



COPIE INTERNE 21/08/2025

**Centre d'Anatomie
Pathologique H.U.B.**

Rue Meylemeersch 90 - 1070 Anderlecht
Mijlemeerschstraat 90 - 1070 Anderlecht

Directrice de Service
Pr Myriam Remmelink

Equipe Médicale
Dr Nicolas de Saint Aubain
Pr Nicky D'Haene
Dr Maria Gomez Galdon
Dr Chirine Khaled
Pr Denis Larsimont
Pr Laetitia Lebrun
Dr Calliope Maris
Pr Jean-Christophe Noël
Dr Anne-Laure Trépant
Dr Marie Van Eycken
Pr Laurine Verset

Consultant (e) s
Dr Sarah Bourri
Dr Xavier Catteau
Dr Roland de Wind
Dr Marie-Lucie Racu
Dr Valérie Segers
Dr Anne Theunis
Dr Marie-Paule Van Craynest

Secrétariat Médical
T. +32 (0)2 541 73 23
+32 (0)2 555 33 35

SecMed.AnaPath@hubruxelles.be

Secrétariat Direction
T. +32 (0)2 555 31 15
Mme Kathia El Yassini
Kathia.elyassini@hubruxelles.be

Mme Véronique Millecamps
veronique.millecamps@hubruxelles.be

Dr KISELOVS-RUNGEVICS
NORMUNDS
HOPITAL ST PIERRE
Rue Haute, 322

1000 BRUXELLES

PATIENT :

ID :

Réf. Externe :

EXAMEN : 25EM00665

Prélevé le 06/02/2025 à 06/02/2025 13:37
Reçu le 17/02/2025

Prescripteur : Dr KISELOVS-RUNGEVICS
NORMUNDS

**RECHERCHE PAR « NEXT GENERATION SEQUENCING » DE VARIANTS
DANS 39 GENES IMPLIQUES DANS LES GLIOMES ET RECHERCHE DE CO-
DELETION 1p19q
(CLINICAL GLIOMA PANEL V2)**

*HUB – Centre d'Anatomie Pathologique – est accrédité par BELAC sous le numéro
de certificat B-727 MED*

I. Renseignements anatomopathologiques

N° du prélèvement : 25BB02077 1

Date du prélèvement : 06/02/25

Origine du prélèvement : HUB

Type de prélèvement : GBM

II. Evaluation de l'échantillon

- % de cellules tumorales : 50%

- Qualité du séquençage : Optimale (coverage moyen > 1000x)

Les exons à considérer comme non contributifs sont détaillés dans le tableau ci-dessous (point III).

- **Commentaires :** Nous attirons votre attention sur le fait que le délai de fixation n'est pas indiqué sur la feuille de demande. Un délai de fixation supérieur à 1h pourrait éventuellement avoir un impact sur les résultats.

Nous attirons votre attention sur le fait que la durée de fixation n'est pas indiquée sur la feuille de demande. Une durée de fixation inférieure à 6 heures ou supérieure à 72 heures pourrait éventuellement avoir un impact sur les résultats.

III. Méthodologie (effectué par : MAGU, NADN, NIDH)

- Extraction ADN à partir de coupes paraffinées après macrodissection des zones tumorales ou à partir de frottis.
- Détection par « Next Generation Sequencing » (sur Ion Gene Studio S5, Ion Torrent avec Kit AmpliSeq) de variants dans 39 gènes liés aux tumeurs cérébrales :

