

JOURNÉES DU
GFCO 10^e ÉDITION

Biomarqueurs et analyses moléculaires en oncologie

Avec la participation
scientifique du



ATELIER : Apport des analyses de méthylation dans la routine

Pr Hélène BLONS, Paris & Pr Emmanuelle URO-COSTE, Toulouse

Avec la participation
scientifique du



Approches ciblées d'analyse de la méthylation de l'ADN

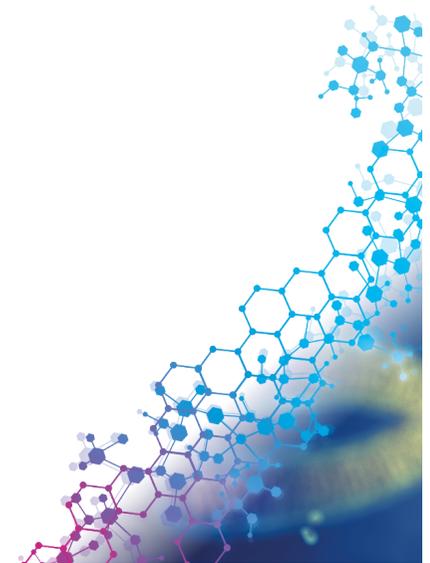
Pr Hélène BLONS,

Département de Médecine Génomique des Tumeurs et Cancers site HEGP, Paris

JOURNÉES DU
GFCO 10^e ÉDITION
Biomarqueurs et analyses moléculaires en oncologie

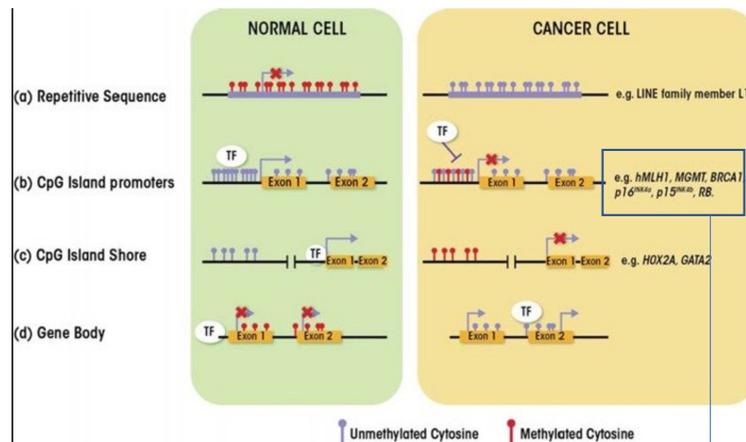
LIENS D'INTÉRÊT

- **Pr Hélène Blons ; boards scientifiques et formations pour ROCHE, BMS, AstraZeneca, Lilly, MSD, Janssen, Amgen**



Méthylation de l'ADN - Cancer

- Hypométhylation globale / liée instabilité génétique
- Hyperméthylation de gènes du cancer



Interroger un très grand nombre de site : Méthylome / profil

Reflet global du « pattern » épigénétique de la cellule T

- Lié au tissu d'origine
- Stable

Interroger un ou des marqueurs ciblés

Modifications épigénétiques ayant conduit/participant à l'oncogénèse

- Dynamique

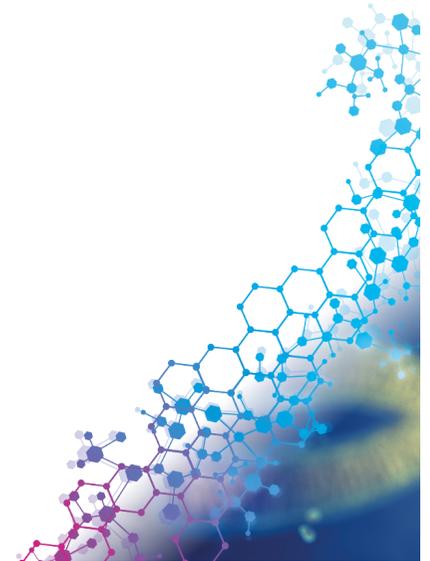
Rôles

- Diagnostique
- Pronostique
- Prédicatif de réponse



Question 1 : Avez-vous mis en place en routine une/plusieurs méthodes de détection de la méthylation de l'ADN

- **Oui des méthodes ciblées**
- **Oui des méthodes non ciblées**
- **non aucune méthode**
- **En projet**

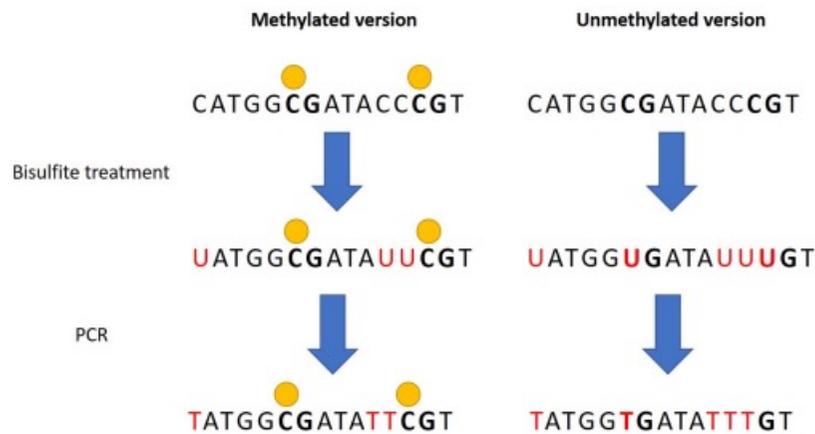
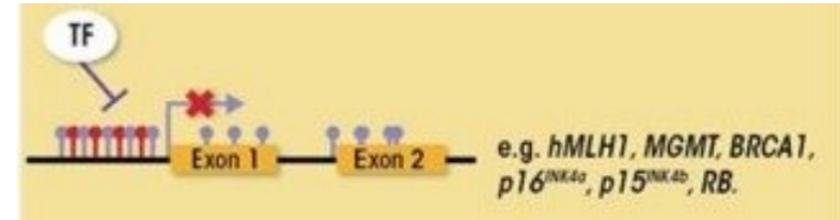


Testing méthylation / état des lieux

■ Les Biomarqueurs ciblés

- **MGMT, MLH1, BRCA1, RAD51C ...**
- Marqueurs tumeur spécifique pour la détection de l'ADNt

■ La recherche ciblée de marqueurs méthylés passe souvent par une transformation au bisulfite

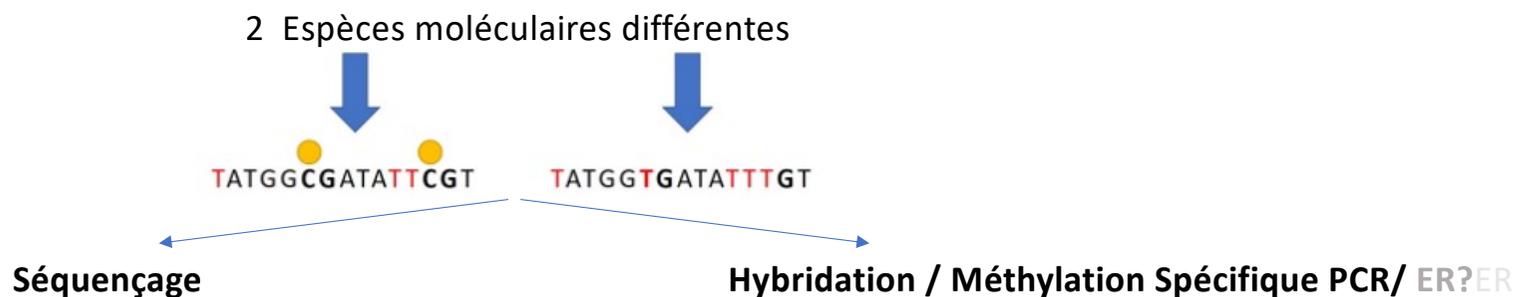


Transformer une information épigénétique en une information génétique

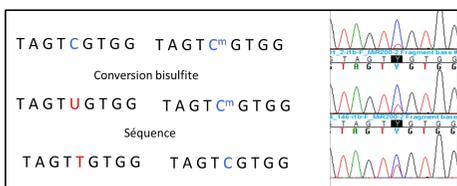
Modification la séquence en fonction de la méthylation des cytosines

Toutes les méthodes classiques de caractérisation de l'ADN

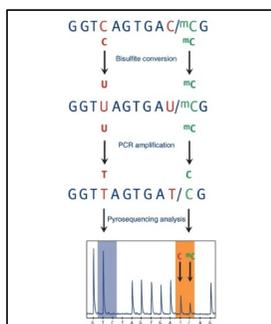
Différentes stratégies de détection / méthodes ciblées (exemples)



- Sanger

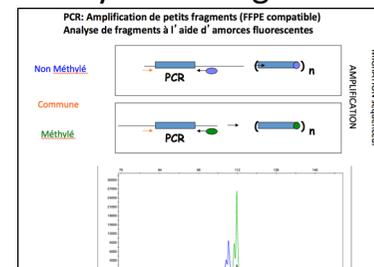


- Pyroseq

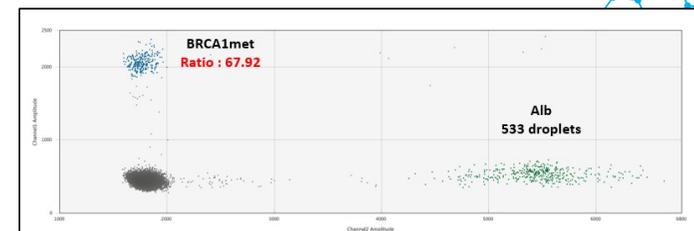


- Résolution (CpG individuels ou non)
- Quantification
- Autres critères coût/technique

- Analyse de Fragment



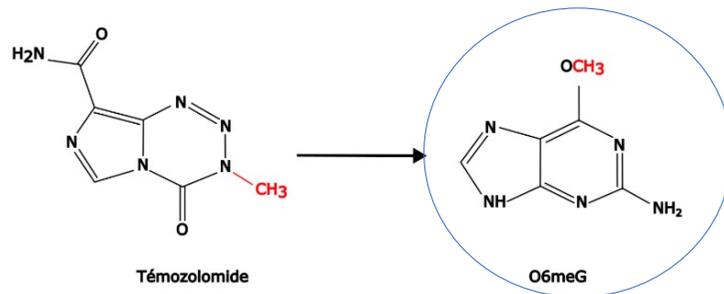
- qPCR
- ddqPCR...



O⁶-methylguanine-DNA methyl-transferase (MGMT)

■ Réparation des lésions induites par les agents alkylants

TMZ: transfert de groupements méthyles sur les positions N7 ou O6 des guanines et N3 des adénines



Effet cytotoxique

Prise en charge par réparation direct par MGMT

- La méthylation est associée à une expression faible/nulle de la protéine MGMT
- Association avec la sensibilité aux alkylants (TMZ) ?
- Tumeurs cérébrales
- NETs?



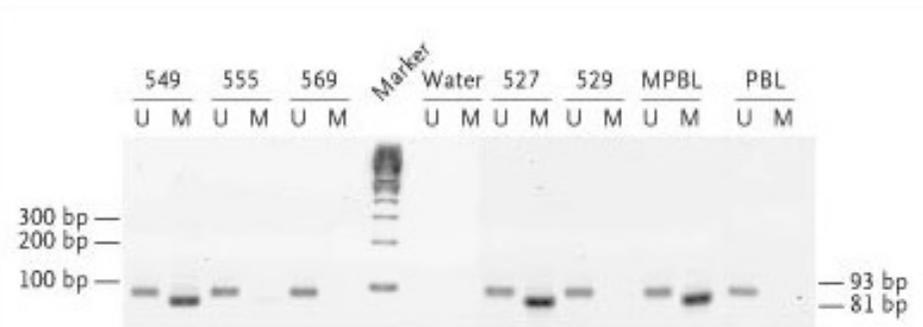
O⁶-methylguanine-DNA methyl-transferase (*MGMT*) MGMT Promoter Methylation in Glioma: ESMO Biomarker Factsheet

- Methylation of the *MGMT* gene promoter has been observed in approximately 50% of grade IV gliomas
- 'Stupp trial' = 1^{er} association *MGMT* méthylation et réponse au TMZ

Hegi et al. MGMT Gene Silencing and Benefit from Temozolomide in Glioblastoma

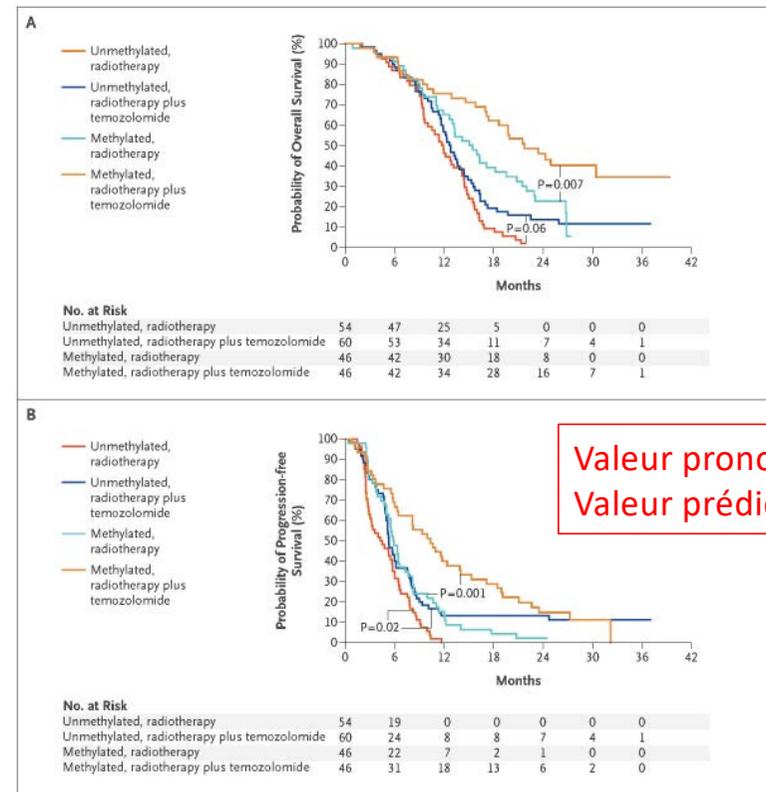
- Radiothérapie
- Radiothérapie + TMZ

Methylation specific PCR



<https://oncologypro.esmo.org/education-library/factsheets-on-biomarkers/mgmt-promoter-methylation-in-glioma>

