

Gliomas difusos pediátricos H3K27M

SNCL 18 enero 2024

- OMS 2021 define familia de **gliomas difusos de tipo pediátrico**
 1. Glioma difuso de línea media H3K27M alterado
 2. Glioma difuso hemisférico H3G34 mutado
 3. Glioma difuso de alto grado de tipo pediátrico H3 e IDH *wildtype*
 4. Glioma hemisférico *infant type*
- Independientemente de la apariencia histológica, designados como grado 4 excepto *infant-type* que no recibe una gradación explícita

Diagnostic criteria for diffuse midline glioma, H3 K27-altered

Essential

Diffuse glioma **AND** Midline location **AND** Loss of H3 p.K28me3 (K27me3) (IHQ)

AND Presence of an H3 p.K28M (K27M) or p.K28I (K27I) mutation (for H3 K27- mutant subtypes)

OR Presence of a pathogenic mutation or amplification of *EGFR* (for the *EGFR*- mutant subtype)

OR Overexpression of EZHIP (for the H3-wildtype with EZHIP overexpression subtype)

OR Methylation profile of one of the subtypes of diffuse midline glioma

Desirable

Results from molecular analyses that enable discrimination of the H3.1 or H3.2 p.K28 (K27)-mutant subtype from the H3.3 p.K28 (K27)-mutant subtype

Neural Stem Cell

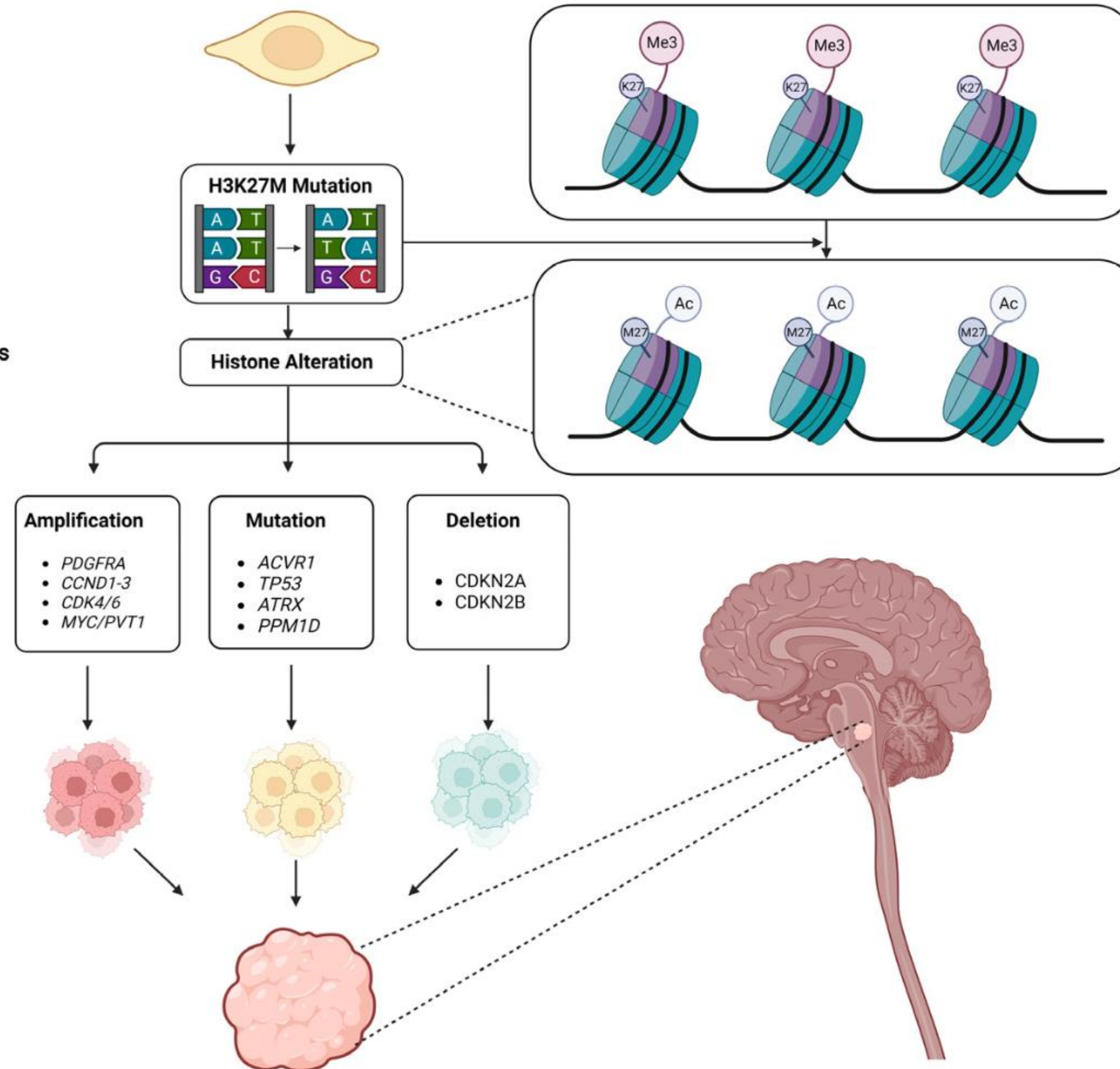
Genetic Alterations

Epigenetic Alterations

Oncogene Activation

Tumorigenesis

Tumor



CpG sites

CC**CG**GGT**C****CGGG****CG**GGGAAGAG**CG**CCTCAA**CG**GCAGGGCCCA**T****CCGCG**GA
GAGGCCAG**CG**CCCC**CG**GC**CG**GTCCAGCCCA**GGCC****CG****CG**CCT**C****CG**CCCTG
GGCTGCTCCCT**C****CG**GGCCCTGCAC**CG**CCCTCCTGCTACTTGGAG**CG**CCTT**C**
CTCA**CG**CCCTTCTCCACCC**CGCGCG**CCAGCCTCC**CGCGCG**CAG**CG**TGGGG
ATCT**CG**GCCAAATAAGGAGAAAGGG**CGCG**GCC**CG**TA**CGCGCG**CCAGGT**GC**
GTGGG**CG**AGACCA**GCTCA****CG**CCCTCCTCCAG**CG**CCAAAGGCC**CG**GCCC
ACAGCTGCCTGGCTGCAGTCA**GAAG****CG**TAGCC**CG**AGACAAAGGAAGGG**CG****C**
CTTGACT**CG**CACTTTTGT**CG**GTT**CG**AA**CG**TTCTGCTCAGTGGTG**CG**TGG
AAT**GC****AG****CGCG****C**CTTAAAT**CG**ATGG**CG**CCTAGGAGTCCATGAAAT**CA****CG**
GTACAGGCTT**CG****CG**CA**CG**AGT**CG**CC**CG**CCCTCA**CCCA****CG**CT**C****CG**CCCT
C**CG**GGATGCCCC**ACCCCT****CG**TGG**CG**GTCC**CG**CC**CG**TCCC**CG**CG**CG****CG**
CGCT**CG**GGCTGC**CG**CTGGCTCT**CG**CA**CG**CGGCC**AT**GG**CG**CA**CT****CG**AGC
TGCAGCTGGTTGACAG**CG**GA**TC****CG**CAGGCTTCC**CG**ACTTCCCC**CCCCA**
GG**CG**TGGTATT**CA**GGTGCAC**CG**CA**CG**GG**CG**CCCT**CG**TGG**CG**CCC**CG**ACCT
GG**CG**GGCTA**CG**GA**TGGGA****CG**CG**TGGCC****CG**CGACCT**CG**GG**CG**CG**CG**
CGGGAA**CCCT****CG**CTTT**CG**CCCC**CG**GGGCTTGCCTCCTT**CG**GCCC**CG**
CGTCA**CCAG**GCCTGTCTTGGGT**CCAG**GA**CATCT****CG**CC**CG**TCT**GAAG**
ACCC**CG**CCCTCCT**TC****CG**CG**CG**CC**CG**CA**CT**GCCT**CTGG****CG**CGAC**CA**CT**GAAG**
GG**CG**ACCA**CG**GGGG**CG**CA**TC****CG**ACTAC**TC****CG**AGG**CG**AG**TGCC**AGTGGC
CGCA**TCTAG**GG**CG**CTT**CG**CCCT**CTG****CG**CG**CG****CG**AGGGCAGCA**CG**TGGGC
TCTG**CG**CGCTGCTGGGGGAGGGCCTTTGGGGTGCCT**CA**GGGG**CG**CG**CG**
GGA**CG**GG**CG**CG**CG**TGCTTGGGT**CG**CC**CG**GGAA**GGGT**TGTGA**GATTGA**GGCC
CGAGGC**CG**CG**CG**CTGTGCA**GG****CG**TCCTTCC**CG**CA**GGTT****CG**GGTCCCC
AGCCCA**GGAC**AG**GG****CG**TGA**CG**AGTT**GC****CG**GGT**CA**GT**TGGT**CTCCCTGGAG
TGCCCAAGCTGA**T**CCA**CA**GGGCC**AG**CTGCCTTGCCTTCTTGTGCTCTCT
G**CG**AGCTGGTATTGAG**CG**CCCTGCCA**CG**AGCCA**GGC**CTCCCTGGTGAAG**CA**
TCA**CG**GA**TGCC**CA**CCCA**GGGAAGGGAGGCCTGGA**GGC**CT**CG**GGAGAGC
CCAA**GA**GGTGGCCCA**GGGA**GA**CA**GA**GT**TTCTCTGG**CG**CTCTTGGCTCTC
CTAGGGTGTGA**AG**CCCA**CT**CCCTGGAC**AGT**CCCT**GAG**GA**AA****CG**CCAG
CTCTTGTGAGCA**CA**CA**CT**GCCAG**AG**CTCCCTT**CA**CCCT**CG**AGCTGCAG
GAA**AG**CCCTCCCTGACCTCCTGCCAGGC**CG**GGGCA**GGGT**TTCCCTGAG**CG**T
CCCCCA**CCAT**CA**CA**AGCT**CA**GGCCA**CT****CG**AGAG**CT**CCCTTTT**TA**GA**CA**
GAA**AG**CCCTGGTGA**AG**AGCTGCCTTTGAGAGTA**AG**CTGAGGCCTT**CA**GGT
TTCTAC**AG**CCCA**GT**TACAGATGGGCTGCT**CA**AGCT**CA**GAGAGAGGGGTGG
TGACTCCCTTAGGA**ACA**CA**CA**AGCTAA**GA**AGTGGTCCCTTAA**AA**AGACAGAC
CCAGGTCTGCA**CT**TGACCTGGAA**AG**AGCT**CG**GGTAGGTGATGGGTAA**C**
ATTCCCTTAAATGGTGCATGTCA**CT**GGCC**TT**TCAGCTGGGAGCCAA**CC**AGG
TACCCCTTGGCA**CG**GCCAA**CC**CTGGCCCTGGGGAT**TC**CCA**T**GC**TGC****CG**
AGTCA**CT**CTGTCA**CT**TACCC**TGA**CA**GG**CC**TAGA**CT**CC****CG**AGGCTT**CC**TC
TTTGGCCCTCCCTGGCCCA**GGAG**CTTGGAGTGGG**TC****CG**TGCT**CA****TC****CG**
AAAG**CG**GGGGAAGCTGCCAGGCCCA**CT**CTGTGGG**CC**CT**CTA**TTCCCTGG
AGTA**CG**GGAAAGGTAAGAGGGCTGGGGTGGCCA**GA**GGAA**GGG**CA**GG**CCAG
GCCA**CG**TGGCCA**CT**CTCCCA**GT**TT**CA**AAAGGCC**TT**CCCA**AG****CG**TGTC
AAGTGGAGCTGCTGTGTTACAGTGGCCTTGGGA**GCT**CA**GAG**AGGT**TGA**
ACATA**GG**CTGGGCTCA**CA**CA**GG**CA**GGTAA**CA**GA**AGGTGGGGTTGGAGTC
AGGGTCTAGGGTGGCA**GCT**GCCAA**AG**CTGTGCA**AA**AGCTGTTT**CT****CG**
GGA**GG**CTGAGGA**CA**CA**CA**CA**CT**CCCA**CT**CCCA**GG**CTGA**CT**GGAGATT
CAGAAAG**CG**CCCTGGAGCCAGGA**CA**GAGGGTGGT**CG**T**CG**TGGATGATCT
GCTGGCCA**CT**GGTGGTAAGGGTCTCC**CG**AGCCAA**CT**GCTGTGGCTCCA
AGGGCTGGTGGGAGTGGGA**CA**GGAC**CT****CG**CTGTGTGA**CT**GGGATG**CA**
CTTACTGTGTG**TC**AGAGGGTGGCTGGTGGCCAGGC**CG**AC**CT**TCTCTC
CCCA**TG**CCCTCCCTCCCA**AC**CA**GGG**CTGGCCTGGAGCA**CT**GCTCT
CTGCA**GG**CCAGGCCAA**CT**GGGGA**CT**CA**CC**CTCCCA**T**CCCCAGGA**CCAT**
GAA**CG**CTGCCTGTGA**GCT**GCTGGGC**CG**CTGCAGGCTGAGGTCTGGAGT
G**CG**TGAGCCTGGTGGAGCTGAC**CT****CG**CTTAAAGGGCA**GGGA**AGCTGGCA
CCTGTAC**CT**CTCTCTCTGCTGCA**GT**AG**TGA**CCA**AGG**CCCTCC**C**
AGCCCA**CAT**CTCCAGCTGGA**T**CCAGGGAA**ATA**CA**GC**CTTGGCA**ACT**
GCA**GT**GAC**CA**GGGGCA**CG**GCTGCCCA**AG**GGAA**ACA**CTTCCCTTGGCTGG
GGTT**CA****CG**CCCTCTCTGGGCTGGAA**GT**GCCAAAGCCTGGGGCA**AG**AGCT
GTGTT**CA**GGCA**CA**CTGA**AC**CA**ATT**ACA**CA**CA**CG**GGAGAA**CG**AGTAA
ACAGCTTTCCCA**C**