Gène	RefSeq	Exons testés	Exons Non Contributifs (coverage <250x)*	Gène	RefSeq	Exons testés	Exons Non Contributifs (coverage <250x)*
ACVR1	NM_001105	6-11	7	MDM4	NM_002393	2-11 (whole CDS)	
ATRX	NM_00489	1-35 (whole CDS)	8, 9, 11, 15, 16, 28, 29	MYCN	NM_1293228	2-3 (whole CDS)	2
BRAF	NM_004333	7, 10, 11, 12, 15		NF1	NM_001042492	1-58 (whole CDS)	7, 13, 33
CDK4	NM_000075	1-8 (whole CDS)	7	NF2	NM_00268	1-16 (whole CDS)	15
CDK6	NM_001259	2-8 (whole CDS)		NRAS	NM_002524	2-4 (whole CDS)	
CDKN2A	NM_000077	1-3 (whole CDS)	1	PDGFRA	NM_006206	5-12, 14-15, 18, 21-23	
CDKN2B	NM_004936 et NM_078487	1-2 (whole CDS)		PIK3CA	NM_006218	1-20 (whole CDS)	
EGFR	NM_005228	1-28 (whole CDS)		PIK3R1	NM_181523	2-16 (whole CDS)	11
FGFR1	NM_23110	12, 14-16	15	POLD1	NM_001256849	1-27 (whole CDS)	4, 22
FGFR2	NM_000141	5-7, 9-10, 12, 14		POLE	NM_006231	1-49 (whole CDS)	36, 46
FGFR3	NM_00142	7, 9, 10, 13-16		PPM1D	NM_003620	1-6 (whole CDS)	1
H3F3A (=H3.3)	NM_002107	2		PRKCA	NM_002737	1-17 (whole CDS)	
H3F3B	NM_005324	2-4 (whole CDS)		PTEN	NM_00314	1-9 (whole CDS)	
HIST1H3B (=H3C2)	NM_003537	1		PTPN11	NM_02834	1-15 (whole CDS)	
HIST1H3C (=H3C3)	NM_003531	1		RB1	NM_00321	1-27 (whole CDS)	1, 2, 4, 15, 16, 22
HRAS	NM_005343	2-4 (whole CDS)		TERT	NM_001193376	Promoteur	Promoteur
IDH1	NM_005896	4		TP53	NM_00546	1-11 (whole CDS)	4
IDH2	NM_002168	4		TSC1	NM_000368	3-23 (whole CDS)	
KRAS	NM_033360	2-4 (whole CDS)		TSC2	NM_000548	2-42 (whole CDS)	14, 31, 34
MDM2	NM_002392	1-11 (whole CDS)	1				

* Un coverage < 250x induit une perte de sensibilité et de spécificité de la méthode.

- Sensibilité : Seuls les variants avec une fréquence supérieure à 5% et un variant coverage >30x (sauf promoteur de TERT : variant coverage >20x) sont rapportés.
- Détection par « Next Generation Sequencing » (Ion Gene Studio S5, Ion Torrent avec Kit AmpliSeq) d'une perte d'hétérozygotie (LOH) 1p et 19q, sur base de 30 SNP sur le chromosome 1 et 25 SNP sur le chromosome 19. Sensibilité : la technique utilisée détecte la LOH 1p et 19q si l'échantillon contient > 40% de cellules tumorales.

IV. Résultats

a. Liste des variants détectés :

Variants pathogéniques ou présumés pathogéniques :

Gène	Exon	Variant	Coverage	% d'ADN muté
Variants avec impact clinique potentiel				
TERT	Promoteur	chr5:1295250C>T (C250T)	206	49%
EGFR	7	p.A289D	1999	87%
PTEN	9	p.R378Ifs*37	400	25%

Variants de significations biologiques et cliniques indéterminées :

Gène	Exon	Variant	Coverage	% d'ADN muté
EGFR	8	p.G305_S306dup	1991	5%

Les données de coverage mettent en évidence la présence d'une amplification du gène EGFR. En effet, le coverage moyen de l'ensemble des 1305 amplicons est de 3047 et les 48 amplicons couvrant le gène EGFR présentent un coverage moyen de 14014.

Les données de coverage pourraient également suggérer la présence d'une amplification du gène MDM4. En effet, les 25 amplicons couvrant le gène MDM4 présentent un coverage moyen de 32789. Néanmoins cette méthode n'est pas validée pour la détection des amplifications.