DOI: 10.1056/NEJMoa043331



O⁶-methylguanine-DNA methyl-transferase (MGMT) MGMT Promoter Methylation in Glioma: ESMO Biomarker Factsheet

■ Sélection des patients

- Tous les patients GBM
- Valeur pronostique ++
- Valeur prédictive *possible*



■ Patients MGMT non méthylé / agés > 65 ans

- Évaluation du bénéfice/risque en lien avec l'évaluation clinique
- grade II/III gliomas impact de la méthylation sur le bénéfice attendu du TMZ?
 - Impact des autres marqueurs pronostiques 1p/19q codeletion and/or IDH mutation
 - Pas de choix thérapeutique basé sur la méthylation pour les LGG



hMLH1-recommandations INCA : évaluation du statut MMR tumoral

Tests complémentaires pour le diagnostic différentiel syndrome de Lynch (ou CMMRD) / tumeur sporadique

POURQUOI ? : La détection de la perte d'expression de MLH1 : non-spécifique (Lynch/sporadique)
Pour orienter un patient porteur d'une tumeur dMMR vers une consultation d'oncogénétique

RECOMMANDATION : une analyse complémentaire avant d'orienter le patient vers une consultation d'oncogénétique

Hyperméthylation du promoteur de MLH1 permet d'exclure un syndrome de Lynch

- Cancers colorectaux

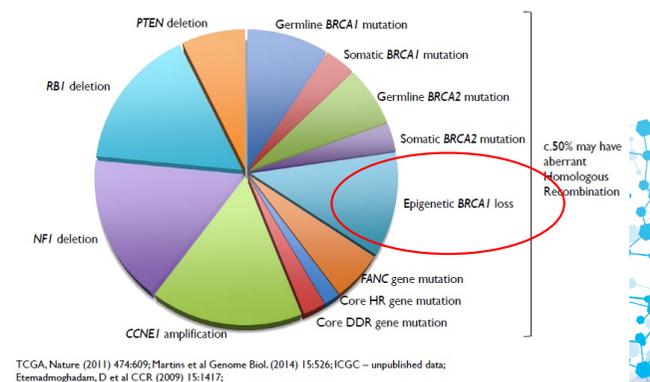
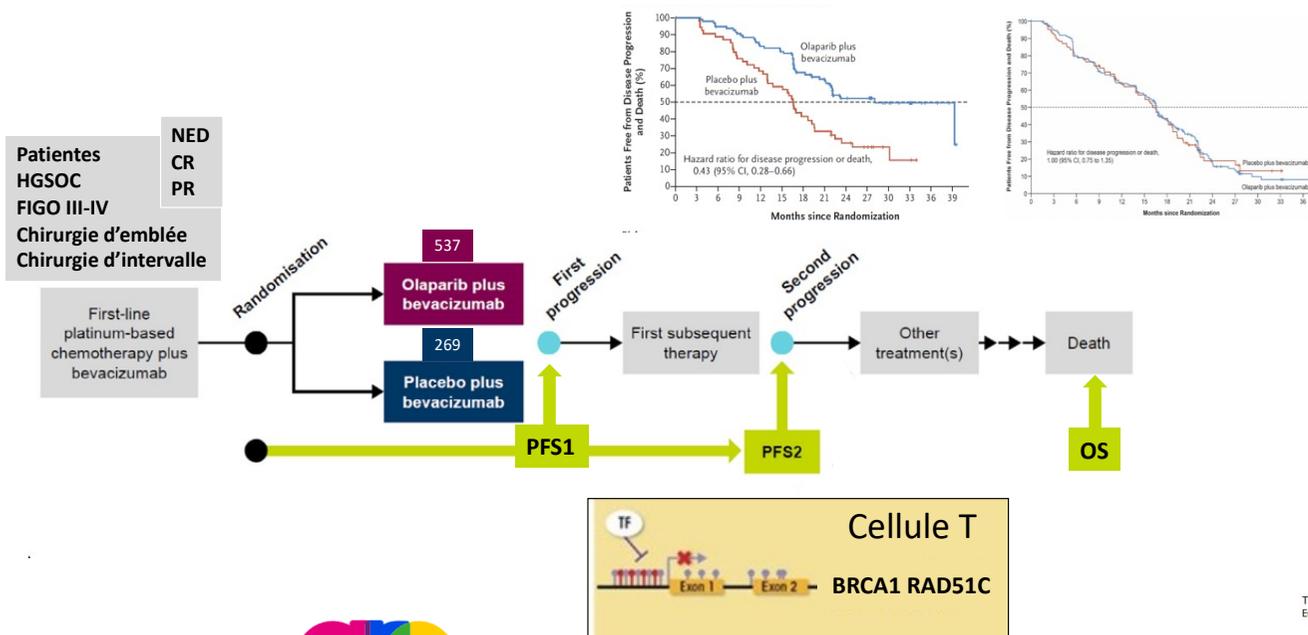
Pour les **CRC hMLH1 méthylés** > la mutation V600E de BRAF est un bon prédicteur négatif de syndrome de Lynch.

- Cancers de l'endomètre (sensibilité > MSI pentaplex)
- Autres type de cancers (estomac, T ampullaires, ovaire); hyperméthylation du gène MLH1 **est évocatrice** d'une tumeur sporadique et ne permet pas d'exclure un syndrome de Lynch



BRCA1/RAD51C méthylation score HRD et HGSOC

Sans mutation BRCA



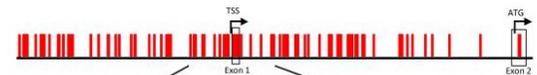
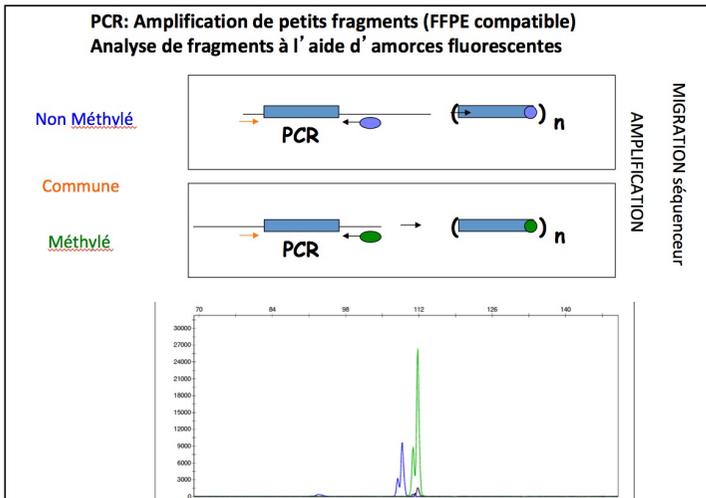
Fondation pour la recherche sur le cancer **arc**
Programmes Labellisés; Ray-Coquard I

WP2 – Molecular analysis and generation of omics data for PAOLA-1 patients (IC & HEGP)

BRCA1 and RAD51 methylation impact on outcome in patients with advanced ovarian cancer: A PAOLA-1 ancillary study.

https://doi.org/10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.555; Ray-Coquard I. L., et al NEJM



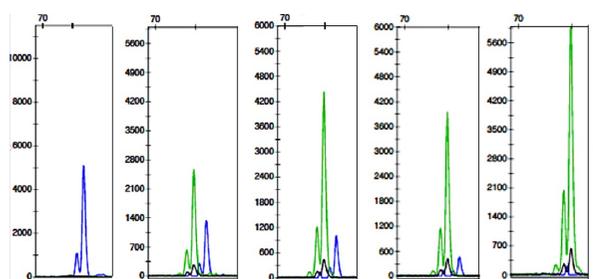


Location of the primers used to detection BRCA1 methylation on the promoter region

```
CAGGCCACTGACCTTACAAGACTACTTCCCCAGACTCCTGGGGCTGGATGGGAATTGTAGTCTCCCTAAAGAGTTGTACGTATCTT
TTTAAGGCCTAGTTTCTGCTTTCAAATACGAAAACATAACACTCCAGTCCATAACTGTGACAAAGTACAAGCGGGCACAGGTCTCC
AATCTATCCACTGGATTCCGTGAGAATTGTGCCCGCTCTGGTATTGGATGTTCTCTCCATAAGACTACAGTTTCTAAGGAACACT
GTGGCGAAGACCTTTCATCCGCAACGCTAGCTGGAATAATATTTCCCTCCACCCCCCAACAATCCTTATTACTTATTTACC
GAAACTGGAGACCTCCATTAGGGCGAAGAGTGGGGGATTGGGACCTCTTCTACGACTGCTTTGGACAATAGGTAGCGATTCTGA
CCTTCGTACAGCAATTACTGTGATGCAATAAGCCCACTGGAAGAGTAGAGGTAGAGGGCAGGCCTTTATGGCAAACTCAGGTA
GAATTCCTCCTCTCCGTCTCTTTTCTTTA GTCATCCGGGGCGAGACTGGGTGGCAATCCAGAGCCCAGAGAGA GCTTGGCTC
TTCTGTCCCTCCCATCCTGTATTGTA CTTGATTTCTGATTCTGAGAGG TGCTGCTTAG GGTAGCCCTGGATTCT GTGGCA
A GGAAGAAGCGGGGAATTACAGATAAATTAATACTGACTGCGGGGTGAGCTGAGACTTCTGGAAGGGGGAAGGCTG
TGGGTTTCTAGATACTGGGCCCTGCTCAGGAGGCTTCCACCTCTGCTCTGGGTAAAGGTAGTAGAGTCCGGAAAGGGA
CAGGGGGCCCAAGTGTGCTCTGGGTACTGGCTGGGAGATGGATTCCGAAGCTGACAGATGGGTATTTCTTTGACGG
```

Location of the primers used to detection RAD51C methylation on the promoter region

```
GATCATTCCTATTAAAGACTCTGAGGCTTACACTAACAGGCCACGGTGGAGGCAAGGAAATGTGGCTGGAGAACCACCTGGG
CCTGGCTCTCCGCTATGGCTCCGTCCTGTTTACAGTCAGGGGTGACATTTGATGAGGAATCTCTAAATGGGATTTTG
GGAAATCAAAACGGAAATGCTGATAAGTGTGAAAAATTAAGACTGCGCAAGCTGCAAGGCCCGGAGCCCGCTGCGGCCAG
GC GAGAGCGGCCCTTCGCTTACGTCTGACGTACGCCGACGCCACGCCAGCGAGGGCGTGGGAGTTTGGCTGCTCCGG
GGTTAGCAGGTGAGCCTGCGATGCGCGGAAAGACTGCTCCGCTTGGAAATGAGCGGATTGTTGATGTTTCCGCTGTCTCA
GCGTGGCGGTGAAGCTGTGTCTGCGGGTCCAGACTGCTGAGGAATCTCTAGAGCTGAACCCCTCCGAGCTTAGCAAAG
TAACGACTCTGTATGGCAAGCTGAGGCACACCGGCCCGCTCAGCGCCGCTCAGTCTTCTGCTCTCCGCTCGGCCCTCAGC
```



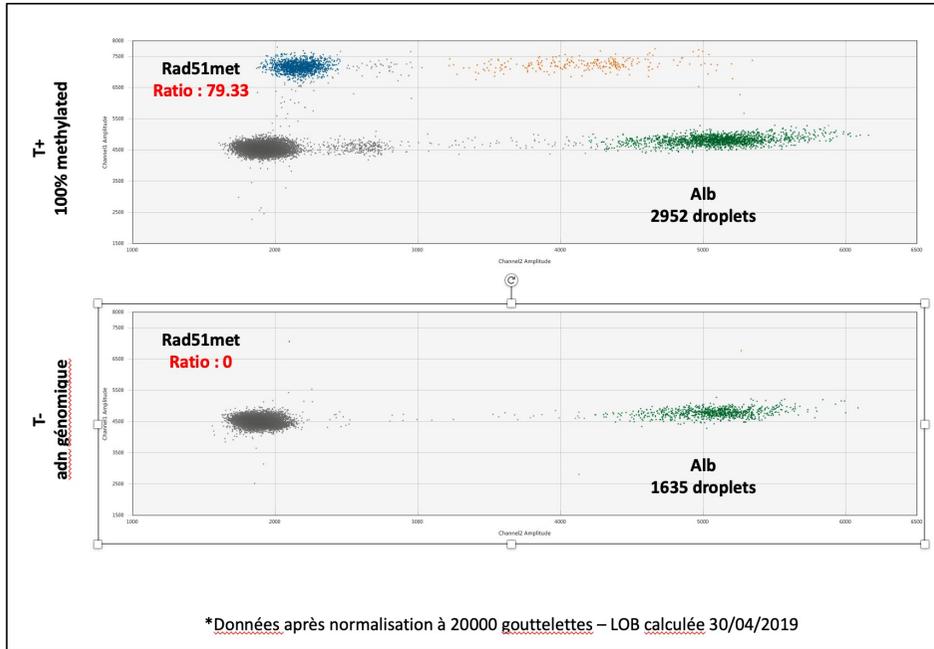
sample	Meth pick height	Unmeth pick height	ratio
100pMeth	5100	0,1	100,00%
20pMeth	1340	2500	34,90%
10pMeth	1000	4000	20,00%
5pMeth	470	3960	10,61%
0pMeth	25	6000	0,41%
Tgeno	25	20000	0,12%