GpC sites

CCC**GG**GT**CC**GG**GC**GGGGAA**GA****GC****GC**CCTCAA**CG****GC**AG**GC**CCATCC**CG**GA
GAG**GC**CA**CG**CCCC**CG**CGGGTCCA**GC**CCAG**GC**CC**CG**CTCC**GC**CTG
G**GC**T**GC**TCCTCCGG**GC**CT**GC**AC**CG**CCCTCCT**GC**TACTTGGA**CC****GC**TT**C**
CTCA**CG**CCCTTCTCCA**CCCC****GC****CG**GC**CA****GC**CTCC**GC****CG**CA**GC**TGGGG
ATCT**CG**CCAATAAA**GGAG**AAAGGG**CG****CG**CGCGTA**CG**CG**CG**CA**AG**T**GC**
GTGG**CG**GAGACCA**GC**TC**AC**CGCCCTCCTCCA**GC**CG**CC**AA**AG**GC**CC**CG**GC**
ACA**GC**T**GC**CTG**GC**T**GC**AGTCA**GA****AG**CGTA**GC**CCGAGACAA**GGAA**GG**CG****CG**
CTTGACT**CG**CACTTTTGT**CC**GGTTCGA**AC**GT**CT****GC**TCA**GT**GGT**GC**GTGG
AAT**CG**GA**CG**CGTCTTAA**AT**CGATG**CG**CGCTAGGA**GT**CCATGAA**ATA**CG
GTACAG**GC**TTCCG**CG**AGCGGA**T****GC**CC**CG**CCCTCA**CCCA****CG**CTCC**GC**CT
CCGGGAT**GC**CCCA**CCCC**TCGT**GC**GGTCC**CG**CGTCC**CG**CG**CG**AG**GC**
CGCTCGG**GC**T**GC**CGCT**GC**CTCT**GC**CA**CG**CG**GC****AT**GG**CG**CA**CT**CCGA**GC**
T**GC**CA**GC**TGGTTGA**GC**AGCGGA**TCC****GC**ACTTCCCCGA**CTT**CCCC**CCCCA**
GGCGTGGTATT**CA**GGTGCAC**CG**CA**CG**GG**CG**CCCT**CG**TGG**CG**CCC**CG**ACCT
GGGGCTA**CG**GA**TGGGA****CG**CG**TGGCC****CG**CGACCT**CG**GG**CG**CG**CG**
CGGGAA**CCCT**CGTCTTT**CG**CCCCCGGG**CC**CT**GC**CTCCTT**CG**CGCC**CG**
CGTCA**CCAG**GCCTGTCTTGGGT**CCAG**GA**CATCT****CG**CC**CG**TCT**GAAG**
ACCC**CG**CCCTCCT**TC****CG**CG**CG**CC**CG**CA**TC**GCCT**CTGG****CG**CGAC**CA**CT**GAAG**
CGCA**CCCA****CG**GGGG**CG**CA**TC****CG**ACTAC**TC****CG**AGG**CG**AG**TGCC**AGTGGC
CGCA**TCTAG**GG**CG**CTT**CG**CCCT**CTG****CG**CG**CG****CG**AGGGCAGCA**CG**TGGGC
TCTG**CG**CGCTGCTGGGGGAGGGCCTTTGGGGTGCCT**CA**GGGG**CG**CG**CG**
GGA**CG**GG**CG**CG**CG**TGCTTGGGT**CG**CC**CG**GGAA**GGGT**TGTGA**GATTGA**GGCC
CCGA**GG**CC**CG**CG**CG**CTGT**GC**AG**CG**CTCCTTCC**CG**CA**GGTT**CCGGGT**CCCC**
AGCCCA**GGAC**AG**GC**GTGA**CC**GA**GT****GC**CGGGT**CA**GT**TGGT**CTCCCTGGAG
T**GC**CCAA**GC**TGA**T**CCA**CA**GG**GC**CCCA**GC**CT**GC**TT**GC**TTCTTGTCTCTTCT
GCGA**GC**TGGTATTGA**GC**CGCT**GC**CA**CG**AG**GC**CTTCCCTGGTGAAG**TA**
TCA**CG**GA**TGCC**CA**CCCA**GGGAAGGGAG**GC**CTGGA**GC**CTCCGGGAG**AG**
CCAA**GA**GGTGGCCCA**GGGA**GA**CA**GA**GT**TTCTCTG**GC**GTCT**GC**CTCTC
CTAGGGTGTGA**AG**CCCA**CT**CCCTGGAC**AGT**CCCT**GAG**GA**AA****CG**CCAG
CTCTTGTGAGCA**CA**CA**CT**GCCAG**AG**CTCCCTT**CA**CCCT**CG**AGCTGCAG
GAA**AG**CCCTCCCTGACCTCCTGCCAGGC**CG**GGGCA**GGGT**TTCCCTGAG**CG**T
CCCCCA**CCAT**CA**CA**AGCT**CA**GGCCA**CT****CG**AGAG**CT**CCCTTTT**TA**GA**CA**
GAA**AG**CCCTGGTGA**AG**AGCTGCCTTTGAGAGTA**AG**CTGAGGCCTT**CA**GGT
TTCTAC**AG**CCCA**GT**TACAGATGG**GC**T**GC**CA**GC**TCAGAGAGAGGGGTGG
TGACTCCCTTAGGA**ACA**CA**CA****GC**TAA**GA**AGTGGTCCCTTAA**AA**AGACAGAC
CCAGGTCT**GC**ACTCTGACCTGGAA**AG**AGCT**CG**GGTAGGTGATGGGTAA**C**
ATTCCCTTAAATGGT**GC**ATGTCA**CT**GGCC**TT**TCAGCTGGGAGCCAA**CC**AGG
TACCCCTTGGCA**CG**GCCAA**CC**CTGGCCCTGGGGAT**TC**CCA**T**GC**TGC****CG**
AGTCA**CT**CTGTCA**CT**TACCC**TGA**CA**GG**CC**TAGA**CT**CC****CG**AGGCTT**CC**TC
TTTGGCCCTCCCTGGCCCA**GGAG**CTTGGAGTGGG**TC****CG**TGCT**CA****TC****CG**
AAAG**CG**GGGGAAGCTGCCAGGCCCA**CT**CTGTGGG**CC**CT**CTA**TTCCCTGG
AGTA**CG**GGAAAGGTAAGAGGGCTGGGGTGGCCA**GA**GGAA**GGG**CA**GG**CCAG
GCCA**CG**TGGCCA**CT**CTCCCA**GT**TT**CA**AAAGGCC**TT**CCCA**AG****CG**TGTC
AAGTGGAGCTGCTGTGTTACAGTGGCCTTGGGA**GCT**CA**GAG**AGGT**TGA**
ACATA**GG**CTGGGCTCA**CA**CA**GG**CA**GGTAA**CA**GA**AGGTGGGGTTGGAGTC
AGGGTCTAGGGTGGCA**GC**T**GC**CAA**GC**TGT**GC**AA**CA**AA**GC**TGTTT**CT****GC**
GGA**GG**CTGAGGA**CA**CA**CA**CA**CT**CCCA**CT**CCCA**GG**CTGA**CT**GGAGATT
CAGAAAG**CG**CCCTGGAGCCAGGA**CA**GAGGGTGGT**CG**T**CG**TGGATGATCT
GCT**GC**CCA**CT**GGTGGTAAGGGTCTCC**CG**CA**GC**CAA**CT****GC**TGT**GC**CTCCA
AGGGCTGGTGGGAGTGGGA**CA**GGAC**CT****CG**TGTGTGA**CT**GGGATG**CA**
CTTACTGTGTG**TC**AGAGGGT**GC**CTGGTGG**CG**AG**GC**CGAC**CA**CTTCTCTC
CCCA**T****GC**CTTCCCTCCCA**AC**CA**GGG**CT**GC**CGCTGGAG**GC**AC**CT****GC**CT
CTGCA**GC**CA**GG**CCAA**CT**GGGGAC**CT**CA**CC**CTCCCA**T**CCCCAGGA**AC**CA
GAA**CG**CT**GC**CTGTGA**GC**T**GC**TGG**CG**CG**CG**CT**GC**AG**GC**TGAGGTCTGGAGT
CGGTGA**GC**CTGGTGGAG**GC**TGAC**CT****CG**CTTAAAGGGCA**GGGA**AA**GC**T**GC**CA
CCTGTAC**CT**CTCTCTCT**GC**AGTA**TGA****TGA**CCA**AGG**CCCTCC**C**
AGCCCA**AC**ATCTCCA**GT**GGA**T**CCAGGGAA**ATA**CA**GC**CTTGGCA**ACT**
GCA**GT**GAC**CA**GGGGCA**CG**GCTGCCCA**AG**GGAA**ACA**CTTCCCTTGGCTGG
GGTT**CA****CG**CCCTCTCTGGGCTGGAA**GT**GCCAAAGCCTGGGGCA**AG**AGCT
GTGTT**CA**GGCA**CA**CTGA**AC**CA**ATT**ACA**CA**CA**CG**GGAGAA**CG**AGTAA
ACA**GC**TTTCCCA**C**

DNA methylation introduction

DNA methylation is an epigenetic mechanism known to affect gene expression.

DNA methylation (5 mC)¹ is formed by the addition of a methyl group to the 5' position of cytosine residues within a CpG dinucleotide context in mammals.

The majority of CpG sites are highly methylated in the mammalian genome with the exception of CpG islands which are largely unmethylated¹.

Genome-wide demethylation happens in the early stages of embryogenesis to form totipotent cells. This is followed by de novo methylation where tissue-specific genes undergo demethylation in their cell type of expression.¹

DNA methylation is maintained during DNA replication of somatic cells.² When the literature refers to DNA methylation as heritable it generally refers to heritability across cell divisions, not transgenerational.

Some regions of the methylome vary across different tissue or cell types.³

DNA methylation and disease

Alterations in DNA methylation are associated with numerous diseases, including cancer, cardiovascular diseases, metabolic disorders, and neurodegenerative diseases such as those caused by expansion of microsatellite repeat elements.⁴

Therefore, identifying therapeutics that inhibit these epigenetic changes are of great interest.

Cancer

Abserrant DNA methylation has been implicated as one of the mechanisms driving tumour onset, development, progression and recurrence.

Epigenetic gene silencing due to promoter CpG island hypermethylation is one of the most common mechanisms by which tumour suppressor genes are inactivated during tumorigenesis.