Les données de coverage pourraient suggérer la présence d'une délétion du gène CDKN2A et du gène CDKN2B. En effet, le coverage moyen de l'ensemble des 1305 amplicons est de 3047 et les 62 amplicons couvrant le gène CDKN2A et les 21 amplicons couvrant le gène CDKN2B présentent un coverage moyen respectivement de 456 et de 421. Néanmoins, cette méthode n'est pas validée pour la détection des délétions. Ces données devraient être confirmées par une technique d'hybridation in situ.

b. Statut 1p19q :

Qualité de l'échantillon : optimale

Résultat : pas de perte d'hétérozygotie (LOH) des chromosomes 1p et 19 q.

V. Discussion

Les mutations au niveau du promoteur de TERT sont fréquentes dans les oligodendrogliomes et les glioblastomes. Leur impact pronostique est controversé.

Des mutations du gène EGFR ont déjà été décrites dans les tumeurs gliales. Il existe des inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) anti-EGFR pour le traitement des patients atteints de cancer pulmonaires. Cependant leur utilité clinique chez les patients atteints de gliomes n'est pas établie. Les mutations ainsi que les amplifications du gène EGFR sont fréquentes dans les glioblastomes (30% à 60%). La présence d'une amplification de l'EGFR est caractéristique d'une malignité de haut grade et peut également permettre de différencier les glioblastomes à petites cellules des oligodendrogliomes de haut grade.

Horbinski, C. et al., Semin Diagn Pathol 2010 ; 27: 105-113.

Jansen, M., et al., Lancet Neurol 2010 ; 9: 717-726.

Layfield, L.J. et al., Appl Immunohistochem Mol Morphol 2006 ; 14: 91-96.

oncokb.org

www.cbiportal.org

Les mutations du gène PTEN sont décrites dans 20 à 35% des glioblastomes. Leur impact pronostique est débattu. Bien que la FDA ait approuvé le capivasertib (pan-AKT inhibiteur) en combinaison avec le fulvestrant pour le traitement des patients avec un cancer du sein ER+/HER2- avec une mutation oncogénique du gène PTEN, leur utilité clinique pour les patients avec un autre type de cancer est indéterminée.

oncokb.org

cbiportal.org

Smith JS., et al., J Natl Cancer I. 2001;93(16):1246-56

Xu J. et al., Translational oncology. 2014;7(2):196-205

Les amplifications des gènes MDM2 ou MDM4 sont observées dans environ 15% des glioblastomes. Il existe des essais cliniques avec des inhibiteurs de MDM2/4. Leur efficacité n'est cependant pas encore avérée.

WHO Blue book

mycancergenome.org

VI. Conclusion : (NADN le 28/02/2025)

Absence de variant détecté dans les gènes IDH1 et IDH2.

Présence du variant présumé pathogénique C250T dans le promoteur du gène TERT.

Présence du variant présumé pathogénique A289D du gène EGFR.

Présence du variant présumé pathogénique R378Ifs*37 du gène PTEN.

A noter la présence d'un variant de signification biologique et clinique indéterminée dans l'exon 8 du gène EGFR.

Présence d'une amplification du gène EGFR.

Les données de coverage suggèrent la présence d'une amplification du gène MDM4 (voir résultats). Cependant ce résultat doit être confirmé par une technique alternative

Les données de coverage pourraient suggérer la présence d'une délétion des gènes CDKN2A et CDKN2B (voir résultats). Cependant ce résultat doit être confirmé par une technique d'hybridation in situ, qui pourra être faite à votre demande.

Absence de co-délétion des chromosomes 1p et 19q.

Pour toute information complémentaire, veuillez nous contacter au 02/555.85.08 ou par mail : Biomol.AnaPath@erasme.ulb.ac.be

N.B. Pour les prélèvements d'histologie et de cytologie ainsi que pour les examens complémentaires de biologie moléculaire, merci d'utiliser les nouvelles prescriptions disponibles sur le site internet du HUB :

https://www.hubruelles.be/sites/default/files/2024-03-04_demande%20analyse%20anapath%20cytologie%20v3.pdf

<https://www.hubruelles.be/sites/default/files/FO-HUB-BM-11%20Demande%20de%20biologie%20mol%C3%A9culaire-IPD%20v1.doc>

Dr N D'HAENE

Dr REMMELINK MYRIAM