Choix des amorces

- Le choix des amorces / analyse des données de la littérature > régions déjà décrites comme étant hyperméthylées dans les cancers de l'ovaire
- 3 amorces par amplicon: deux amorces spécifiques du statut méthylé ou non-méthylé localisées sur la même séquence et une amorce universelle dans une région sans îlots CpG
- les amorces spécifiques sont marquées par deux fluorophores différents en 5' de l'amorce (VIC et FAM)
- la taille des amorces spécifiques diffère de quelques bases de façon à bien différencier les fragments
- 3 régions sur le promoteur de BRCA1 et 2 pour RAD51C
- MethPrimer



ddPCR



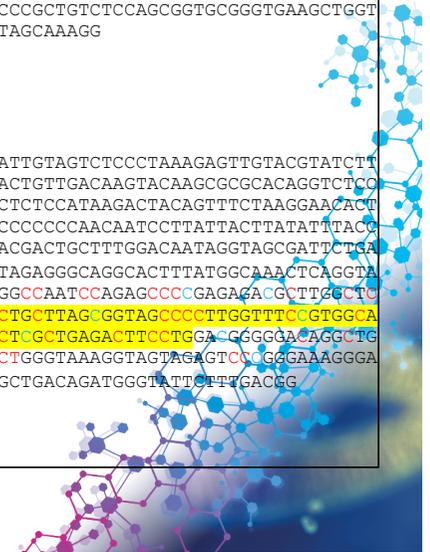
QPCR Biorad

Sonde ddPCR RAD51C

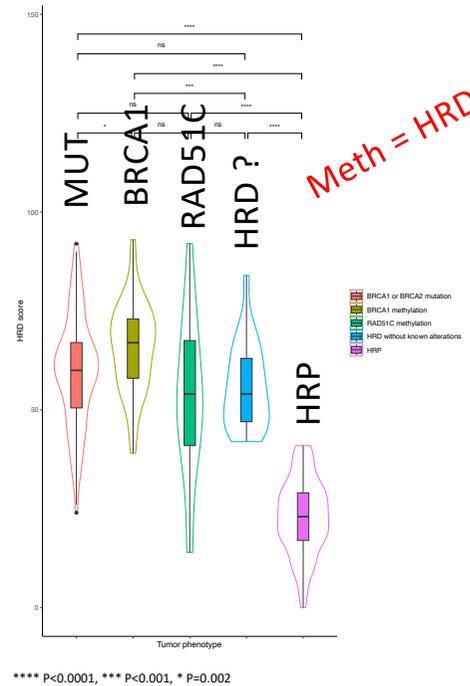
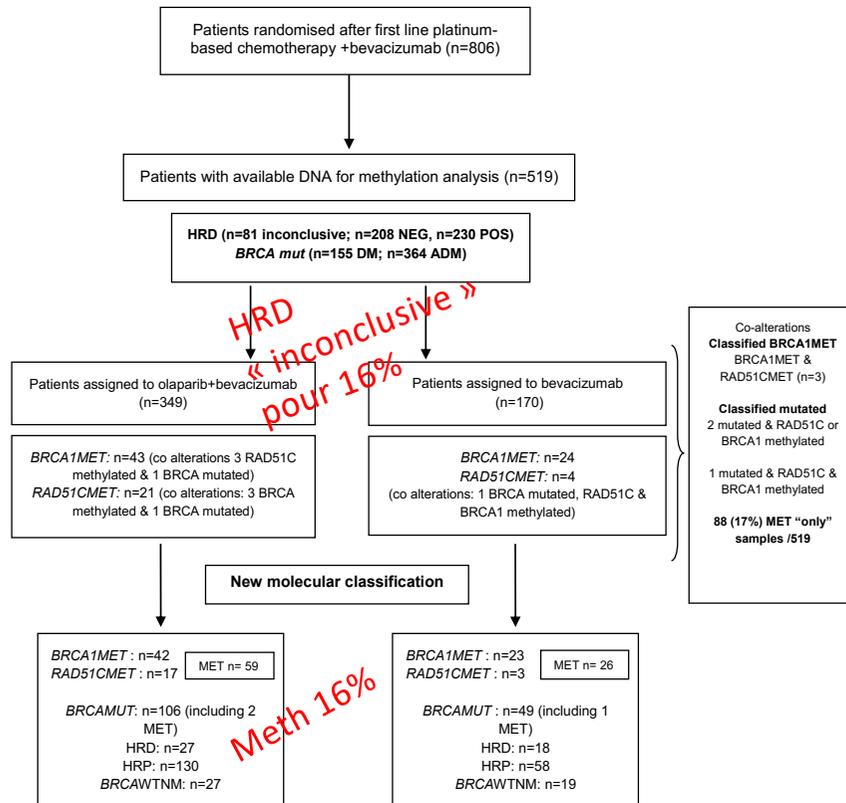
GATCATTCCCTATTAATGACTCTGAGGCTTCACCTAACAGGCCACGGTGGAGGCAAGGAAATGTGGCGTGGAGAACCCTGGGCCCTG
GCTCTCCGTCCTATGGTCTCCGTCATCGTTTTACAGTCAGGGGTGTACATTTGATGAGGAATCTCTAAATGGGATTTTGGGGAATCA
AAACGGAATGGTGCATAAGGTGAAAATTTACAAGACTGCGCAAAGCTGCAAGGCCCGGAGCCCGTGGCCAGGCAGAGCCG
GCCCCCTCCGCTTACGCTGACGTCACGCCGACGCCCCAGCGAGGGCGTGGGAGTTTGGCTGCTCCGGGTTAGCAGGTGAGCC
TGCGATGCGCGGGAAGACGTTCCGCTTTGAAATGACCGGGATTTGGTGAGTTTCCCGCTGCTCCAGCGGTGCGGGTGAAGCTGGT
GTCTGCGGGGTTCCAGACTGCTGAGGAACTCCTAGAGGTGAAACCTCCGAGCTTAGCAAAGG

Sonde ddPCR BRCA1

CAGGCCACTGACCTTACAAGACTACTTGCCTCCAGACTCCTGGGGCTGGATGGGAATTTAGTCTCCCTAAAGAGTTGTACGTATCTT
TTTAAGGCCTAGTTTCTGCTTTCAAATACGAAAACATAACACTCCAGTCCATAACTGTTGACAAGTACAAGCGCGCACAGGTCTCC
AATCTATCCACTGGATTTCCGTGAGAATTTGTCCTGCTGTTGATGTTTCCCTCCATAAGACTACAGTTTCTAAGGAACACT
GTGGCGAAGACCTTTCATTCGCAACGCATGCTGGAATAATTTATTTCCCTCCACCCCAACAATCCTTATTACTTATATTTAC
GAAACTGGAGACCTCCATTAGGGCGGAAAGAGTGGGGATTTGGGACCTTCTTACGACTGCTTTGGACAATAGGTAGCGATTCTCA
CCTTCTGACGCAATTACTGTGATGCAATAAGCCGCAACTGGAAGAGTAGAGGCTAGAGGGCAGGCACCTTTATGGCAAATCAGGTA
GAATTCCTCTCTCCGCTCTTTCTTTTACGTCATCCGGGGGACAGCTGGGTGGCCAATCCAGAGCCCAGAGAGCGCTTGGCTC
TTTCGTCCCTCCATCCTCTGATTGTACCTTGATTTCTGTTCTGAGAGGCTGCTGCTTAGGGTAGCCCTTGGTTTCCGTGGCA
AGGAAAAGCGGGGAATTACAGATAAATTAACCTGACTGCGGGGTGAGCTGCTGAGACTTCTGACCGGGGACAGGCTG
TGGGGTTTCTCAGATAACTGGGCCCTGCTCAGGAGGCCTTCCCTCTGCTTGGGTAAGGTAGTAGAGTCCGGGAAAGGGA
CAGGGGGCCCAAGTGATGCTCTGGGGTACTGGCTGGGAGAGTGGATTTCCGAAGCTGACAGATGGGTATTTCTTACCGG

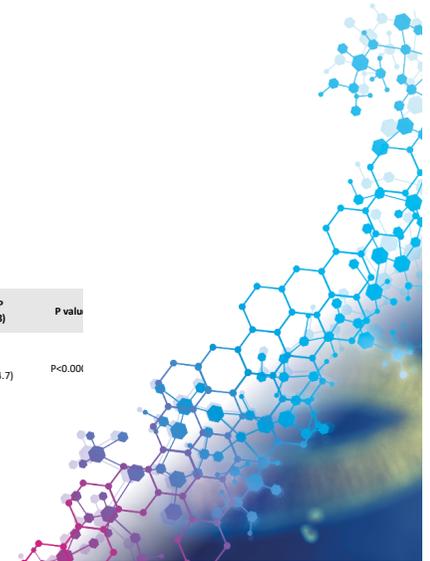


Résultats

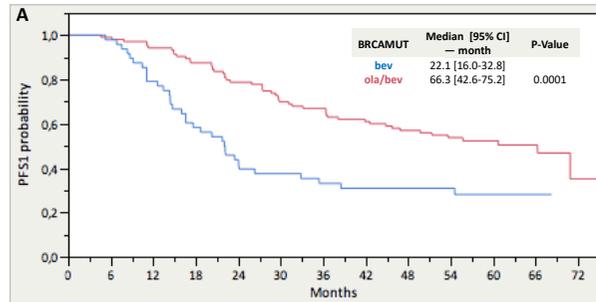


Molecular group (no.)	BRCA mutated (155)	BRCAMet (65)	RAD51C Meth (20)	HRD (45)	BRCAWTNM (46)	HRP (188)	P value
HRD score-- no.	131	53	19	45	46	188	
Mean (95% CI)	59.7 (57.7-61.7)	65.9 (62.7-69.1)	53.3 (48.0-58.6)	56.1 (52.6-59.5)	ND	23.0 (21.3-24.7)	P<0.001
Missing data	24	12	1	0	ND	0	

BRCA1 and RAD51 methylation impact on outcome in patients with advanced ovarian cancer: A PAOLA-1 ancillary study.
https://doi.org/10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.5559

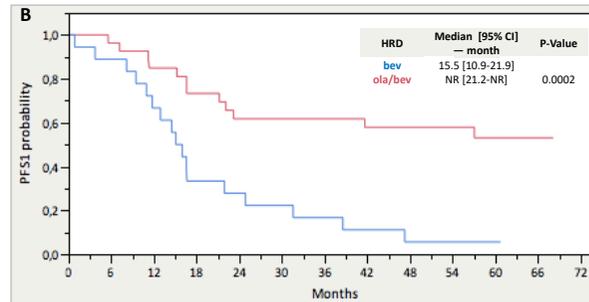


Résultats donnée de survie



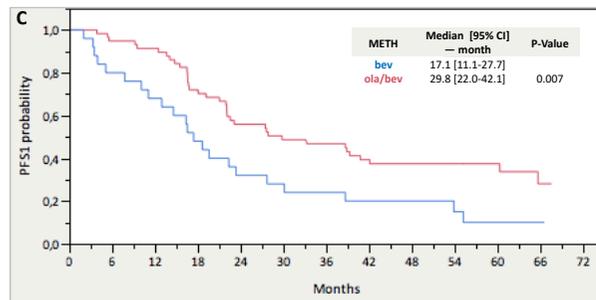
Number at Risk	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
beu	49	47	38	28	21	17	15	13	12	11	6	2	0
ola/beu	106	103	98	91	81	71	68	61	56	48	30	15	2

Treatment arms	molecular groups	Hazard Ratio	95% CI	P-Value
beu		1 (ref)		
ola/beu	BRCAMUT	0.43	[0.28-0.67]	< 0.001



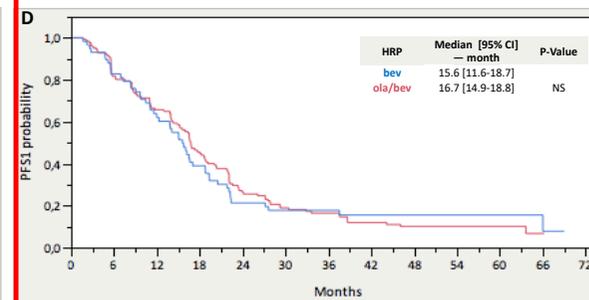
Number at Risk	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
beu	18	16	12	6	5	4	3	2	1	1	1	0	0
ola/beu	27	26	22	19	16	16	16	15	15	14	8	5	0

Treatment arms	molecular groups	Hazard Ratio	95% CI	P-Value
beu		1 (ref)		
ola/beu	HRD	0.26	[0.12-0.56]	< 0.001



Number at Risk	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
beu	26	30	17	12	8	7	6	5	5	3	1	1	0
ola/beu	59	54	52	41	31	27	25	21	20	17	10	4	0

Treatment arms	molecular groups	Hazard Ratio	95% CI	P-Value
beu		1 (ref)		
ola/beu	METH	0.49	[0.29-0.835]	0.008

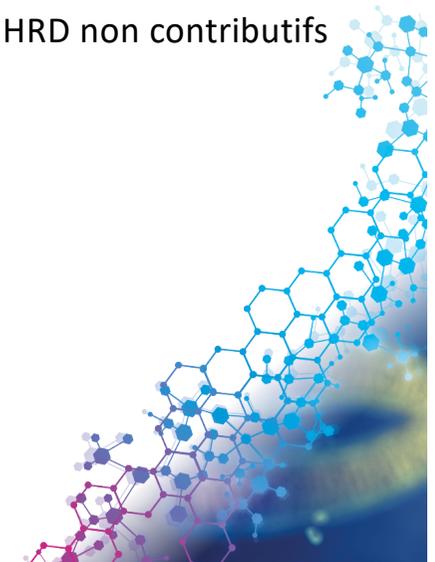


Number at Risk	0	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	66	72
beu	58	48	35	22	12	10	9	7	7	6	4	2	0
ola/beu	130	102	82	56	32	23	23	18	13	11	10	7	0

Treatment arms	molecular groups	Hazard Ratio	95% CI	P-Value
beu		1 (ref)		
ola/beu	HRP	0.96	[0.69-1.35]	NS

Les HGSOC méthylés BRCA1/RAD51C sont

- HRD
- Bénéficient de l'olaparib en maintenance
- « Rescue » des HRD non contributifs



Question 2 : Parmi les biomarqueurs suivants lesquels vous semble pertinent à développer pour la routine

- **La recherche d'une hyperméthylation de hMLH1**
- **La recherche d'une hyperméthylation de MGMT**
- **La recherche d'une hyperméthylation de BRCA1/RAD51C**



Les marqueurs de méthylation

- Font partie des analyses de soin courant en oncologie
- Les classifient
- Permettent la détection de l'ADNtc

- Validation, accréditation
- CEQ?