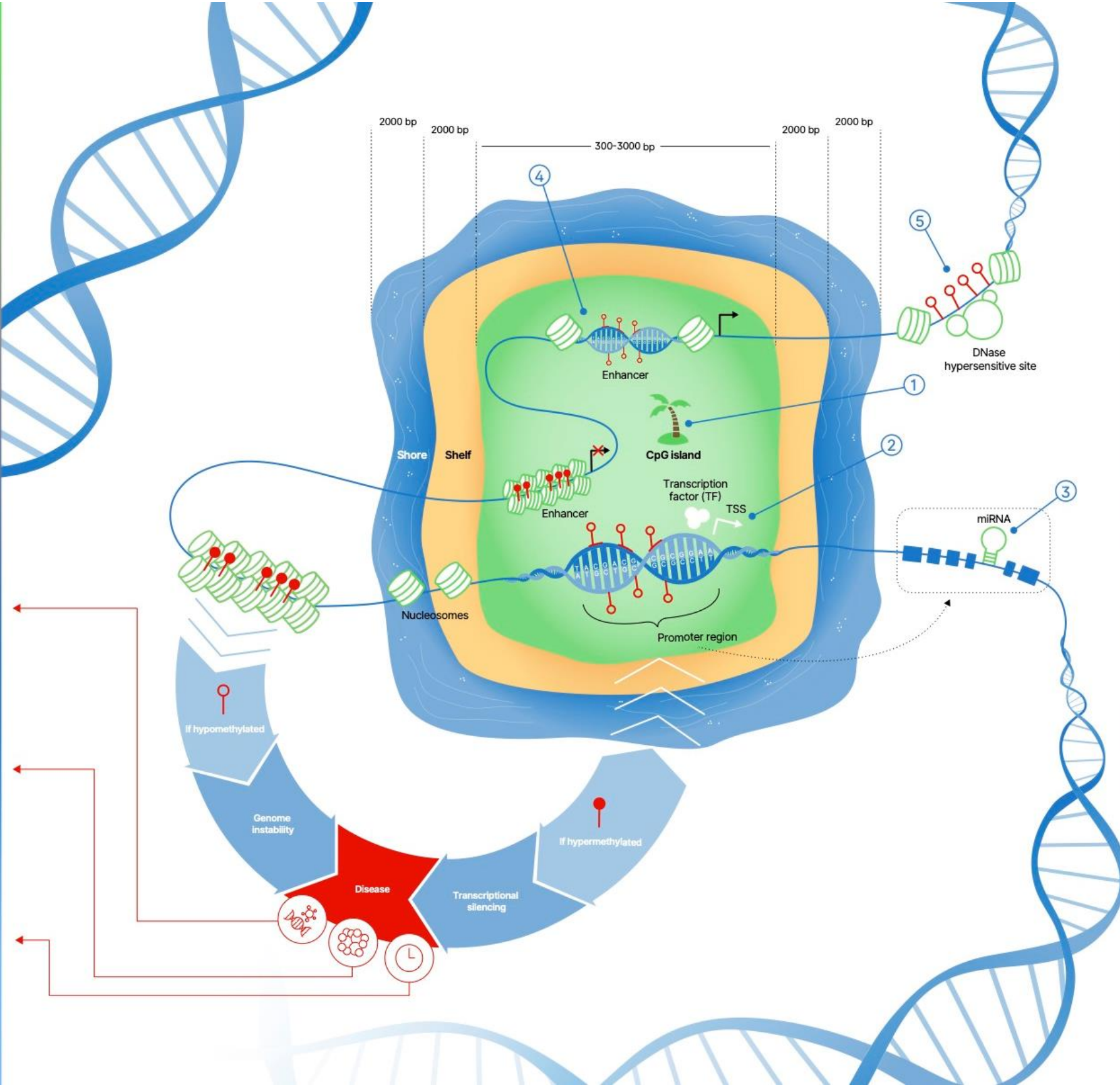
Another typical feature of methylation in carcinogenesis is global DNA hypomethylation linked to genomic instability.⁵

Aging and the Epigenetic Clock

Changes in DNA methylation correlate with age and it has been shown that a set of differential methylated loci can be used to calculate the biological age of mammals, with potential predictive powers for life expectancy. This has been dubbed the "Epigenetic Clock".⁶

This discovery has led to research into the potential to delay or reverse these epigenetic changes with life style changes, dietary interventions, pharmaceutical approaches, or cellular reprogramming.

© 2021 Numina, Inc. All rights reserved. XXXX



The relationship between DNA methylation and specific elements of the mammalian genome

1 CpG islands
CpG islands (or CG islands) are regions in the genome with a high frequency of CpG sites, usually 200-1,000 base pairs long. CpG islands are mainly located in promoter regions and found in almost half of all human genes.

2 Promoter regions
Promoter regions are DNA sequences that define where transcription of a gene by RNA polymerase begins. Promoters are typically located directly upstream or at the 5' end of the transcription start site (TSS). Promoter regions are 100-1,000 base pairs long. RNA polymerase and the necessary transcription factors (TFs) bind to the promoter sequence and initiate transcription.

3 miRNA promoter regions
DNA methylation of promoter regions of miRNA genes can modulate their transcription levels and hypermethylation appears to contribute to miRNA dysregulation in cancer.

4 Enhancers
Enhancers are short (50-400 bp) DNA sequences that bind tissue-specific transcription factors and can regulate transcription at distant loci through chromatin looping. Most are found in intergenic regions, but some are also found within genes.⁷

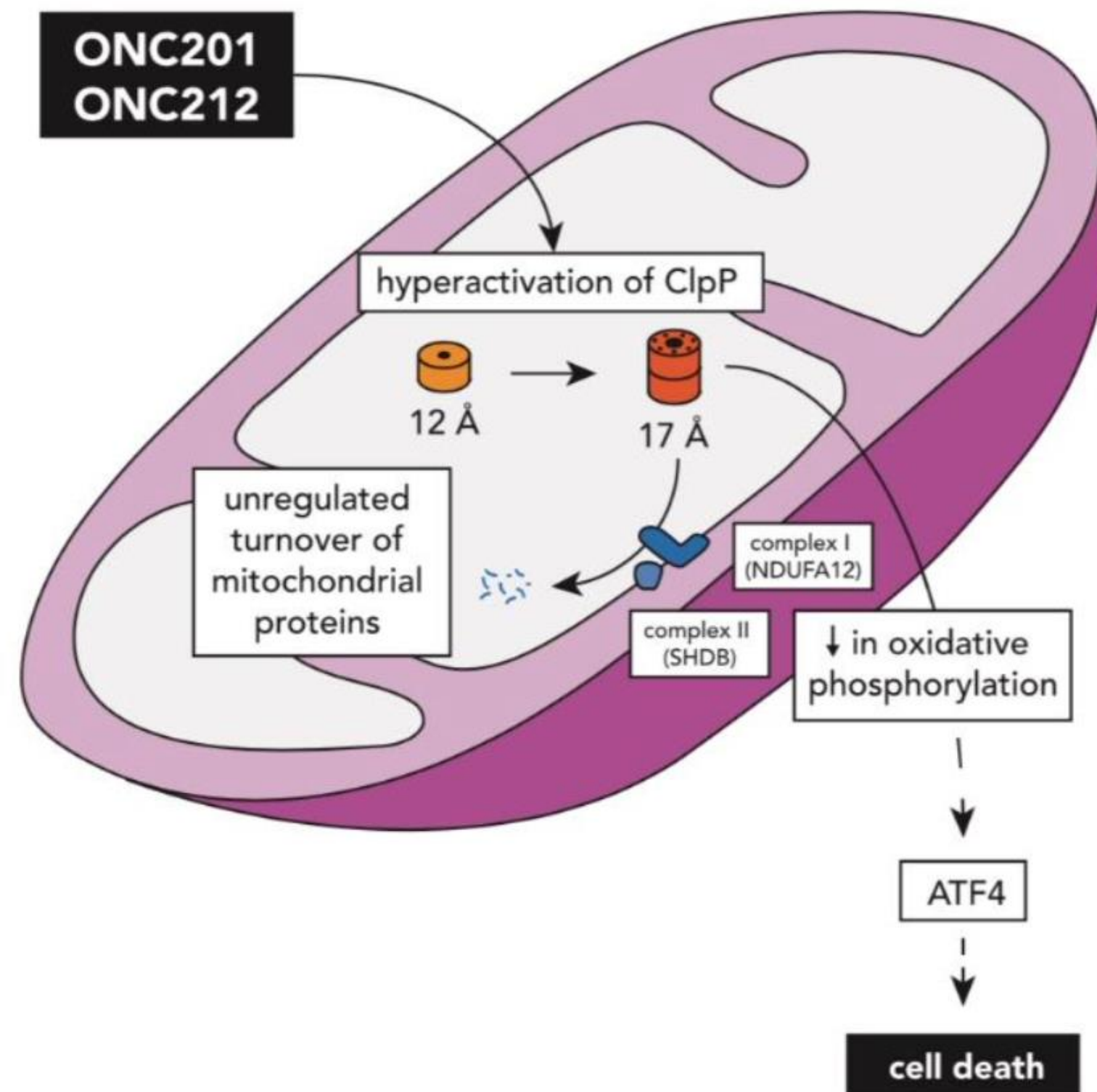
5 DNaase hypersensitivity sites
DNaase hypersensitivity sites (DHSs) are short nucleotide regions of the genome that are extremely sensitive to cleavage by the DNaase I enzyme and various other nucleases. In these regions, the nucleosomal structure is less condensed, making the DNA more accessible to binding by proteins like transcription factors and DNaase I.
Methylated CpG falling within DHSs impedes the association of transcription factor to DNA, inhibiting the accessibility of chromatin.⁸

References

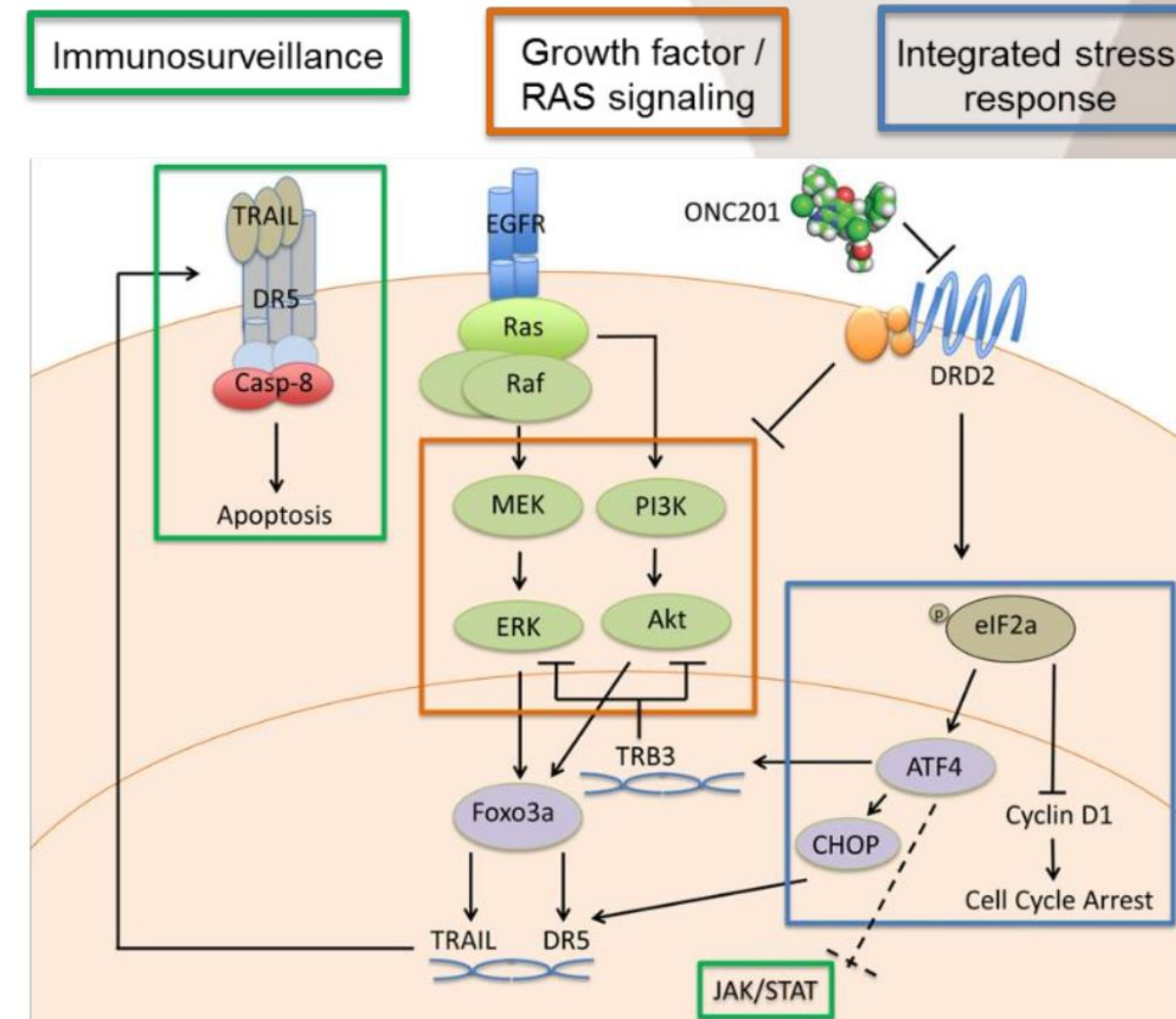
1. Jones, D.S. et al. DNA methylation dynamics of the human germline. *Nature*, 2014, 510(7511): 411-415.
2. Meyer, M. et al. The dynamic regulation of DNA methylation. *Cell*, 1997, 89(2): 23-34.
3. Jones, D.S. et al. Methylation of human DNA methylation sites. *Nature Reviews Genetics*, 2004, 5(1): 21-32.
4. Peak, C. & Petrij, A. Epigenetics and complex disease: from insight to new therapeutic ideas. *Nature Reviews Genetics*, 2004, 5(1): 21-32.
5. Song, H. CpG islands and the function of DNA methylation. *Nature*, 2004, 431(7047): 20-21.
6. Horvath, D. et al. Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging. *Nature*, 2016, 539(7610): 481-485.
7. Petrij, A. et al. DNA looping induced by a transcriptional enhancer in vivo. *Nature*, 2004, 431(7047): 20-21.
8. Krawiec, M. et al. Structural enhancers and alternative promoters. *Nat. Rev. Genet.*, 2017, 18(1): 101-111.
9. Jones, D.S. et al. Genome-wide methylation sites in chromatin. *Ann. Rev. Biochem.*, 1982, 51: 103-107.

