cas, il apportait une précision diagnostique (catégorie II). Dans 9% des cas, le diagnostic méthylomique était partiellement discordant (catégorie III) et dans 17% des cas, il était discordant (catégorie IV). Parmi les 45 cas de la catégorie IV, seuls 26 étaient réellement discordants. Dans 15 cas (5,8%), les résultats du méthylome ont amené à réviser le diagnostic intégré initial. Dans 14% des cas, le diagnostic méthylomique était non contributif.

Conclusion : Dans 60% des cas, les diagnostics histomoléculaire et méthylomique étaient concordants. Dans seulement 5,8% des cas, les résultats du méthylome ont réellement modifié le diagnostic retenu. Le méthylome est un outil précieux pour confirmer et affiner le diagnostic des tumeurs du SNC. Cependant, il est indispensable de corréler les résultats obtenus aux données clinico-radiologiques, histopathologiques et moléculaires autres.

Mots-clés : tumeur, système nerveux central, méthylome, diagnostic, biologie moléculaire

Contribution of DNA methylation profiling to the diagnosis of primary central nervous system tumors

ABSTRACT

Introduction: Histomolecular or "integrated" diagnosis is central to the classification of central nervous system (CNS) tumors. DNA methylation profiling plays a growing role in the classification, especially in pediatric tumors. The aim of this work was to assess the contribution of methylation profiling to the diagnosis of CNS neoplasia since its implementation in the Department of Pathology of Angers University Hospital.

Material and methods: Our retrospective cohort comprised 256 CNS tumors, diagnosed by histopathology, conventional molecular techniques, and DNA methylation array. We compared the histo-molecular diagnosis with that provided by methylation profiling. Five categories were defined: category I: concordant diagnostics; II: methylation profiling offered a diagnostic precision; category III: partially discordant diagnostics (but still within the same family of CNS tumors); category IV: discordant diagnostics; category V: non-contributory methylation profiling.

Results: 19% of cases fell into category I, 41% in category II, 9% in category III, 17% in category IV, and 14% in category V. In category IV, only 26 out of 45 cases were truly discordant. In 5.8% of all the cases, methylation profiling led to a significant change in the final diagnosis.

Conclusion: Overall, the two diagnoses were concordant in 60% of cases. In only 5.8% of cases was the final diagnosis revised based on the methylation profiling. The latter is a reliable tool to make and refine histo-molecular diagnoses in Neuro-Oncology. Nonetheless, taking into account clinical, radiological, histopathologic, and other molecular data is essential to reach the correct diagnosis.

Keywords: tumor, central nervous system, DNA methylation array, diagnostic, molecular biology