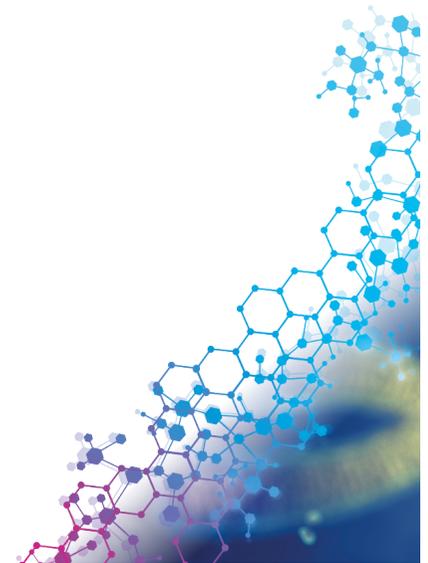
La classification diagnostique par Méthylome en 2024:

- 1-plus précise (T cérébrales)
- 2-indications plus larges (hors T cérébrales)
- 3-plus rapide (nanopore en extemporané)

Pr Emmanuelle Uro-Coste,
Département d'Anatomie Pathologique, CHU de Toulouse

LIENS D'INTÉRÊT

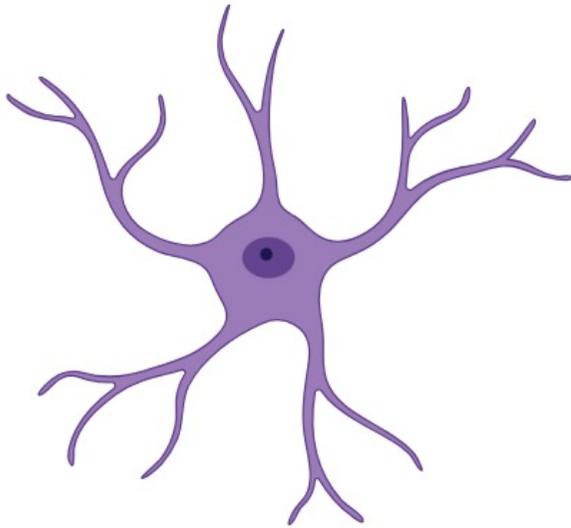
- **AstraZeneca dans le cadre des Journées du GFCO**



1-un diagnostic plus précis pour les tumeurs cérébrales



Astrocyte normal

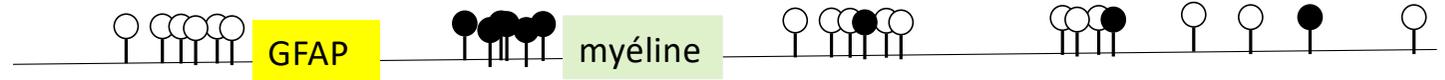


Classification des tumeurs cérébrales

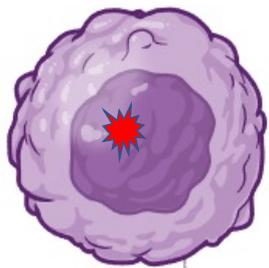
Université d'Heidelberg

îlot CpG non méthylé

îlot CpG méthylé

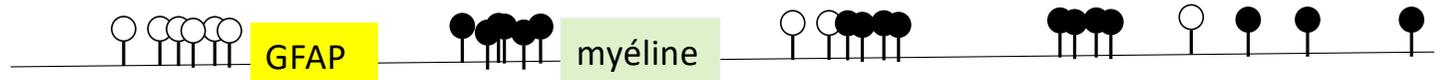


Astrocyte tumoral IDH muté



îlot CpG non méthylé

îlot CpG méthylé



En fait, c'est moins transparent que ça car on ne connaît pas pour chaque type cellulaire les conséquences de la méthylation de tel ou tel site CpG!

Hybridation sur puce epic illumina après bisulfitation

Cas 1

Cas 2

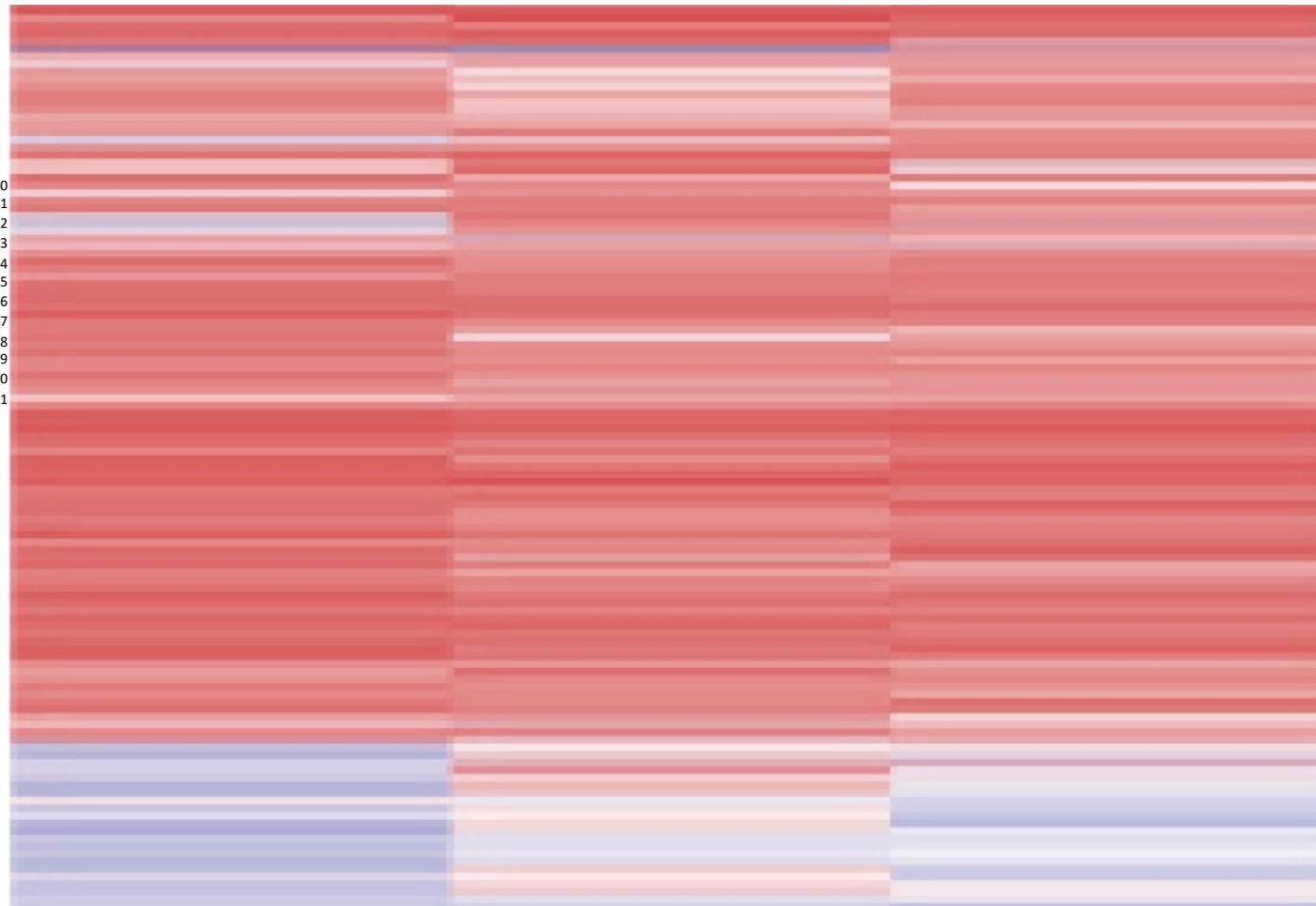
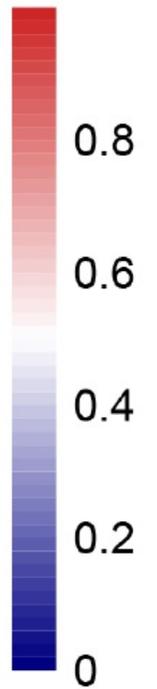
Cas 3

Puce Illumina Epic

CpG1
CpG2
CpG3
CpG4
CpG5
CpG6
CpG7
CpG8
CpG9
CpG10
CpG11
CpG12
CpG13
CpG14
CpG15
CpG16
CpG17
CpG18
CpG19
CpG20
CpG21

Etc..

450 000 sites CpG



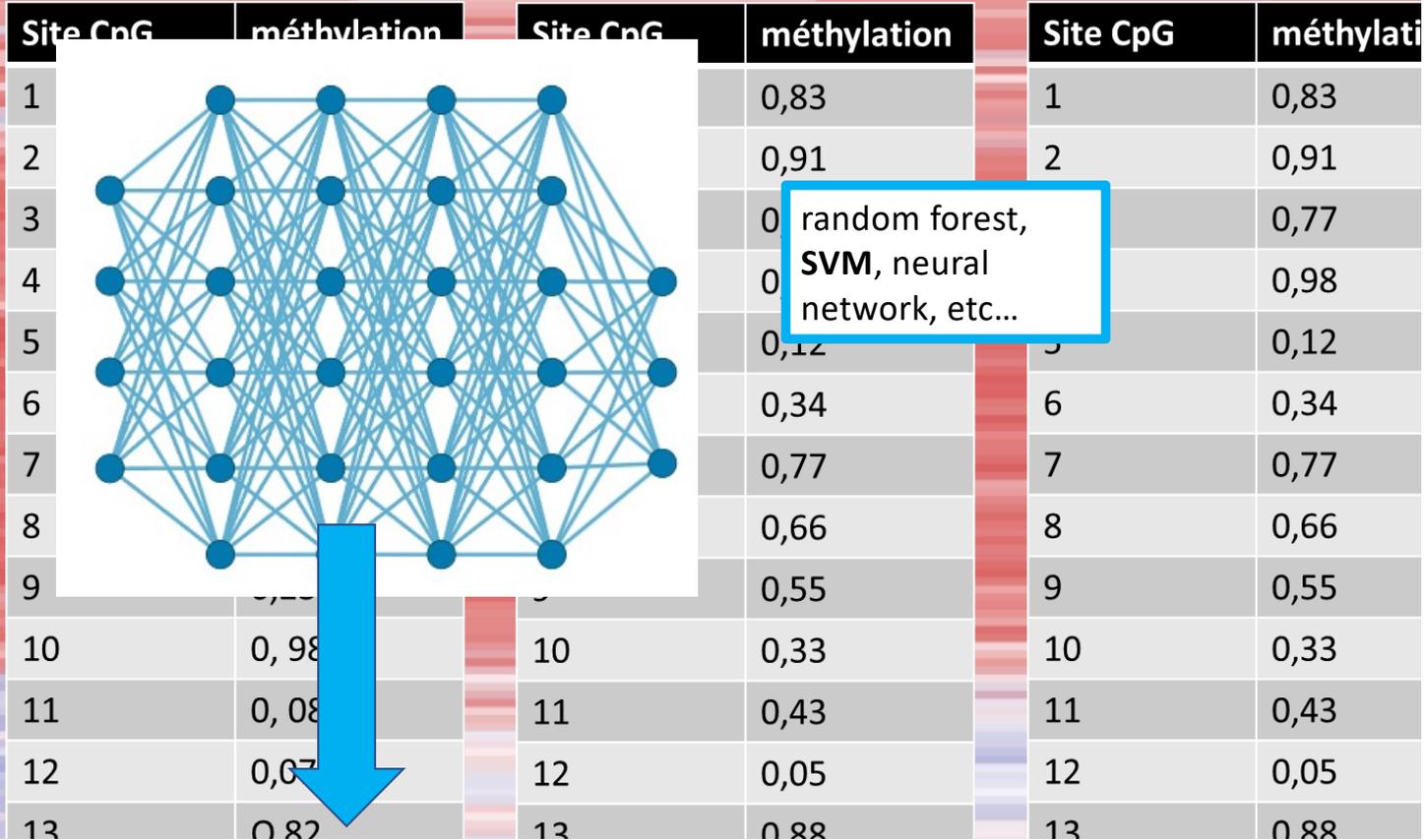
Quelques milliers de cas en 2018 pour environ 90 entités tumorales : classifier v11b4

Puce Illumina Epic v2

CpG1
CpG2
CpG3
CpG4
CpG5
CpG6
CpG7
CpG8
CpG9
CpG10
CpG11
CpG12
CpG13
CpG14
CpG15
CpG16
CpG17
CpG18
CpG19
CpG20
CpG21

Etc...

450 000 sites CpG



random forest,
SVM, neural
network, etc...



Le programme d'IA est appelé un **classifieur**

Test d'un nouveau cas :

Proposition d'une **classe diagnostique** avec un score de probabilité

Si $> 0,9$ il y a un **match**: valeur diagnostique



<https://www.molecularneuro pathology.org/mnp/>



Methylation classes (Highest level ≥ 0.3 , lower levels ≥ 0.1 , all remaining reference groups)				Calibrated score	Interpretation
Diffuse glioma, MAPK altered, cell-cycle activated				0.94929	match ✓
Pleomorphic xanthoastrocytoma(-like)				0.94890	match ●
Pleomorphic xanthoastrocytoma(-like)				0.94890	match ●
MC Pleomorphic xanthoastrocytoma				0.94890	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 ≥ 0.9)

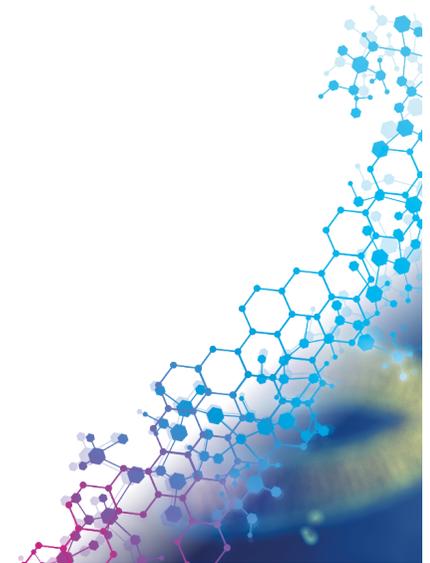
Calibrated scores

Methylation class	Name	Score
PXA	MC Pleomorphic xanthoastrocytoma	0.94890
EPN_ST_ZFTA_RELA_A	MC Supratentorial ependymoma, ZFTA fusion-positive, subtype ZFTA-RELA fused, subclass A (novel)	0.00407
CTRL_HEMI	MC Control tissue, cerebral hemisphere	0.00198
GRM_RTK2	MC Glioblastoma IDH-wildtype, RTK2 subtype	0.00183

2024: Classifier v12.8 entraîné sur base de données de 100 000 tumeurs devine le partenaire de fusion de MN1 dans les astroblastomes !