Tumor Type	H3K27me3 Status	Prognosis	Therapy
Diffuse midline glioma, H3 K27-altered	Loss of H3K27me3 (H3K27M)	Poor prognosis, short survival	EZH2/DOT1L inhibitors, Radiotherapy
Posterior Fossa Ependymoma	Loss of H3K27me3 in Group A (PFEA)	Poor prognosis in Group A (PFEA), better in Group B (PFEB)	Surgery, Radiotherapy, possible Chemotherapy
Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p19q-codeleted	Retained or loss of H3K27me3	Depends on 1p/19q co-deletion; worse with H3K27me3 loss	Chemotherapy, Molecular targeted Therapy
Meningioma (grade 2 and 3)	Loss of H3K27me3	Higher recurrence, worse prognosis	Epigenetic therapies, Radiotherapy

❖ **Experimental arm: ONC201 (imipridone) with 2 mechanisms of action**



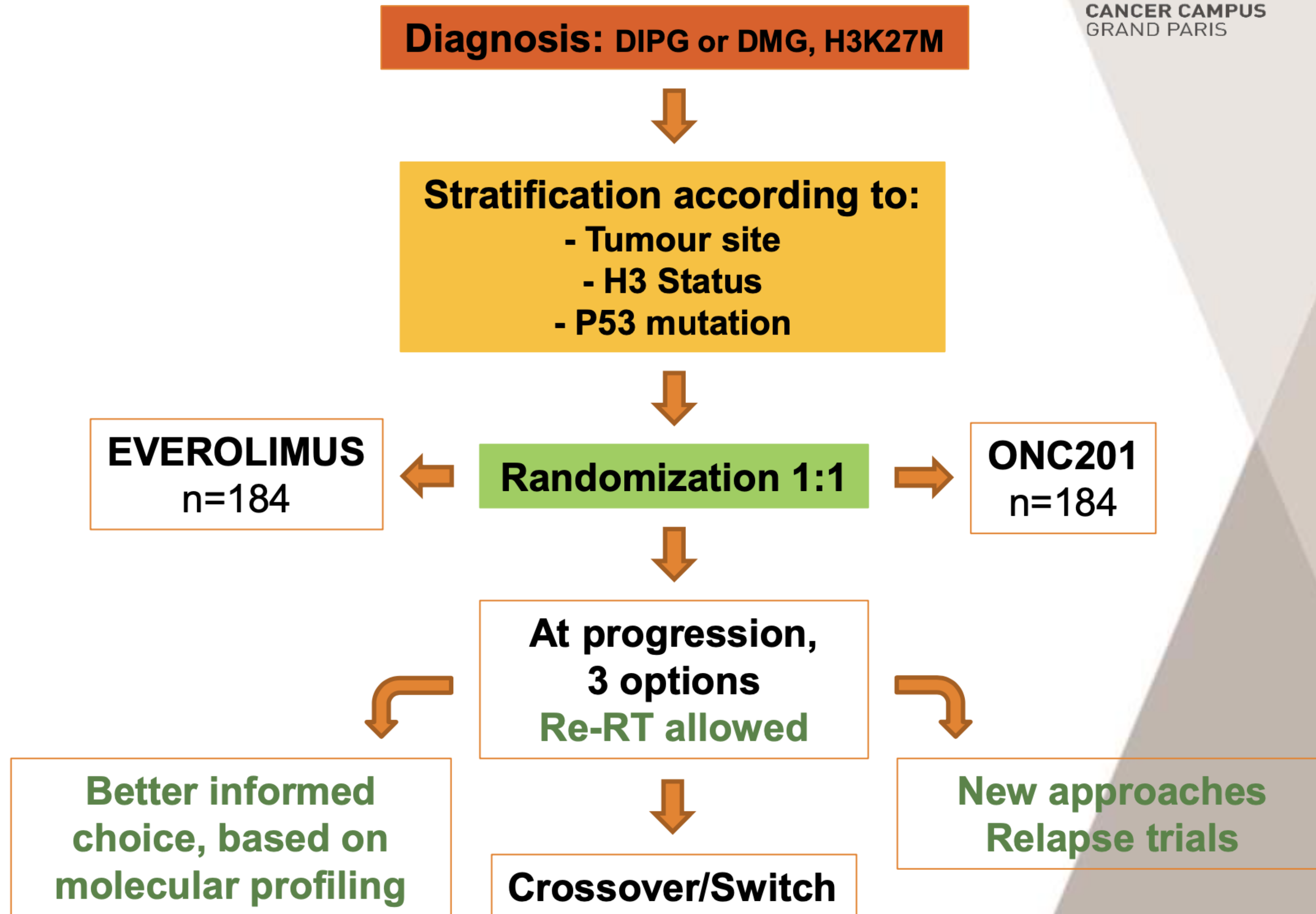
Modification of ClpP



DRD2 blocking

Source : Wang S., Cancer Cell, 2019

❖ General scheme BIOMEDE 2.0



Biopsy in a series of 130 pediatric diffuse intrinsic Pontine gliomas

Stephanie Puget^{1,2,5} · Kevin Beccaria^{1,2} · Thomas Blauwblomme^{1,2} · Thomas Roujeau^{1,2} · Syril James^{1,2} · Jacques Grill³ · Michel Zerah^{1,2} · Pascale Varlet⁴ · Christian Sainte-Rose^{1,2}

Table 1. Main results of pediatric and mixed series of brainstem stereotactic biopsies

Authors	Year	Patients	Technique (frame and route)	Diagnostic yield	Histopathologic diagnostic	Morbidity, <i>N</i> (%)	Mortality
Samadani (meta-analysis)	2003	381 A and C	CRW BRW, Todd-Wells, Leksell, Richert, 292 TF	96 %	31 % HGG, 23 % LGG, 10 % meta, 16 % hematomas and miscellaneous	4 % T, 1 % P	1 A (0.3 %)
Pincus (meta-analysis)	2006	192 C	CRW, TF, and TC	94.9 % (75 to 100 %)	PNET, neurocytoma, ependymoma, vasculitis, germinoma...	4.9 % (0 to 16 %)	0.7 % (0 to 3.3 %)
Pirotte	2007	20 C	PET (18FDG), 3 TF, 17 TC	100 %	75 % glioma, 25 % others (PNET, teratoma, germinoma)	1 T (5 %), 1 P (5 %)	0
Rajshekhar	2010	106 C	BRW or CRW, 77 TF, 29 TC	100 %	90 % glioma, 10 % inflammatory	3 T (2.8 %)	0
Dellaretti	2011	44 C	Talairach, 42 TF, 2 TC	93 %	36 % HGG, 34.6 % LGG, miscellaneous	13 (9.8 %)	0
Phi	2012	4 C	Leksell, all TC	100 %	100 % DIPG	1 T (25 %)	0
Wang	2015	15 C	Stealth medtronic, all TC	100 %	13 HGG, 2 LGG	3 T (20 %)	0
Puget	2015	130 C	Leksell, all TC	100 %	100 % DIPG	5 T (3.9 %)	0

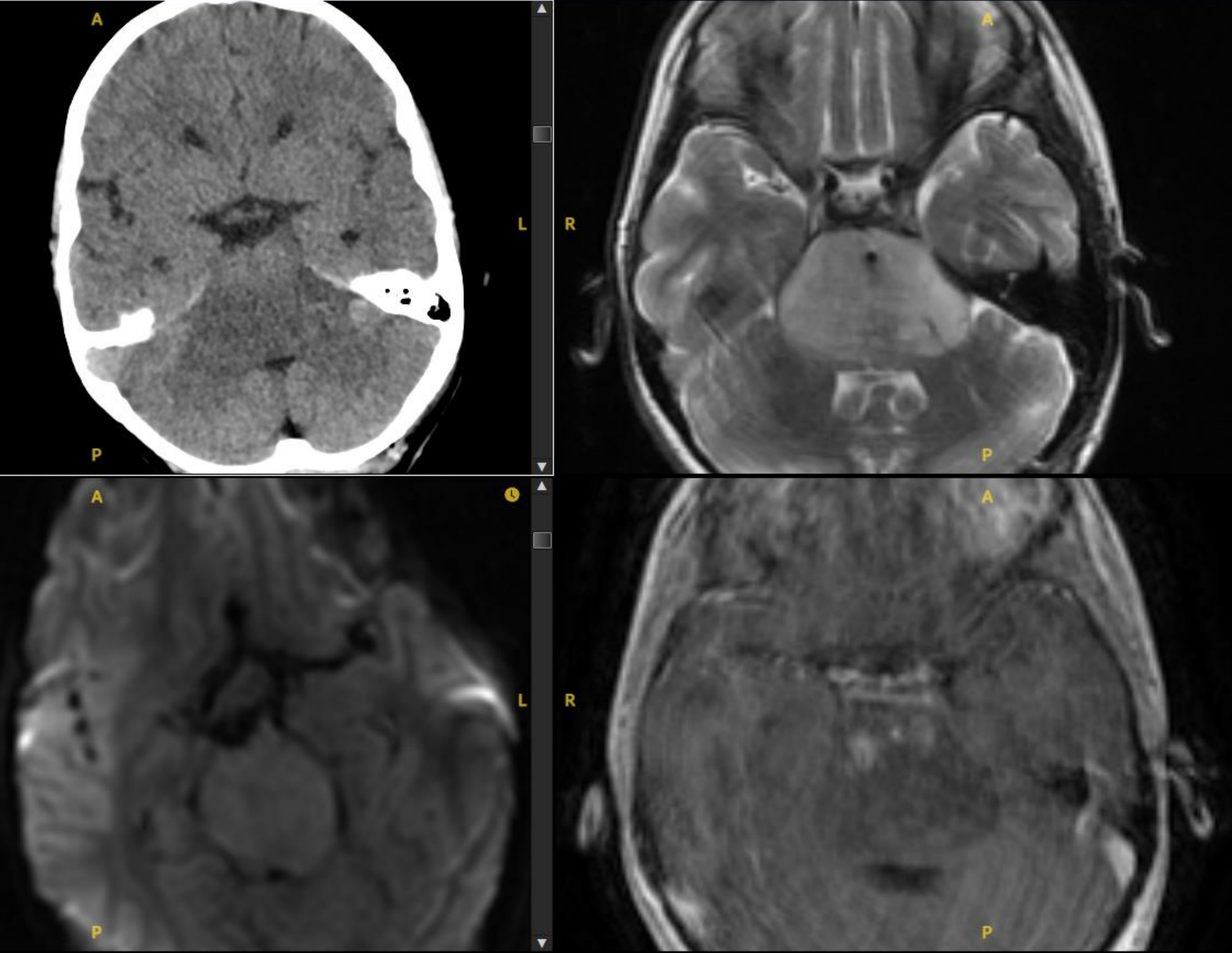
*A*adults, *C*children, *BRW* Brown-Roberts-Wells, *CRW* Cosman-Robert-Wells, *TC*transcerebellar, *TF*transfrontal, *N*patient number, *T*transient, *P*-permanent, *HGG*high-grade glioma, *LGG*low-grade glioma

Update on the diagnostic value and safety of stereotactic biopsy for pediatric brainstem tumors: a systematic review and meta-analysis of 735 cases

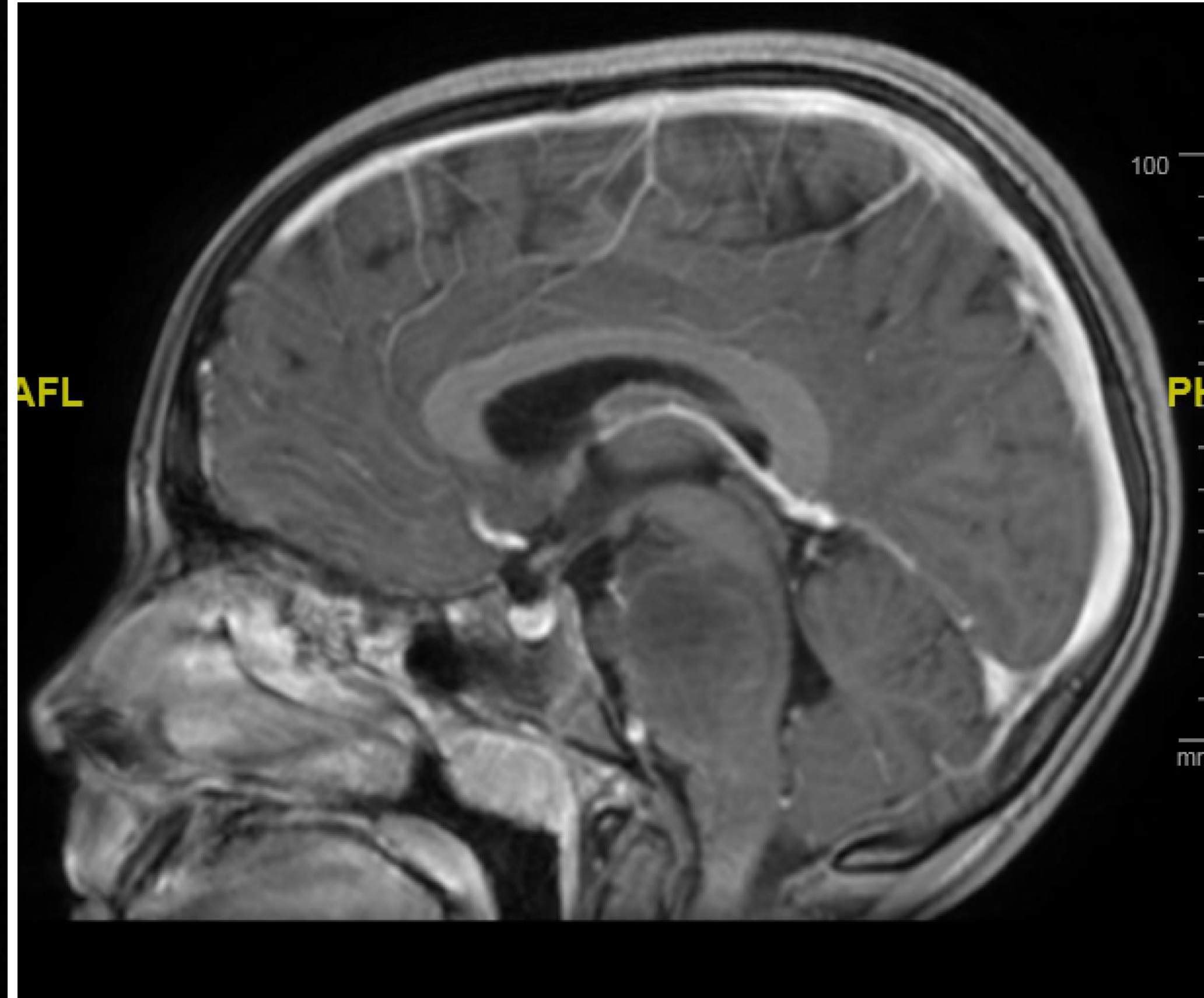
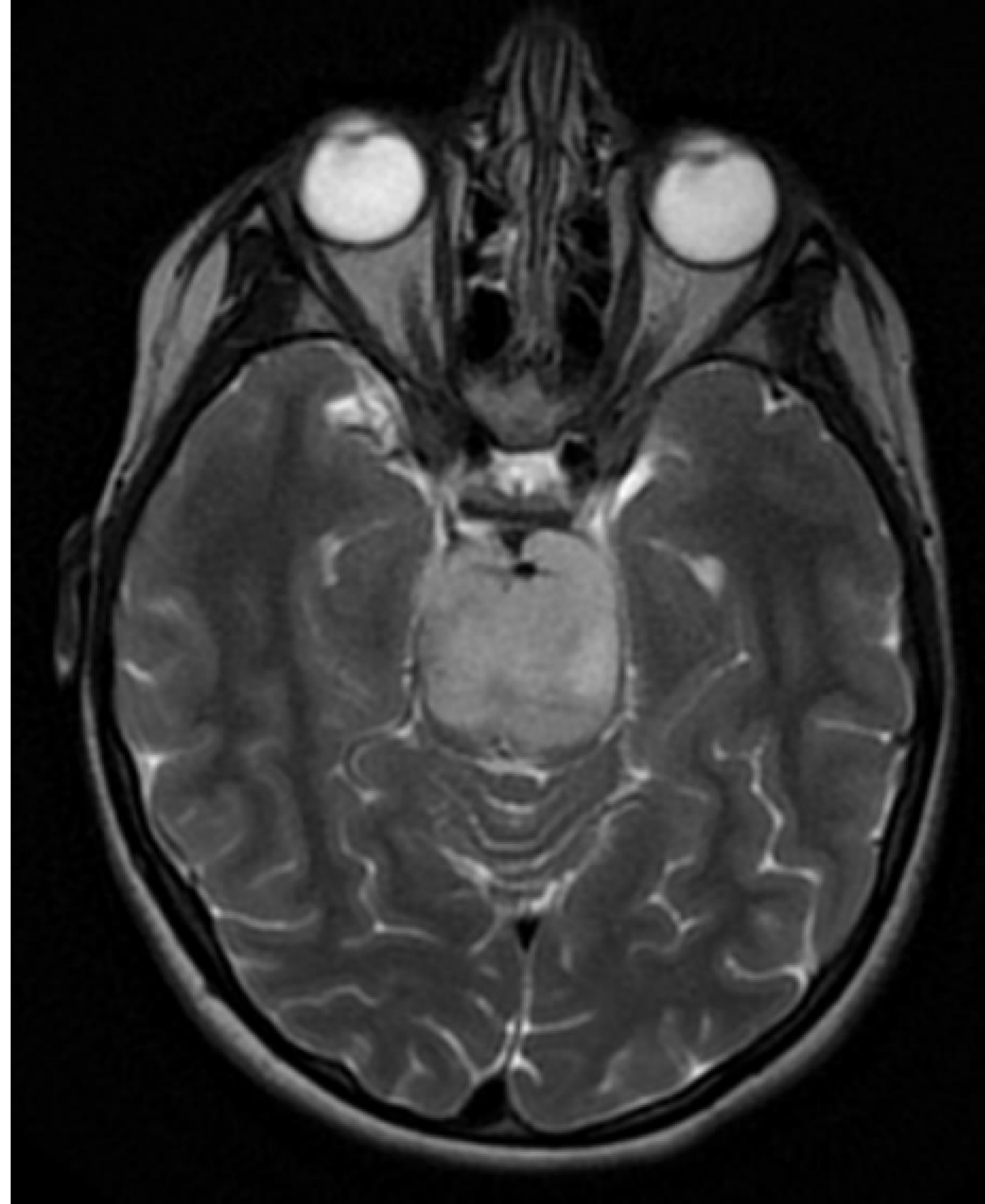
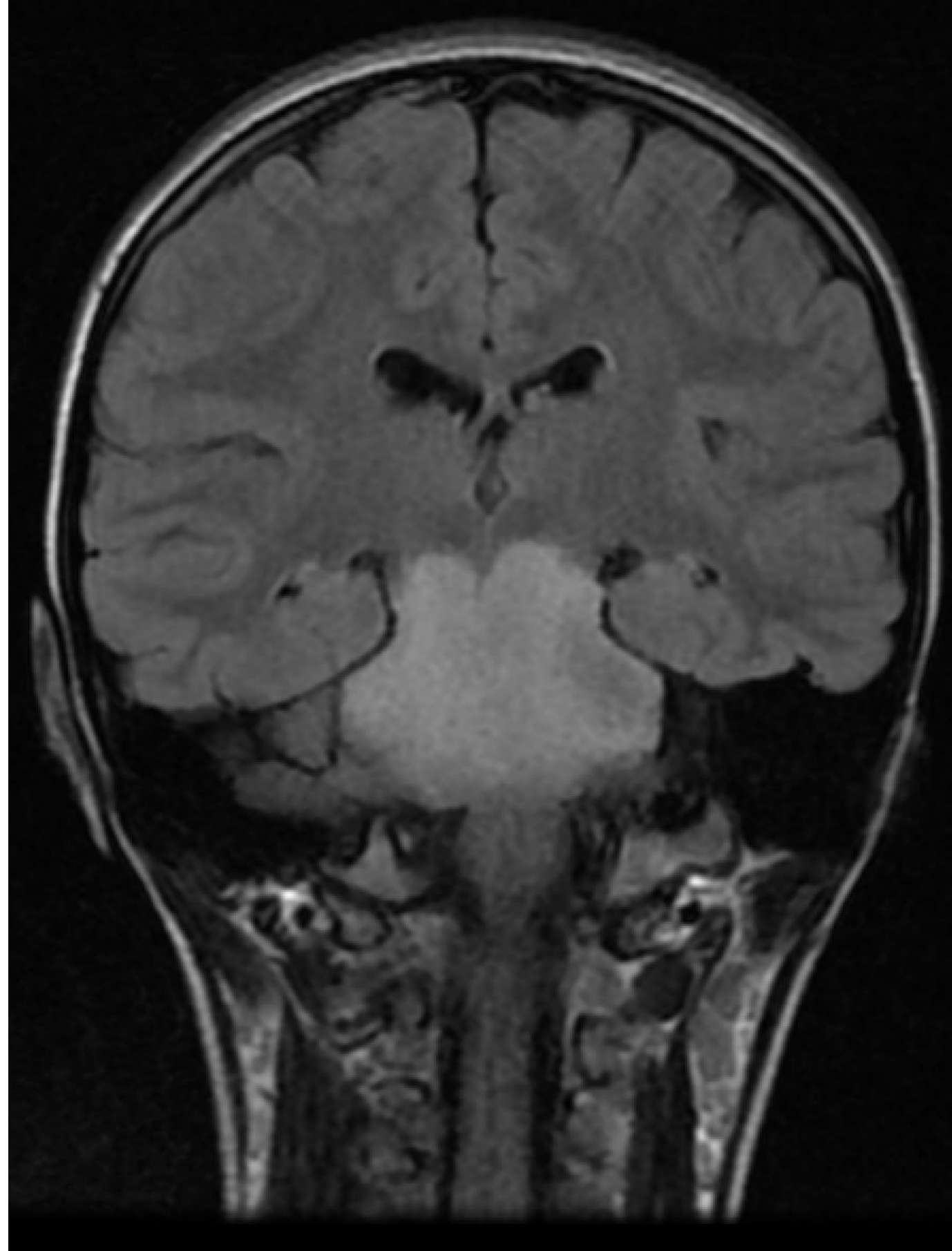
*Christina Hamisch, MD,^{1,2} Philipp Kickingereder, MD,^{3,4} Matthias Fischer, MD,⁵ Thorsten Simon, MD,⁵ and Maximilian I. Ruge, MD^{1,4}

	%	IC 95%
Rentabilidad	96.1	93.5-98.1
Morbilidad	6.7	4.2-9.6
Permanente	0.6	0.2-1.4
Mortalidad	0.6	0.2-1.3

- Clínica de fatiga precoz, no tolera sus actividades habituales. Cambios conductuales (se cuida menos su aspecto físico), mayor apatía. Menor rendimiento escolar, inapropiado para el nivel de exigencia que habitualmente lleva (no sabe hacer operaciones matemáticas...)
- Alteraciones en la motricidad grosera y fina y en la coordinación motora.
- No clínica de hipertensión intracraneal
- Disfagia, lentitud al tragar, no atragantamientos
- GCS 15, colaboradora- Nistagmus horizontal en mirada lateral y vertical en supraversion ocular. No diplopia. No hipoestesia facial. No paresia facial pero sí hipomimia facial.
- No hipoacusia No afectación de ppcc bajos. No debilidad ni hipoestesia en miembros.
- Dismetría en ambos mmss, más evidente en MSD. Menos evidente en mmii Romberg negativo, marcha inestable, no consigue marcha tandem.
- RM muestra glioma difuso pontino. No hidrocefalia.