HGNET_CXXC5	High grade neuroepithelial tumor with CXXC5:MN1 fusion	WHO 2020:	Astroblastoma
		Superfamily:	high-grade neuroepithelial tumor with MN1:CXXC5 fusion
		Family:	high-grade neuroepithelial tumor with MN1:CXXC5 fusion
		Class:	high-grade neuroepithelial tumor with MN1:CXXC5 fusion
		Subclass:	high-grade neuroepithelial tumor with MN1:CXXC5 fusion
HGNET_MN1	High grade neuroepithelial tumor with BEND2:MN1 fusion	WHO 2020:	Astroblastoma
		Superfamily:	high-grade neuroepithelial tumor with MN1:BEND2 fusion
		Family:	high-grade neuroepithelial tumor with MN1:BEND2 fusion
		Class:	high-grade neuroepithelial tumor with MN1:BEND2 fusion
		Subclass:	high-grade neuroepithelial tumor with MN1:BEND2 fusion

Cas clinique 1



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

Methylation classes (MCs with score ≥ 0.3)	Calibrated score	Interpretation
Methylation class family Medulloblastoma, SHH	0.47380	no match ✗
MC family members with score ≥ 0.1		
Methylation class medu	Copy number prediction	✗
<p>Legend: ✔ Match (score ≥ 0.9)</p> <p>206486310126_R08C01</p> <p>Depiction of chromosome 1 to 22 (and X/Y if automatic prediction was successful). Gains/amplifications represent positive, losses negative deviations from the baseline. 29 brain tumor relevant gene regions are highlighted for easier assessment. ©MolecularNeuroPathology.org 2022 (Impressum) - Version 6.6 (Built with Bootstrap framework)</p>		
Medulloblastoma, SHH-activated, subclass 4 (novel)	0.1/4/4	no match ✗
Medulloblastoma, SHH-activated, subtype 3	0.16058	no match ✗

Pas d'accord du tout avec le diagnostic proposé et en plus la tumeur n'est pas dans la fosse postérieure !
Histologiquement, on pensait à un épendymome ZFTA avec différenciation neuronale

Traitement informatique des données: 2^e manière

Représentation graphique après réduction de dimension

Cas 1

Site CpG	méthylation
1	0,25
2	0,40
3	0,92
4	0,12
5	0,02
6	0,98
7	0,24
8	0,97
9	0,24
10	0,33
11	0,12
12	0,04
13	0,92

Cas 2

Site CpG	méthylation
1	0,22
2	0,38
3	0,83
4	0,99
5	0,12
6	0,97
7	0,18
8	0,98
9	0,23
10	0,98
11	0,08
12	0,07
13	0,82

Cas3

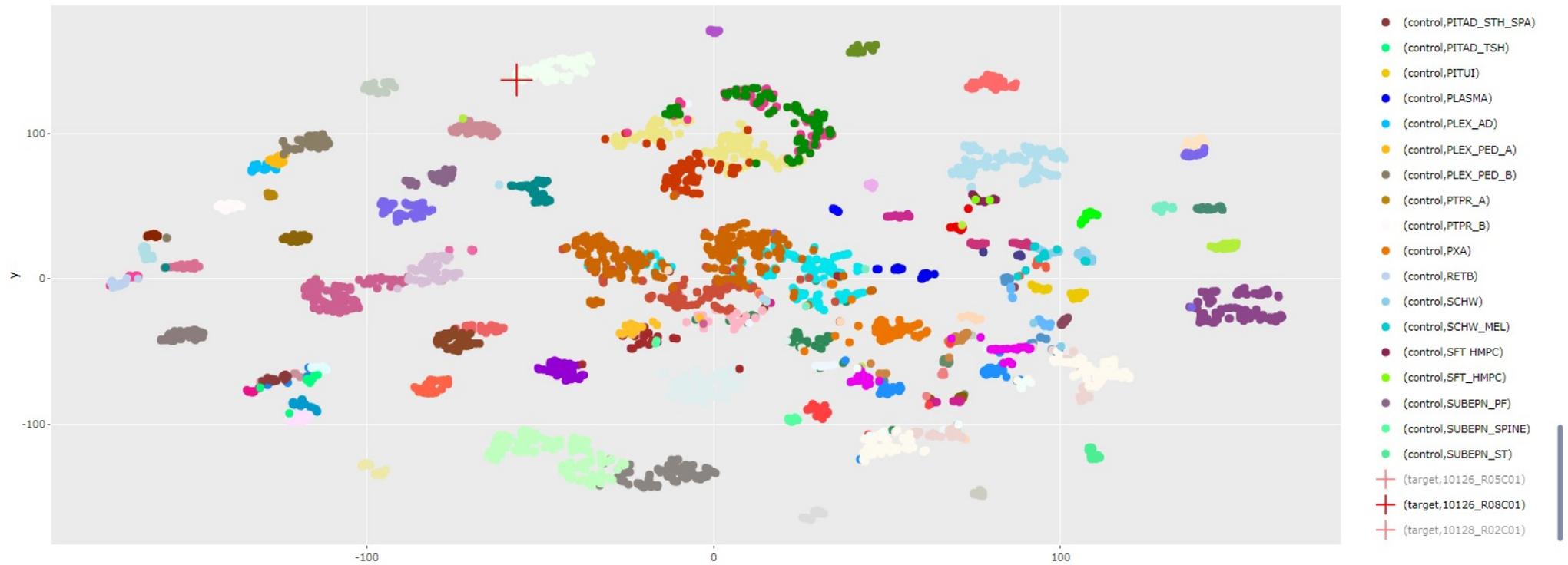
Site CpG	méthylation
1	0,83
2	0,91
3	0,77
4	0,98
5	0,12
6	0,34
7	0,77
8	0,66
9	0,55
10	0,33
11	0,43
12	0,05
13	0,88

Cas 4

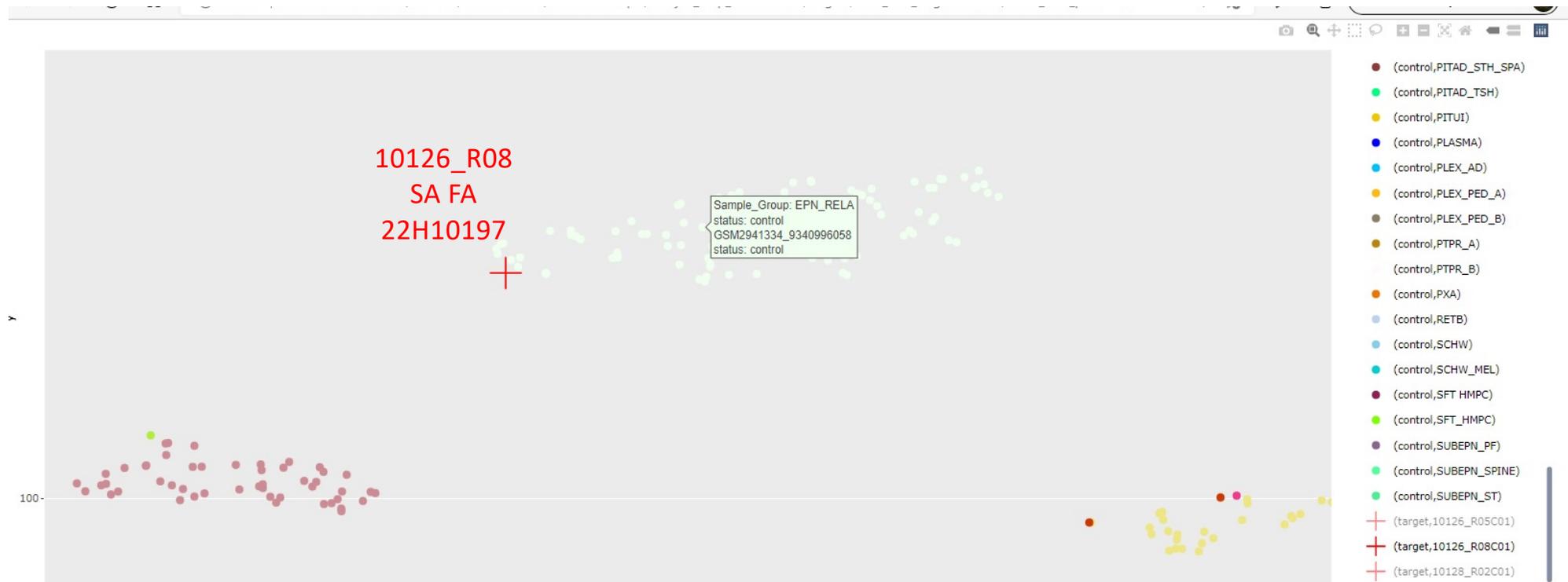
Site CpG	méthylation
1	0,89
2	0,55
3	0,43
4	0,56
5	0,07
6	0,33
7	0,86
8	0,56
9	0,34
10	0,43
11	0,65
12	0,33
13	0,64

t-SNE

à partir d'environ 3000 tumeurs avec 90 entités (v11b4)



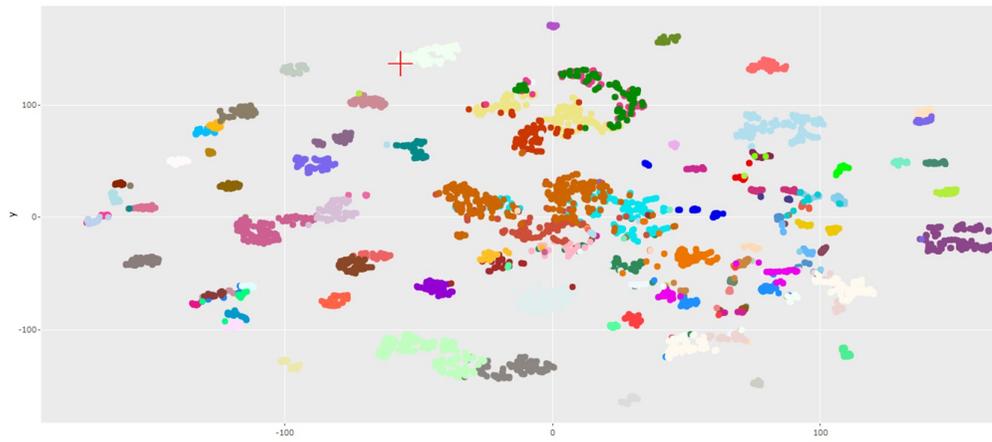
« Clusterise » dans EPN_REL A!!!



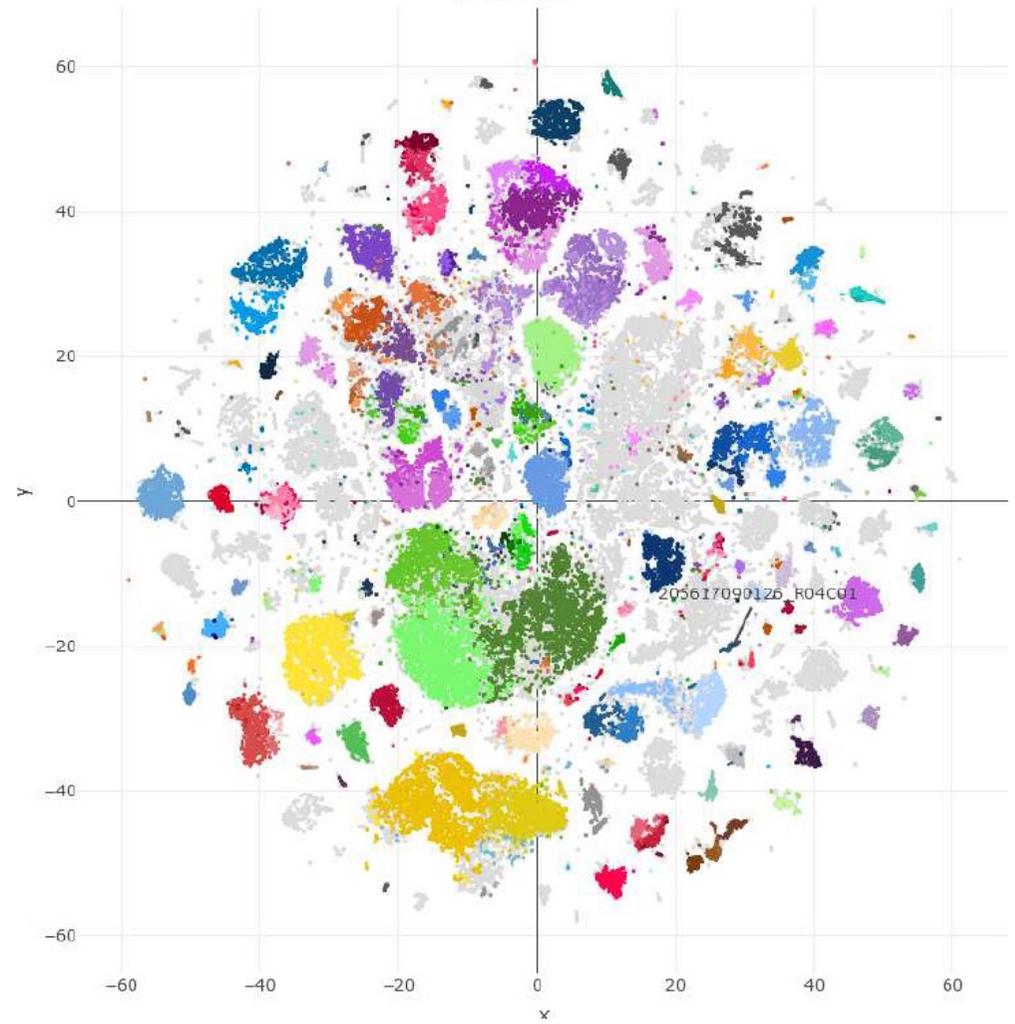


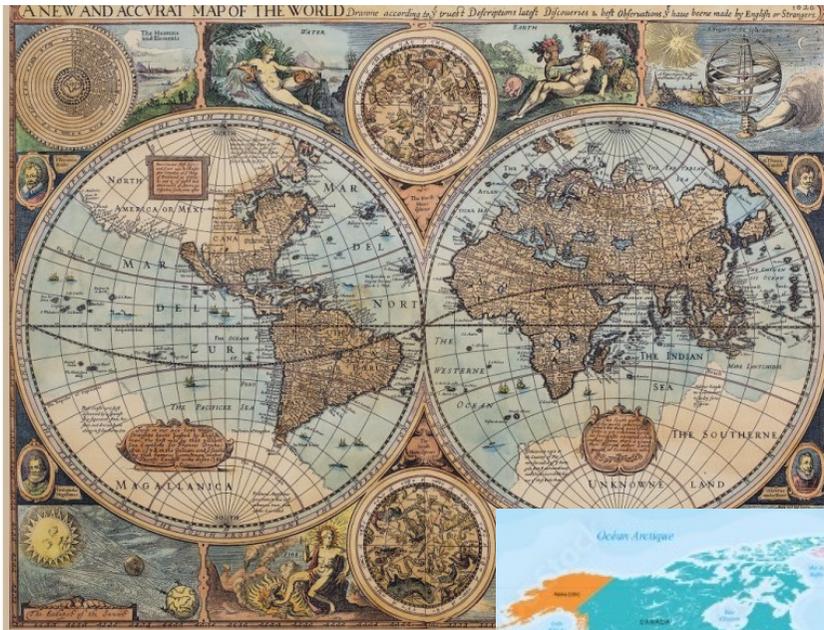
- T SNE et UMAP ne résolvent pas toujours les problèmes car la base mise à disposition par Heidelberg n'est pas mise à jour depuis la v11b4
- Les nouvelles entités (ex: PLNTY) n'y sont pas
- Collaboration scientifique avec Heidelberg pour positionner les cas dans le paysage actualisé, en particulier des « no match » ou de faibles scores ou cas aberrants
- De nombreuses nouvelles entités (rares) définies par le méthylome sont sous embargo à Heidelberg