SSC



AP: BST 7.6.23. Glioma difuso de tronco H3K27 alterado, grado IV.

Proliferación de moderada densidad celular. Las células muestran núcleos redondos/ovoideos con leve atipia y escaso citoplasma que se disponen en una matriz fibrilar alternando con vasos congestivos. No se observa proliferación vascular ni necrosis. Las células muestran expresión para GFAP y oligo 2. Negatividad para HG34W. Ki67 15%.

Estudio IHQ:

- **Histona3K27: expresión nuclear focal (alterada).**
- P53: expresión nuclear (15%) (mutado).
- IDH1: no se observa expresión (no mutado).
- ATRX: expresión nuclear mantenida (no mutado).

NGS del diagnóstico (Action OncoKitDx (Automatic) IMG-365 CE-IVD (Imegen)): vv patológicas:

-**Gen: H3F3A** _Posición:Chr1: 226252135 _Profundidad:1616_VAF: 43.5 % _ RefSeq Transcript:

NM_002107.4 _Exón: 2/4_cHgvs: **c.83A>T** _pHgvs: **p.Lys28Met**

-Gen: TP53 _Posición:Chr17: 7577538 _Profundidad:2482_VAF: 82.2 % _ RefSeq Transcript:

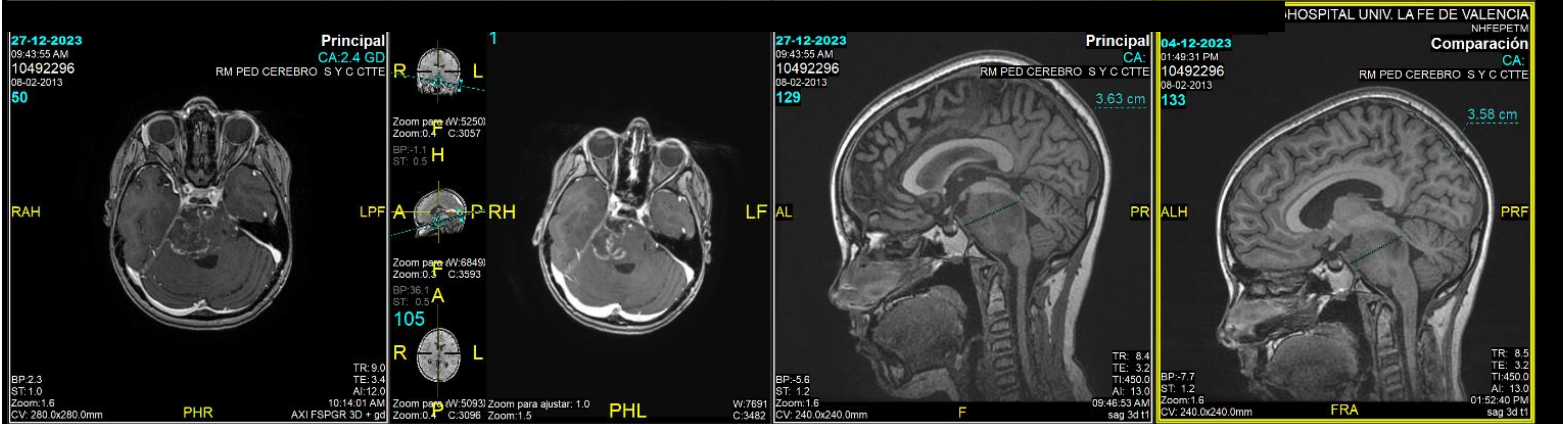
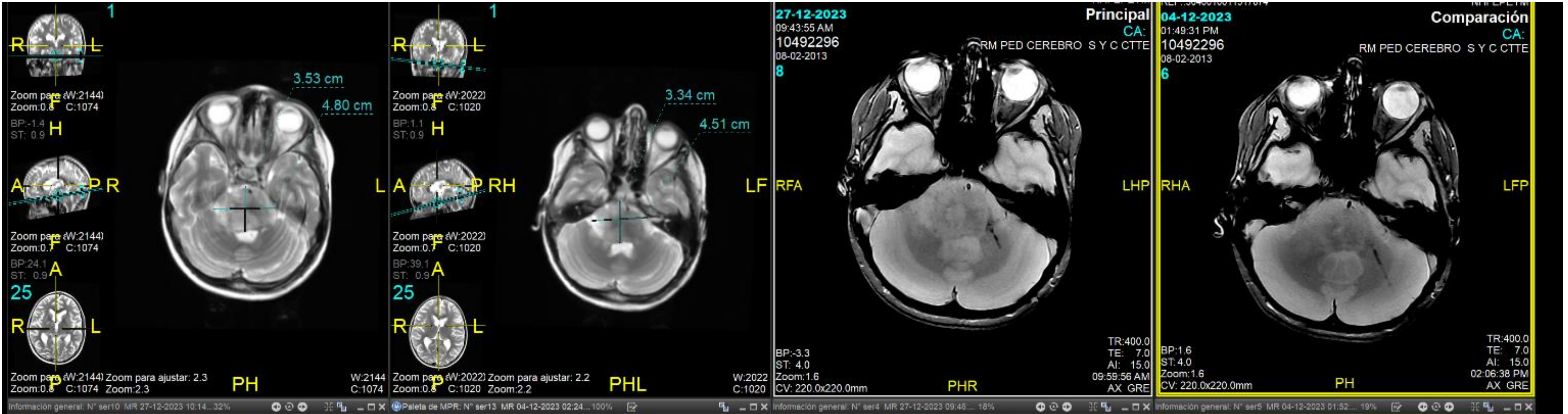
NM_000546.5 _Exón: 7/11_cHgvs: c.743G>A_pHgvs: p.Arg248Gln

Mejoría inicial post **RT** (54Gy) 7.23 quedando asintomática

Se incluye en ensayo **I3Y-MC-JPCS** 30.10.23 por persistencia imagen y mal pronóstico.

Empeoramiento neurológico lento pero progresivo, principalmente consistente en mayor torpeza motora del lado izquierdo y mayor ataxia.

Exitus 10.4.24



4 años - tortícolis hacia la derecha con desviación conjugada de la mirada hacia la izquierda, desde **08/ 21**, sobretodo al ver la televisión.

Se prescriben lentes correctoras por astigmatismo que corrigen la tortícolis. Poca adherencia a las lentes por la edad del paciente.