N= 3 000

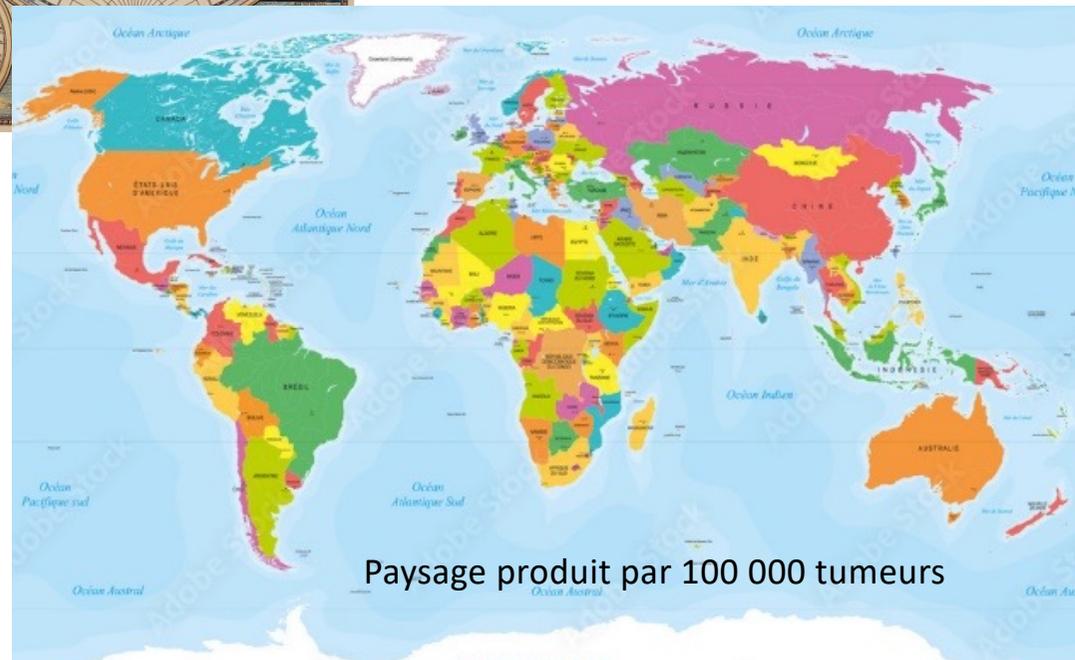


n=108337





Paysage produit par 3 000 tumeurs



Paysage produit par 100 000 tumeurs

Et d'une manière
imminente clôture du
site universitaire gratuit
au profit d'un site payant
Epignostix :

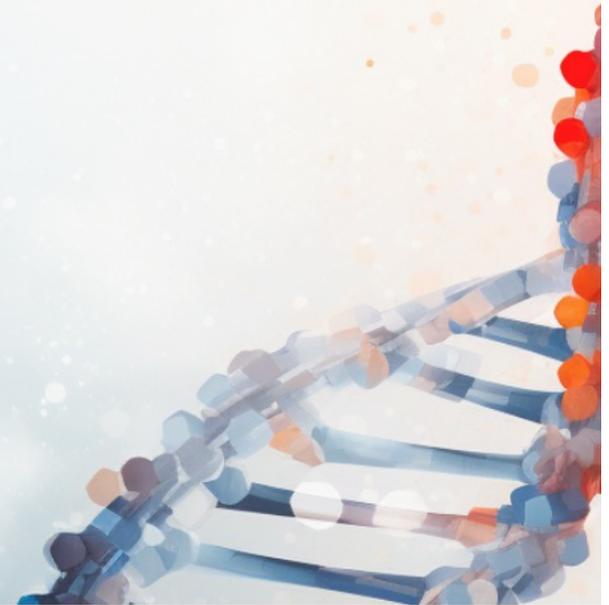


[Home](#) [About us](#) [Our Technology](#) [News](#) [Contact us](#)

Heidelberg Epignostix

We combine world-leading scientific and medical expertise with cutting-edge technical innovation,
to improve diagnostic accuracy and enhance clinical care for cancer patients.

[Learn More](#)



Who We Are

We are passionate about improving diagnostic accuracy.

Accurate and precise diagnosis is crucial for optimal management of patients with cancer. Our vision is to help create a world in which all cancer patients are treated appropriately and as individuals, by providing innovative solutions for precision molecular diagnostics.

Our team reflects the interdisciplinary collaboration required to solve this challenge in oncology, from statistics and data science to genetics, pathology and healthcare.

Arrivée des USA ! Avec leur propre base de données



Clinical Methylation Unit
LABORATORY of PATHOLOGY
<https://ccr.cancer.gov/laboratory-of-pathology>

METHYLATION PROFILING REPORT :: 208590080138_R03C01

Summary **UMAP** Pathesda Classifier v2

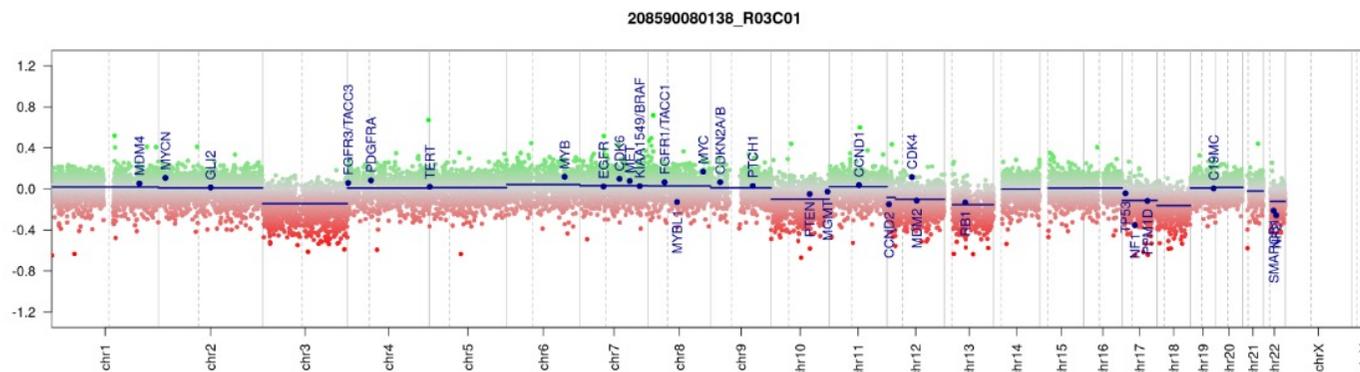
Top hit classifiers results

	Best.match	Scores	Comment
Family	Intermediate_grade_IDH_wildtype_gliomas	0.564	Suggested
Class	HPAP	0.772	Suggested

MGMT Status

Promoter	Status	pred
MGMT	Unmethylated	0.0198676490180677
source: mgmstp27 R package		

Copy Number Variation Profile



has no copy number for sex chromosomes calculated

<https://methyscape.ccr.cancer.gov/>

<https://methyscape.ccr.cancer.gov/>



Clinical Methylation Unit
LABORATORY of PATHOLOGY
<https://ccr.cancer.gov/laboratory-of-pathology>

METHYL Summary UMAP Bethesda Classifier v2

UMAP of the reference dataset used for training eNeural network model for the Bethesda classifier.

Summary

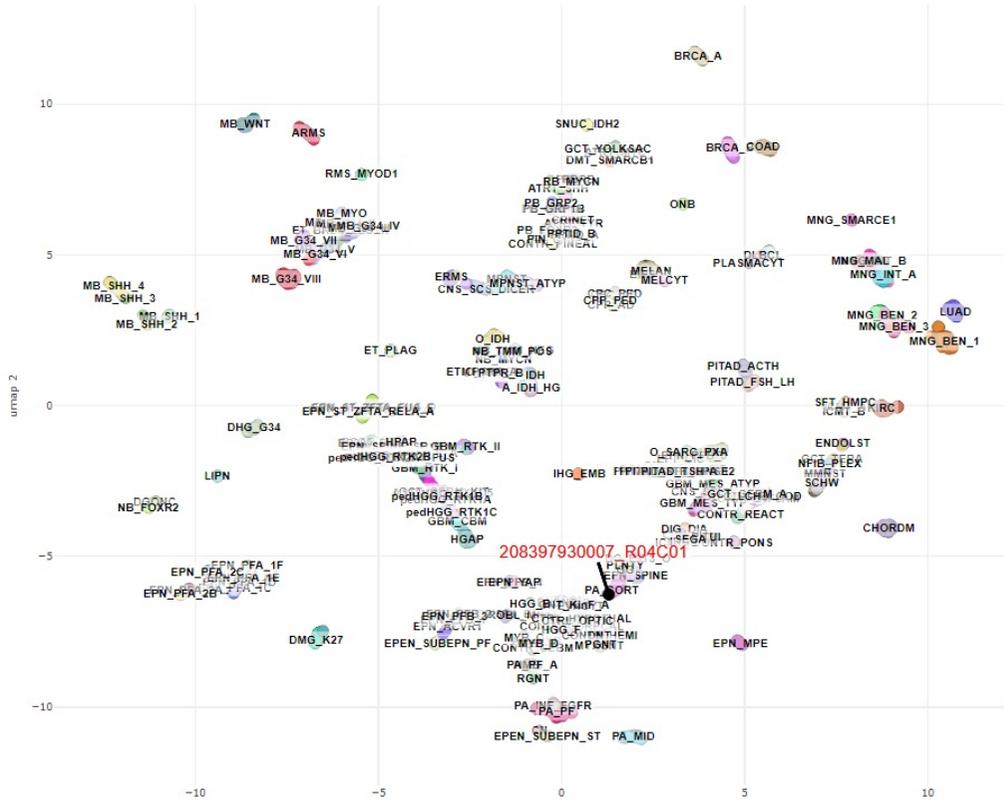
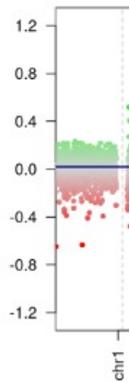
Top hit classifie

Best

Family Inte

Class HPAP

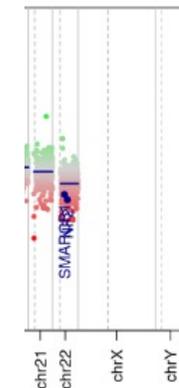
Copy Number



- IHG_EMB
- AB_EWSR1_BEND2
- AG_MYB
- ANTCON
- ARMS
- ASTROBL_CXXC5
- ASTROBL_MN1
- ATRT_MYC
- ATRT_SHH
- ATRT_TYR
- A_IDH
- A_IDH_HG
- BCOR_ITD
- BRCA_A
- BRCA_B
- CENET
- CHGL
- CHORDM
- CN
- CNS_SCHW_VGLL
- CNS_SCS_DICER
- COAD
- CONTR_ADENOPIT
- CONTR_CEBM
- CONTR_CORPCAL
- CONTR_HEMI
- CONTR_INFLAM
- CONTR_PINEAL

77

R package



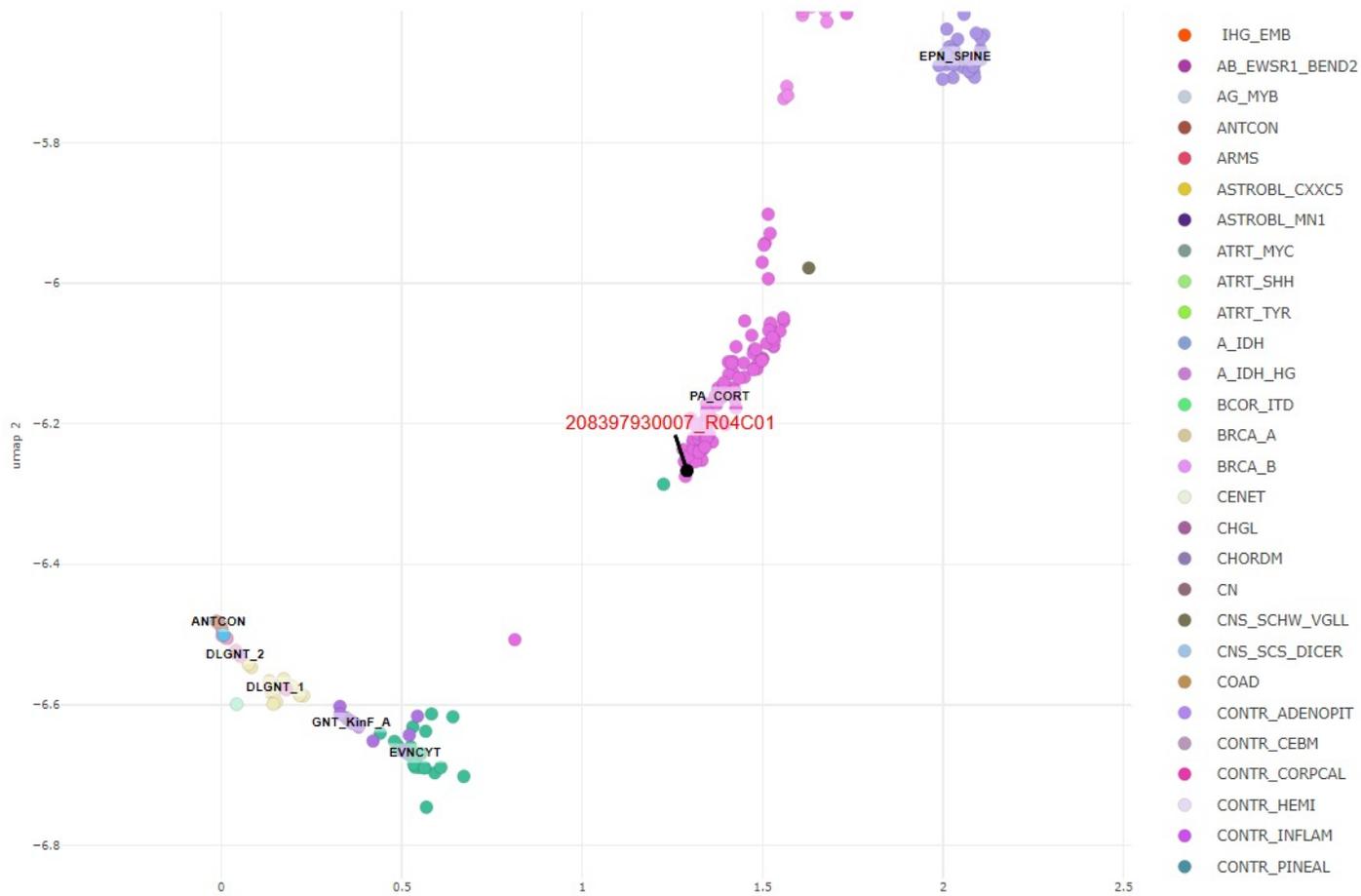
has no copy number for sex chromosomes calculated

Summary

UMAP

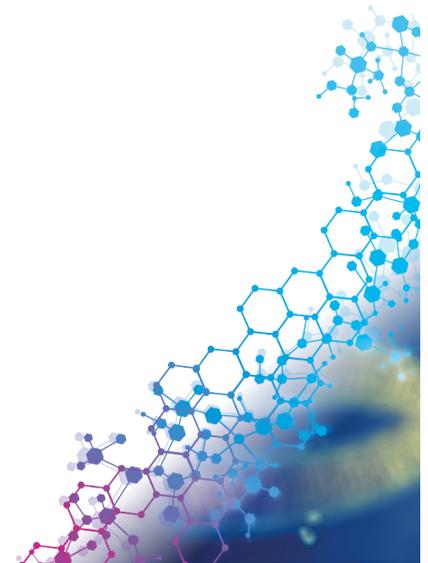
Bethesda Classifier v2

UMAP of the reference dataset used for training eNeural network model for the Bethesda classifier.



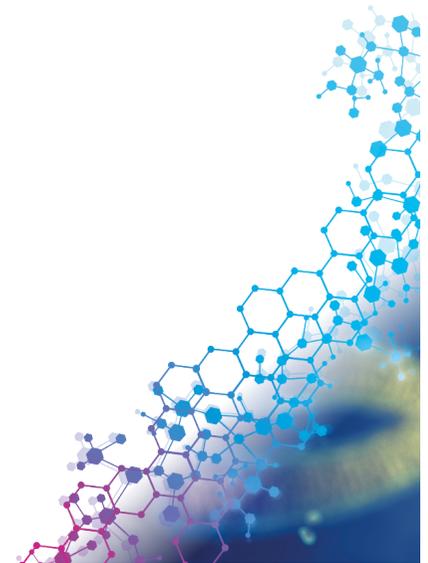
Seriez-vous favorables à une mise en commun des fichiers pour constituer une base de données française indépendante?

- Oui
- Non



2-Des indications plus larges

- CUP syndrome
- Tumeurs ORL
- Sarcomes
- Etc....



EpiDiP Server Epigenomic Digital Pathology

<https://epidip.org/>

Methylome & CNV Viewer
by J. Hench, IIP Basel, version 8.0c

UMAP plot - top differentially methylated probes with search filter

UMAP coordinate file to display
UMAP_25000_CpGs.xlsx

Search annotation for:
207700180046_R05C01

Start search

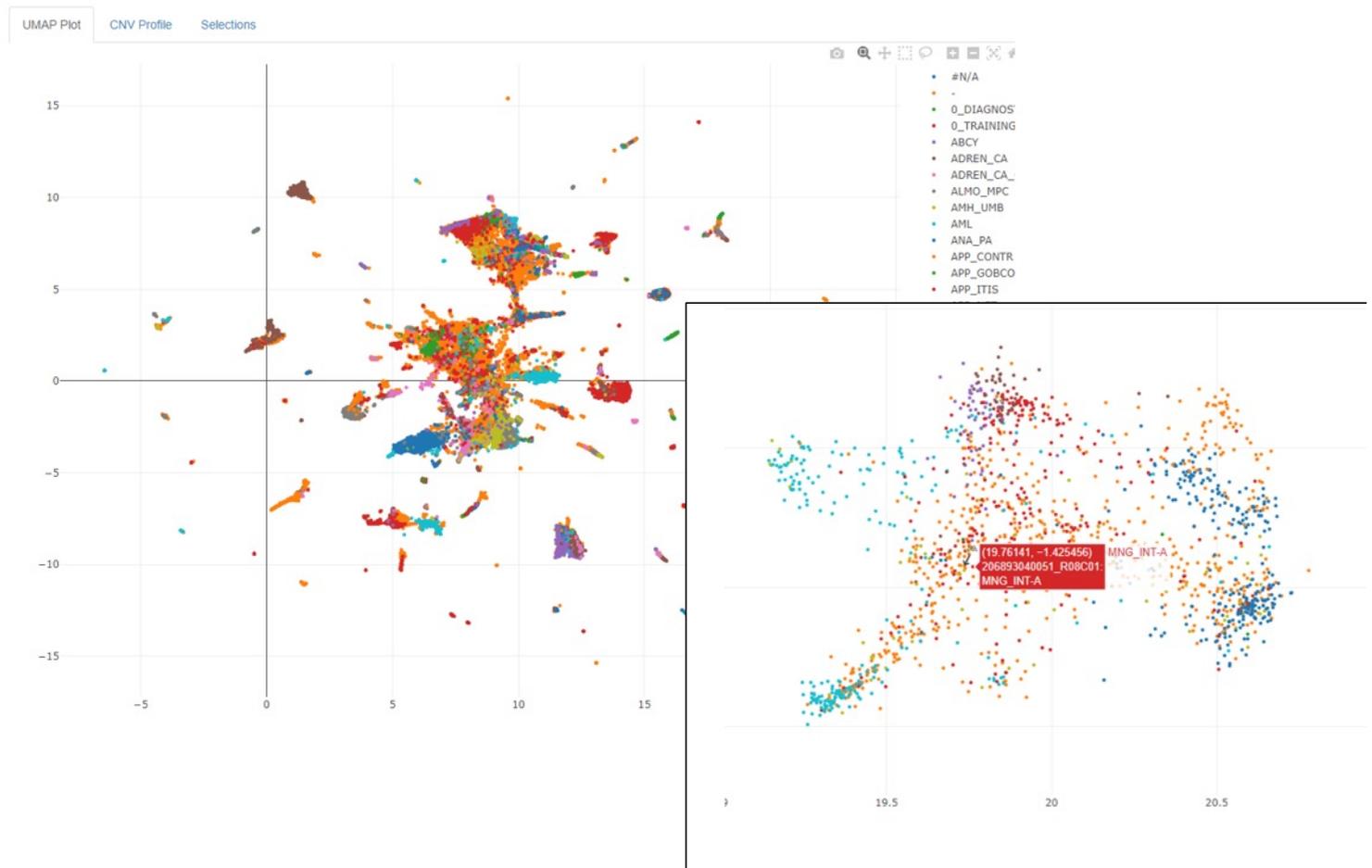
plot height [px]
300 600 2000

Copy number profiles appear here; click on case dots in UMAP plot.

Custom annotation sheet key:

Predefined annotations:
1gqhMju0IGis9k12LAj67kRgO9kM1WE2YQTI6W-K6Xc

Reload App. & Data



Représentation graphique en 2 dimensions: tSNE (UMAP)

Le méthylome d'une tumeur est représenté par un point avec coordonnées x et y
 Tumeurs identiques ou proches apparaissent dans un même nuage de points : un cluster

New!
 Classification des tumeurs des glandes salivaires

Jurmeister et al
 Modern Pathology
 septembre 2024

BDD: environ 300 cas pour 20 entités

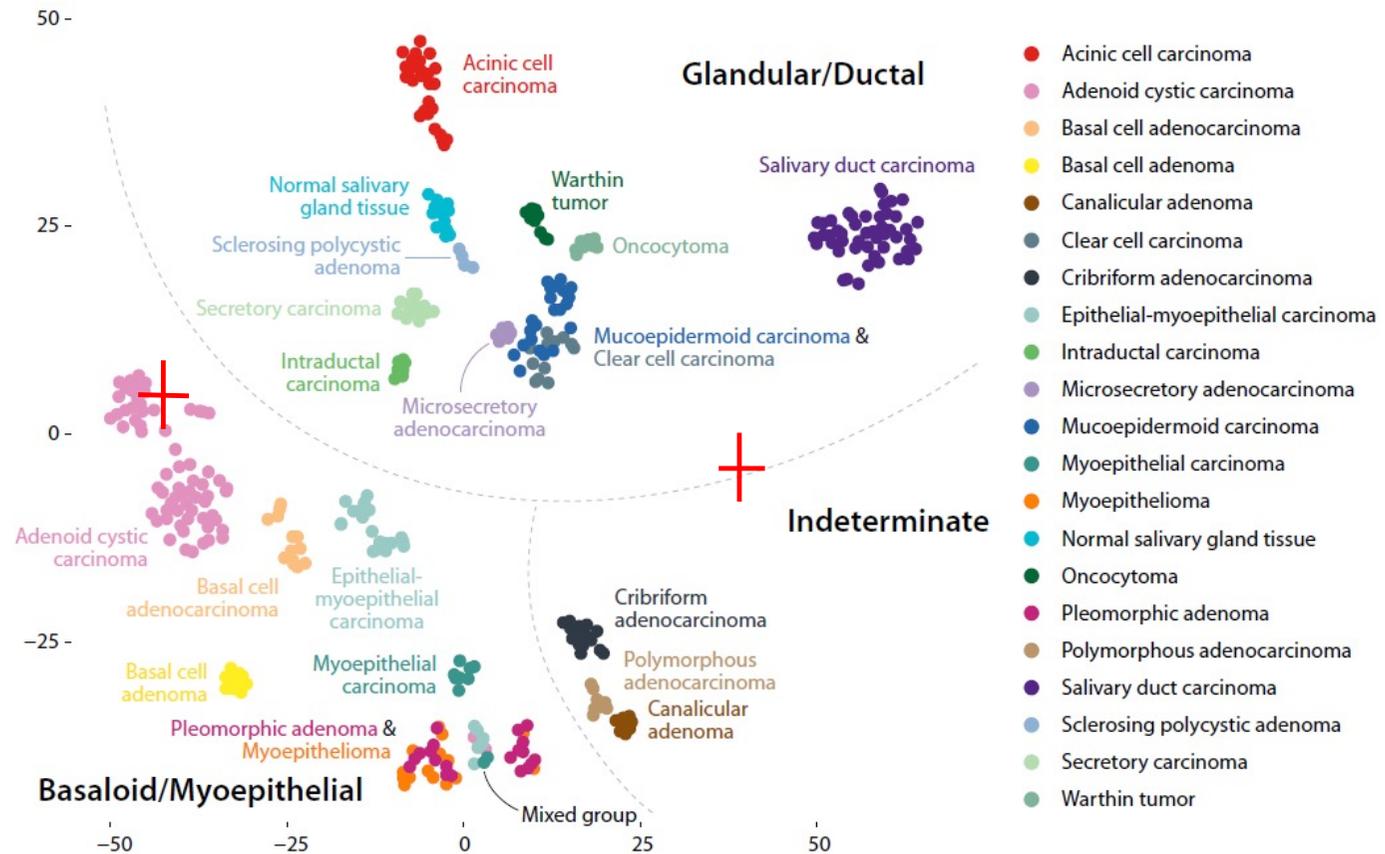
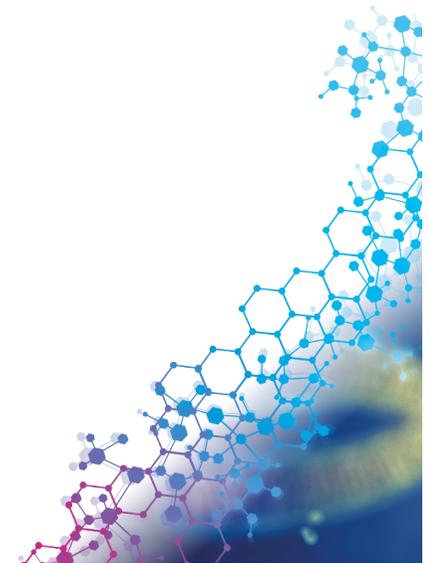
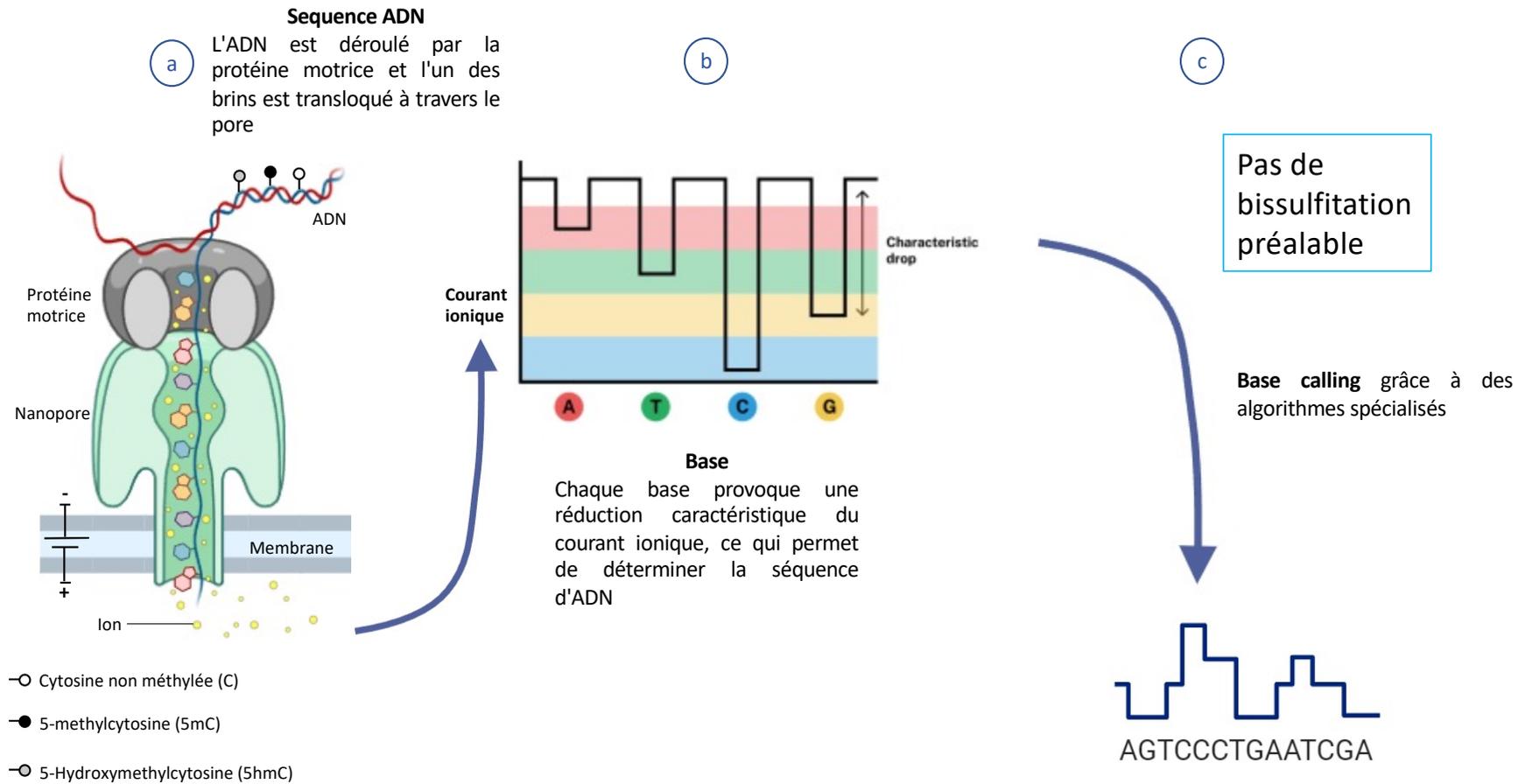


Figure 1. t-Distributed stochastic neighbor embedding of the salivary gland cohort. Conventional tumor entities according to the World Health Organization classification are annotated by different colors. Upon visual inspection, it seems that classes with common differentiation (basaloid/myoepithelial, glandular/ductal, and indeterminate) tend to group together.