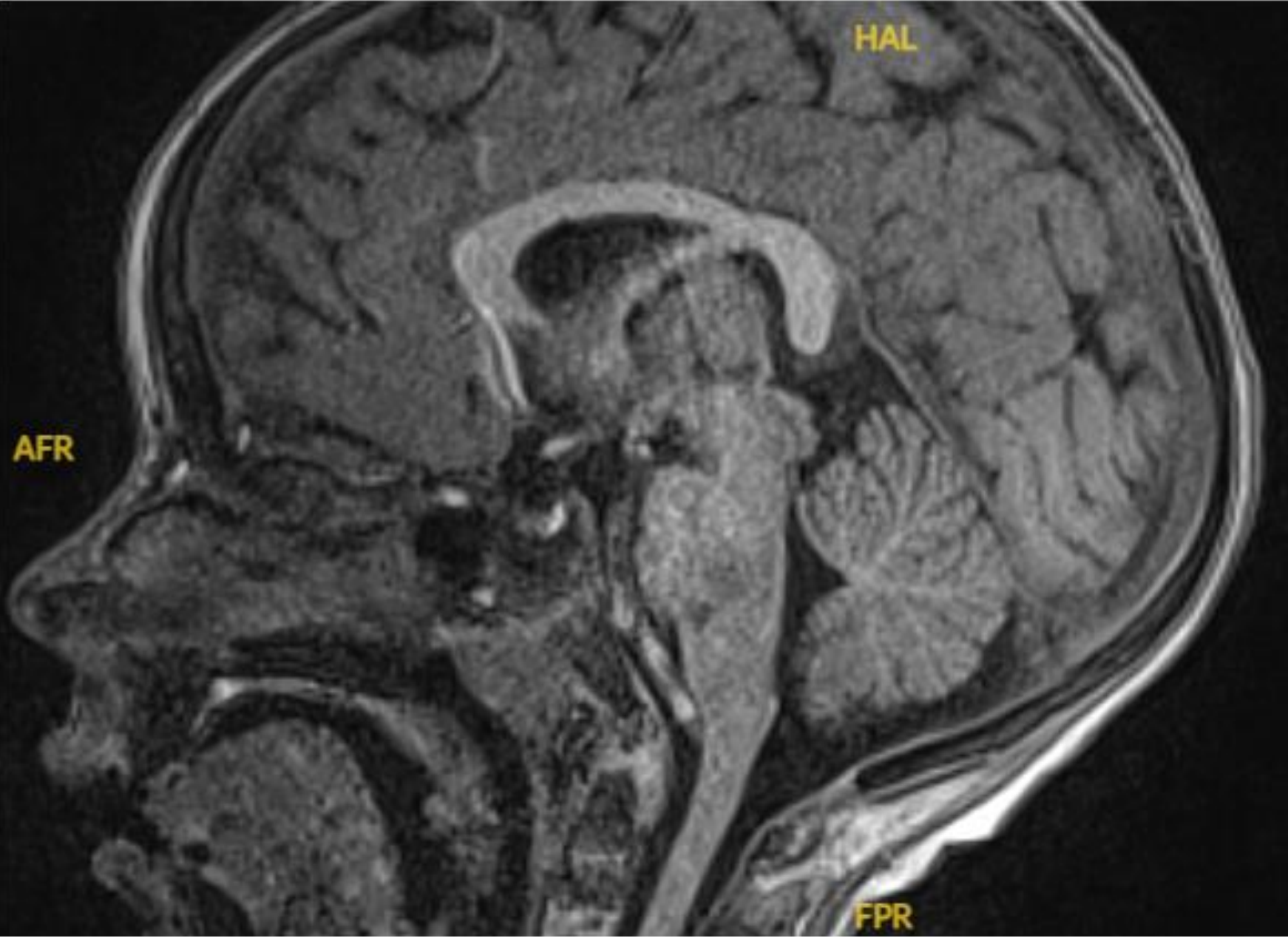
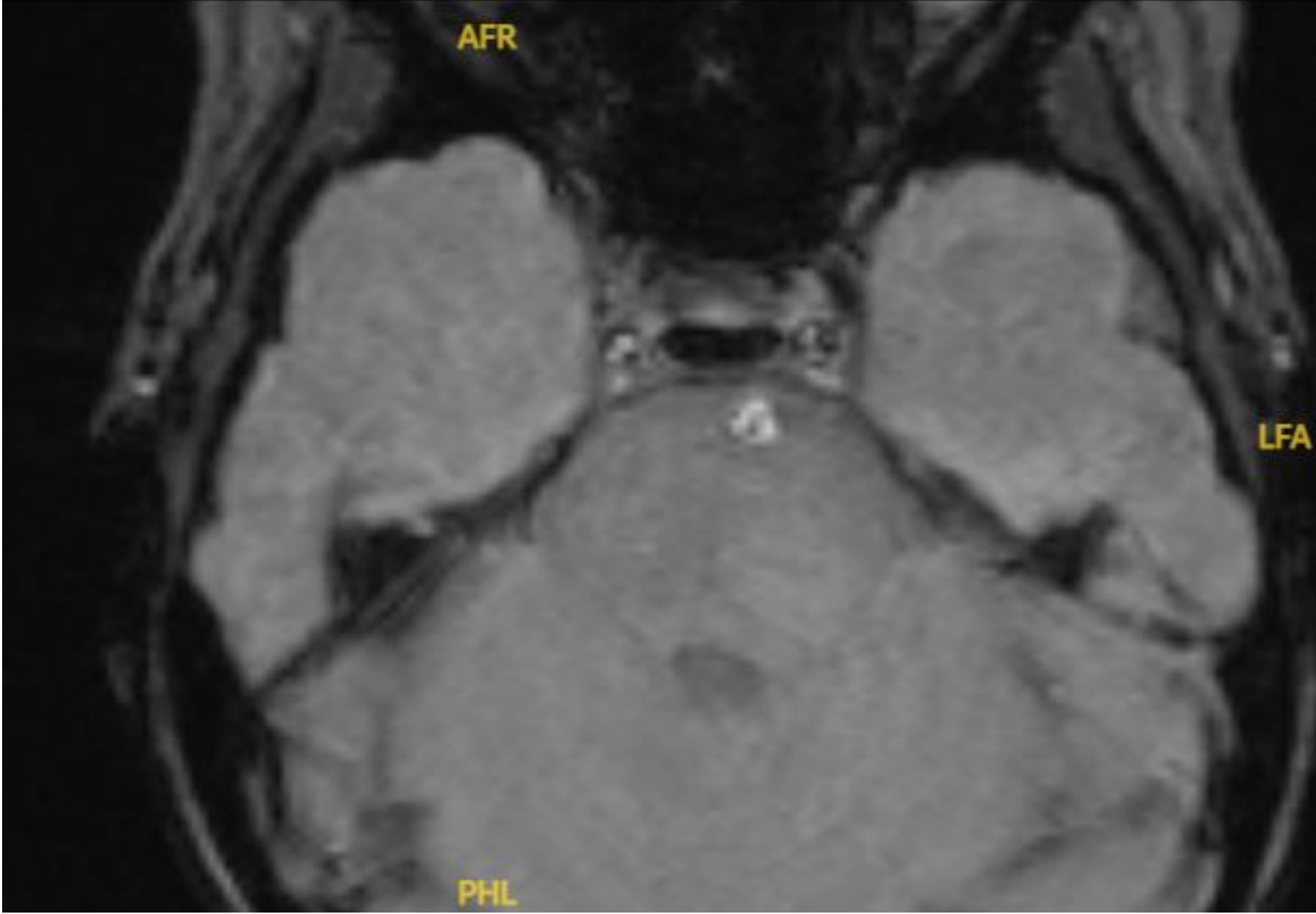
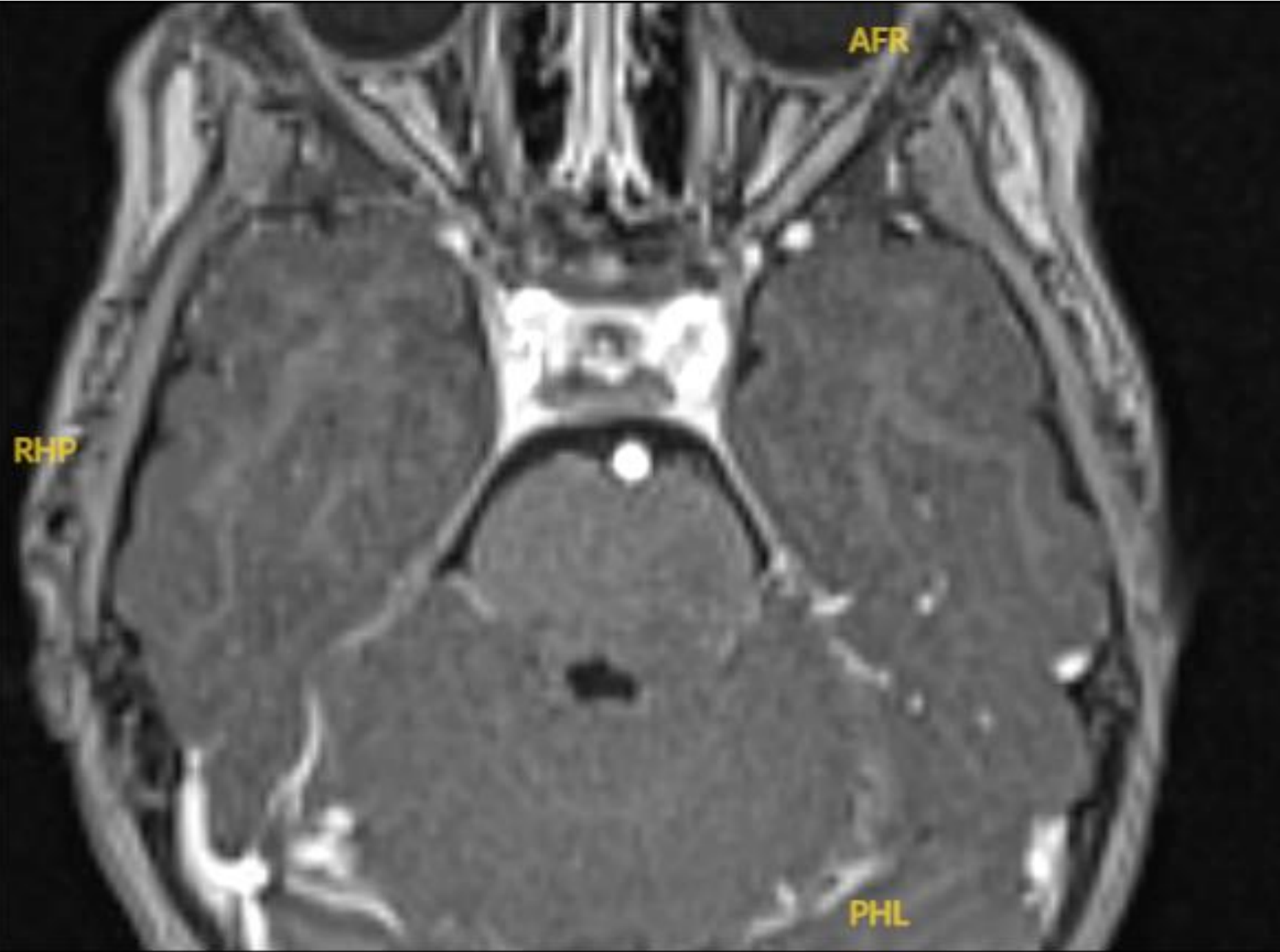
En RM 10/6/22 solicitada por neuropediatría por cavernomatosis familiar se observa: alteración de intensidad de señal en tronco de encéfalo con hiperintensidad en T2 y FLAIR mal delimitada que afecta predominantemente a protuberancia con leve efecto masa y componente exofítico en unión bulbo protuberancial anterior fundamentalmente izquierda, no muestra captación significativa de contraste y sugiere como primera posibilidad una lesión difusa de estirpe glial.

RM 2023 y 05/24 sin cambios. Valoración externa coincidente actitud expectante

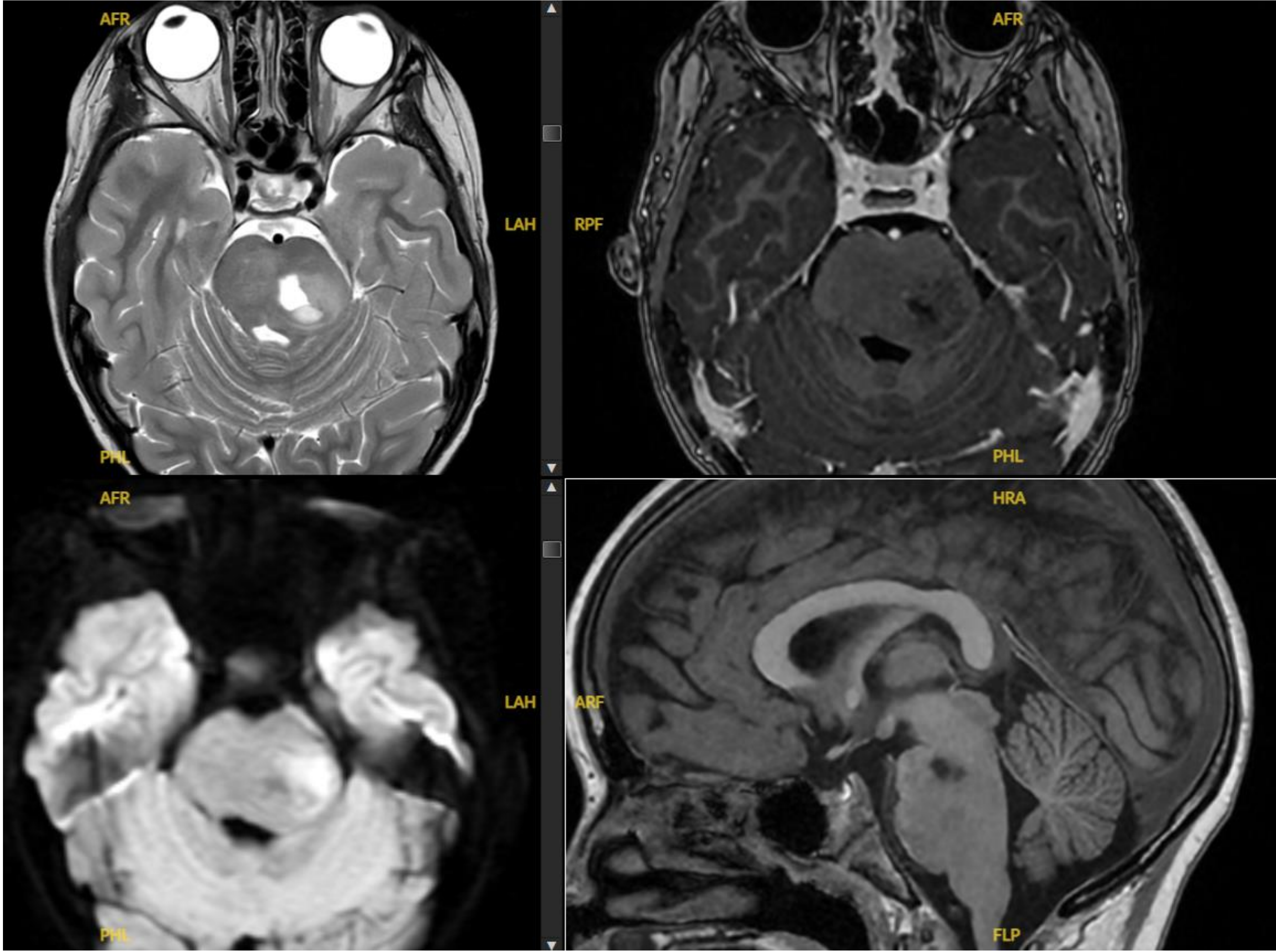
07/24 parálisis del VI PC izquierdo y diplopia, no papiledema. Control RM, realizado el 10/7/24 confirma progresión.

Biopsia + port el 24/7/24.

PMM



PMM



ESTUDIOS HISTOPATOLÓGICOS Y MOLECULARES REALIZADOS:

-Biopsia tumoral (24/07/24): **Glioma difuso de bajo grado.**

Esta celularidad muestra expresión difusa e intensa para GFAP, S100, OLIG2, expresión focal granular de sinaptofisina y NEUn en las neuronas previamente descritas. **Se identifica la expresión de ATRX, H3K27me3, Histona G34W.** Con negatividad para IDH y CD 34. El índice de proliferación mediante ki67 es de 5%.