3-Des résultats plus rapides par technique nanopore



Le nanopore détecte la différence entre cytosine, cytosine hydroxy méthylée et cytosine méthylée!



Intérêt de la rapidité en Anatomie Pathologique?
L'examen extemporané !

Cas clinique 2: examen extemporané

- Cas d'une femme de 35 ans

Gliome infiltrant

ou

Ependymome ?

Exérèse totale impossible

Exérèse sans aucune prise de risque fonctionnel

Le pronostic dépend plus de la chimio/radiosensibilité que de l'exérèse



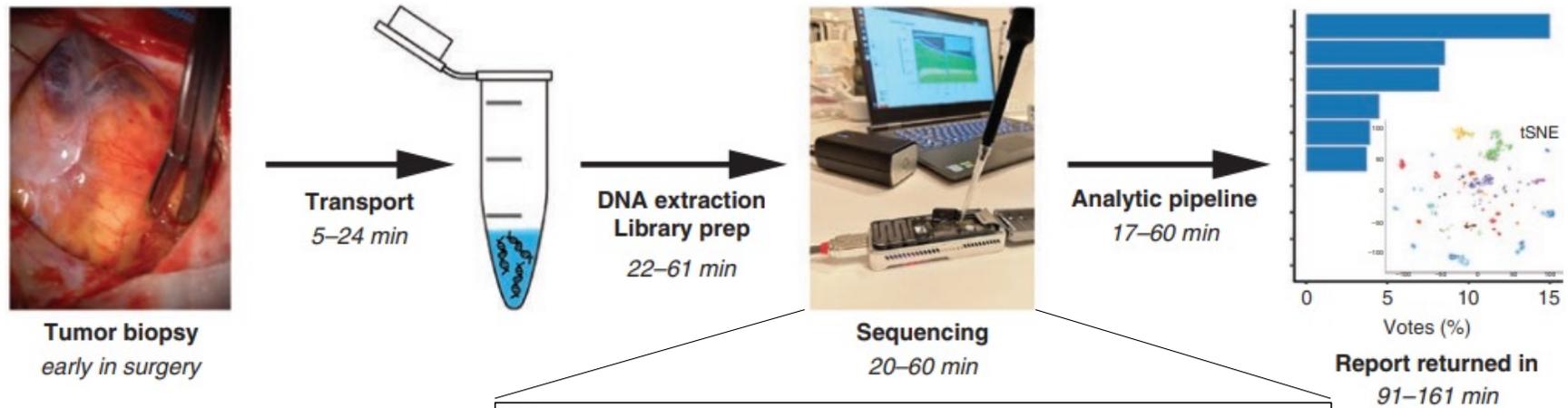
Exérèse totale possible quitte à prendre un risque fonctionnel

Le pronostic dépend de la qualité de l'exérèse

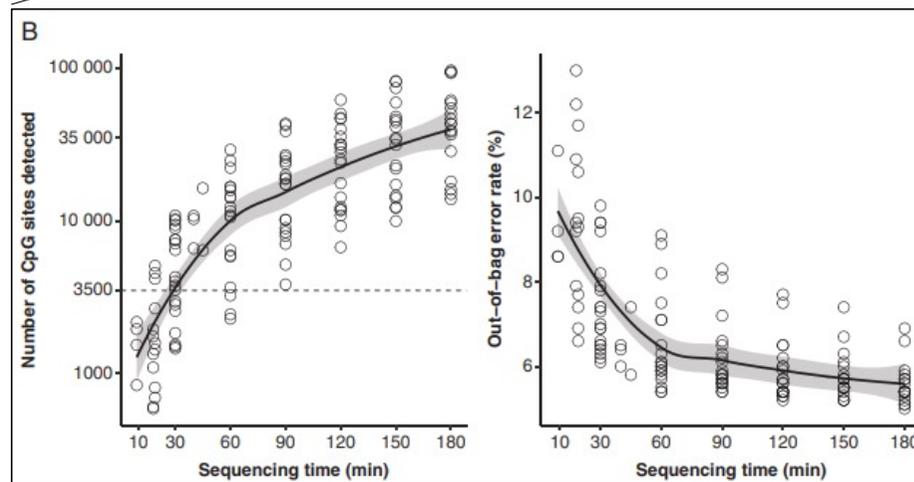
Résistant à la chimiothérapie et à la radiothérapie

Soit IHC et réponse en 1 semaine
Soit plus compliqué NGS, RNAseq
+/- méthylome...1 mois

« Intraoperative DNA methylation classification of brain tumors impacts neurosurgical strategy »



- + de sites CpG
- - d'erreur!



Article

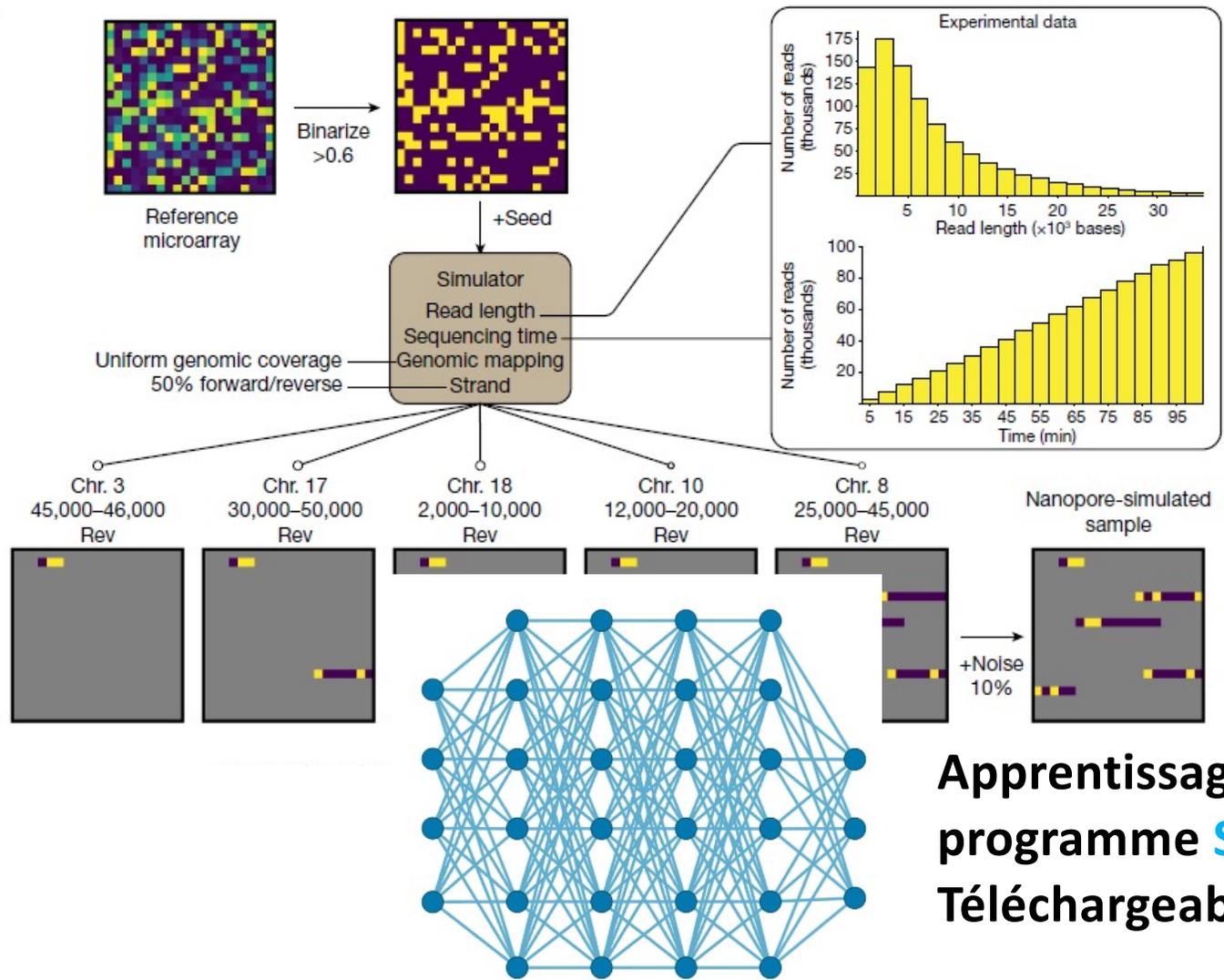
Ultra-fast deep-learned CNS tumour classification during surgery

<https://doi.org/10.1038/s41586-023-06615-2>

Received: 10 February 2023

Accepted: 6 September 2023

C. Vermeulen^{1,2,6}, M. Pagès-Gallego^{1,2,6}, L. Kester³, M. E. G. Kranendonk³, P. Wesseling^{3,4}, N. Verburg⁵, P. de Witt Hamer⁵, E. J. Kooi⁴, L. Dankmeijer^{4,5}, J. van der Lugt³, K. van Baarsen³, E. W. Hoving³, B. B. J. Tops³✉ & J. de Ridder^{1,2}✉

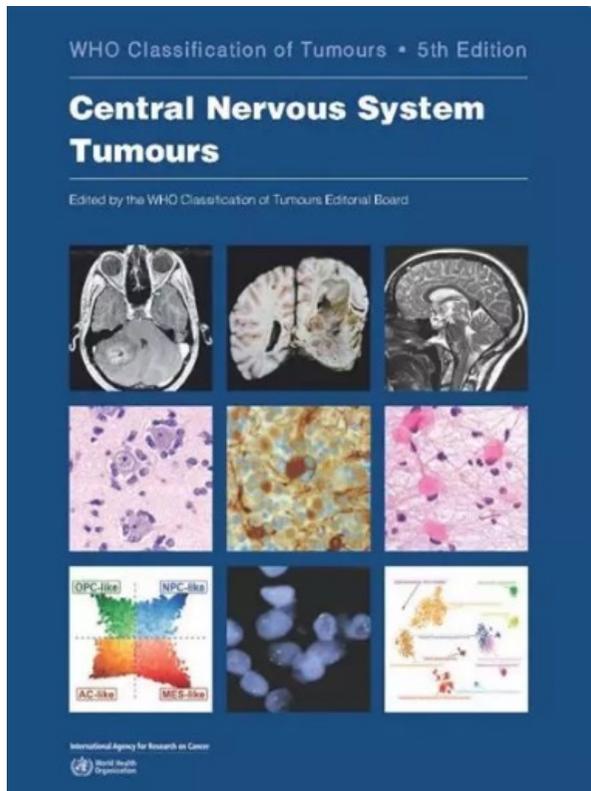


Apprentissage IA :
 programme **STURGEON**
 Téléchargeable sur github

#20524

Diagnostic criteria for high-grade astrocytoma with piloid features

OMS: la caution morale pour utiliser l'IA



Essential:

An astrocytic glioma

AND

A DNA methylation profile of high-grade astrocytoma with piloid features

Desirable:

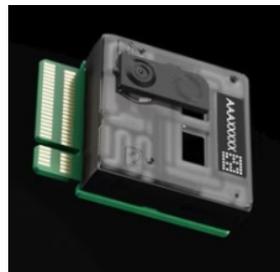
MAPK pathway gene alteration

Homozygous deletion or mutation of *CDKN2A* and/or *CDKN2B*, or amplification of *CDK4*

Mutation of *ATRX* or loss of nuclear ATRX expression

Implémentation au CHU de Toulouse

- 20 à 40 minutes
- Ou moins car promethion 5 x plus de pores qu'un minion!



P2 Integrated Project Pack €92,138.00

PromethION 2 Solo Starter Pack €9,076.00

LES 111 DES ARTS TOULOUSE

40 000 €

PromethION 2 Integrated

PromethION 2 Solo

1x Assurance - P2 ASSURANCE

24x PromethION FLO-PRO114M

24x PromethION FLO-PRO004F

1x License and War Integrated SLW12M-P2I

1x License and War Integrated SLW24M-P2I

1x License and War Integrated SLW36M-P2I

16x Sequencing kits

Configure package

1x PromethION 2 Sequencing Unit Solo PRO-SEQ002

1x Control Expansion Kit EXP-CTL001

1x Flow Cell Wash Kit

1x Sequencing kits (RNA)

1x Sequencing kits (R10.4.1)

1x Sequencing kits Solo

1x License and Warranty 66 months - P2 Solo SLW60M-P2S

2x Sequencing kits

Conclusion

- Rien ne s'oppose à l'extension des applications diagnostiques du méthylome pour d'autres tumeurs que les tumeurs cérébrales
- Il faut :
 - 1 base de données (beaucoup de données libres sur base ATCG etc)
 - +/- Quelques méthylomes supplémentaires (400 €/cas)
 - 1 ingénieur IA 1 an (stage M2)
 - Tester sur une cohorte

MERCI DE VOTRE ATTENTION

Avec la participation
scientifique du