Estudio inmunohistoquímico:

IDH: No mutado

H3K27: No mutado

HG34W:No mutado

ATRX: Mantenido

-Panel NGS de biopsia tumoral (SEHOP-PENCIL 7/08), transcrito parcialmente con hallazgos positivos:

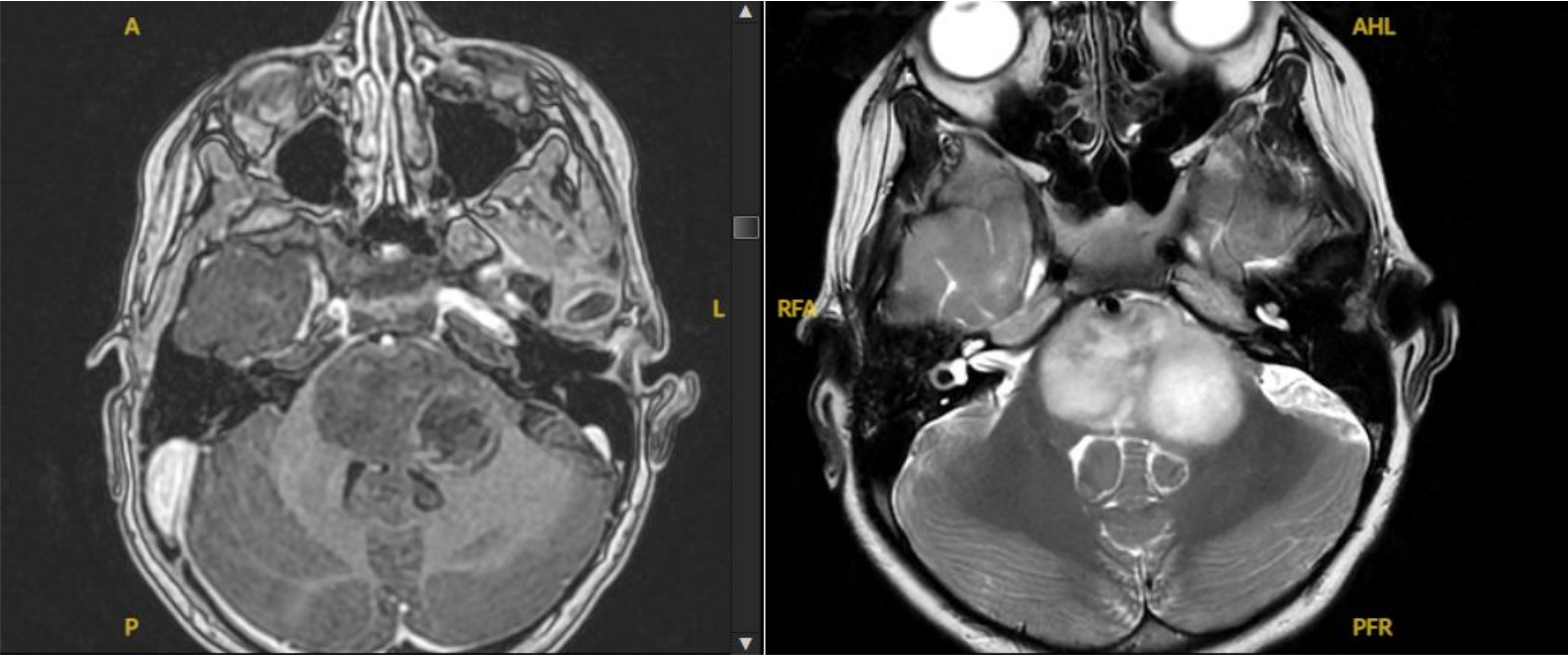
H3-3A Variante c.83A>T p. (Lys28Met). VAF 37.8%

tp53 Variante c.817C>T p. (Arg273Cys). VAF 61.7%

Iniciada vinblastina semanal 08/ 2024 tras conocer resultado de AP y FISH y antes de conocer resultado de NGS.

Tras revisar los diferentes estudios moleculares, se decide :

- Ampliar estudios en línea germinal (p53).
- Tratamiento radioterápico
- Tratamiento con ONC201 como terapia dirigida (dordaviprone)



DESCRIPCION PRUEBA: BIOPSIA

DIAGNOSTICO:

Tumor troncoencefálico; biopsia:

-Glioma difuso de la linea media de alto grado, IDH y H3K27 wild-type por inmunohistoquímica.*

Nota: Estudio molecular pendiente para confirmación.

ESTADO INFORME: CERRADO

FECHAS:

- **Fecha Informe:** jueves 1 de agosto de 2024
- **Fecha Registro:** miércoles 24 de julio de 2024

PATOLOGO:

- **Nombre:** NURIA
- **Apellidos:** RAUSELL FONTESTAD

Notas:

No constan notas

Macro:

Cuatro fragmenos de tejido blanquecino de 5x5 mm cada uno. IT en 2 bloques.

Micro:

En el examen microscópico se identifica una proliferación altamente celular atípica compuesta por células con cromatina densa, con marcada variación en tamaño y forma nuclear. Esta celularidad presenta citoplasma escaso y mal definido, con un aspecto fibrilar. La proliferación frecuentemente atrapa neuronas normales y destaca la presencia de una vasculatura de calibre fino abundante, áreas de hemorragia y necrosis con zonas circundantes de celularidad glial en empalizada.

Se identifica infiltración de las células tumorales en el parénquima cerebral adyacente, con una transición difusa hacia el tejido normal circundante.

A nivel inmunohistoquímico esta lesión muestra expresión difusa e intensa para GFAP, OLIG2, ATRX y H3K27me3 con negatividad para sinaptofisina e IDH. El índice de proliferación mediante ki67 es de 40%.

IDH: No mutada.

ATRX: Mantenido.

H2K27m: No mutada.

Informe de resultados de secuenciación masiva (NGS)

Tipo Tumoral: Glioma pontino intrínseco difuso

Indicación y alcance.
El estudio de secuenciación masiva (NGS) mediante el panel *Oncomine Comprehensive Assay v3 GX* es una prueba genética destinada a identificar mutaciones puntuales y variación en el número de copias a partir de ADN tumoral; y transcritos de fusión oncogénicos a partir de ARN tumoral, con el objetivo de identificar alteraciones moleculares accionables.

Características de la muestra

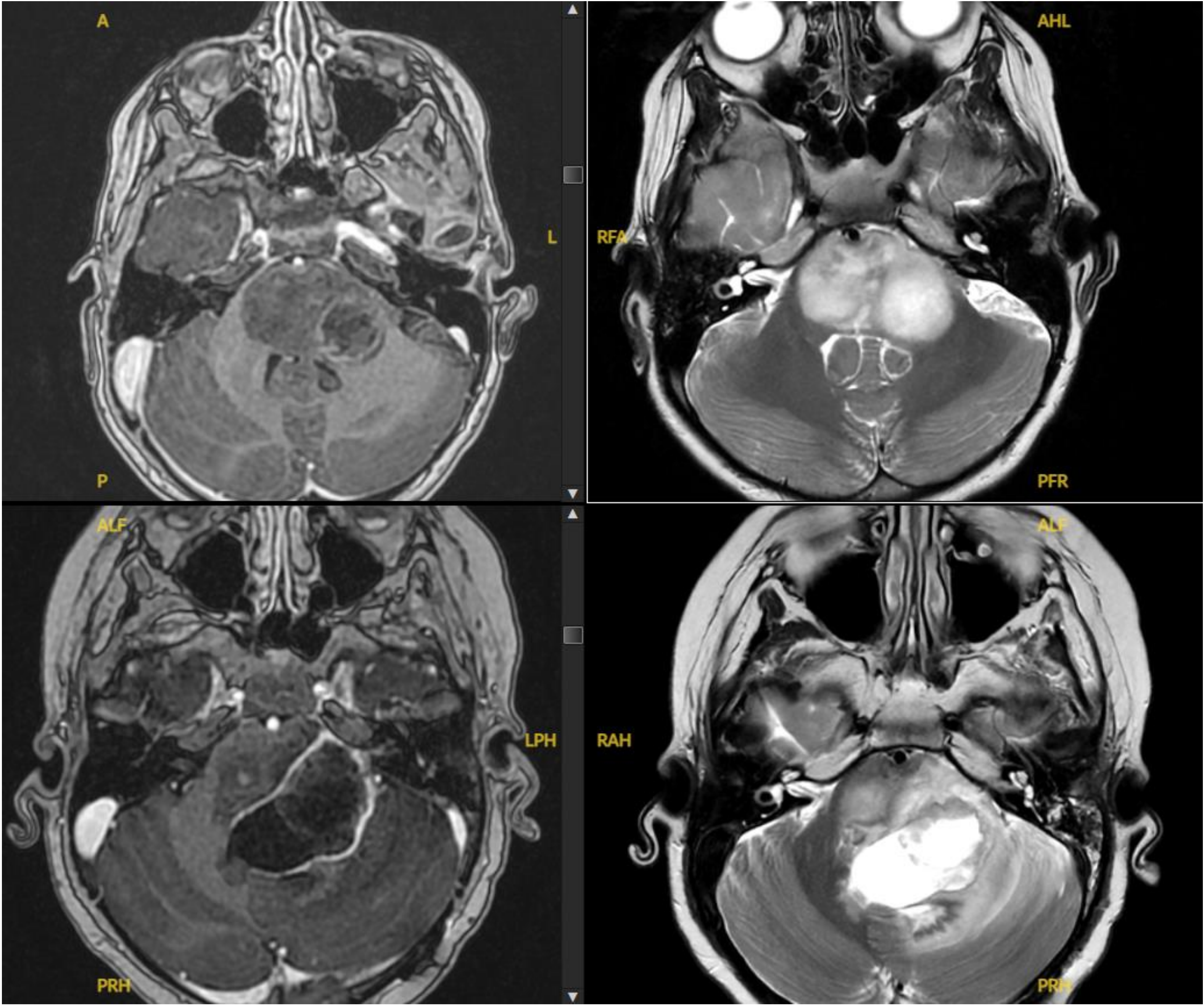
- **Anatomía Patológica:** Citología o sección de material tumoral FFPE (biopsia, punción o líquido); > 300 células totales y 100% de células tumorales (información proporcionada por el patólogo responsable).
- **Unidad de Biología Molecular:** Se obtiene ADN y ARN a partir de cortes de material tumoral FFPE.
- **Validez de la muestra para NGS:**
 - Librería de ADN para la detección de mutaciones puntuales e inserciones/deleciones: **VALORABLE**.
 - Librería de ADN para la detección de variación en el número de copias (VNC): **NO EVALUABLE**.
 - Librería de ARN para la detección de transcritos de fusión: **VALORABLE**.

Biomarcadores Relevantes

Gen	Resultado	Gen	Resultado
H3-3A	POSITIVO	NTRK1	No Detectado
BRAF	No Detectado	NTRK2	No Detectado
IDH1	No Detectado	NTRK3	No Detectado
IDH2	No Detectado		

Variantes moleculares identificadas

Gen	Variante	Profundidad	VAF	Carácter	Utilidad Clínica
H3-3A [NM_002107.7]	c.83A>T p.(Lys28Met)	1207	40,0%	Patogenico	Consulte siguiente apartado
TP53 [NM_000546.6]	c.818G>A p.(Arg273His)	528	84,8%	Patogenico	Consulte siguiente apartado
MLH1 [NM_000249.4]	c.1039A>T p.(Thr347Ser)	470	43,2%	Efecto Desconocido	Desconocida



Cuadro clínico complejo y de larga evolución, iniciado en enero de 2024 tras cuadro catarral con fiebre que duró una semana. Refiere percibir en ese momento presión malar. Posteriormente a las dos semanas comienza con vómitos inicialmente precedidos por náuseas, pero posteriormente desencadenados por esfuerzo tusígeno. El cuadro clínico progresa en los últimos dos meses con la aparición de mareo tipo inestabilidad, con imposibilidad de marcha en tándem con aumento de base de sustentación. Posteriormente asocia torpeza motora en mano izquierda e hipoestesia facial derecha a nivel de V2, episodios de divergencia ocular con afectación del III par, sensación de acúfeno izquierdo. Sensación visual de "cortina negra" con la mirada lejana y cierta rigidez nuchal. Ingresado y estudiado inicialmente por Neurología y MIN de H. Peset, posteriormente es trasladado a H. La Fe para continuar estudio por Neurología/Neurocirugía. Descartados, de entrada, a lo largo del proceso de estudio, otros procesos de tipo autoinmune/infecciosos claramente sugestivos mediante diferentes pruebas complementarias (ya que además ha asociado hepatomegalia, artralgias y apariencias esclerodermiformes de la piel).

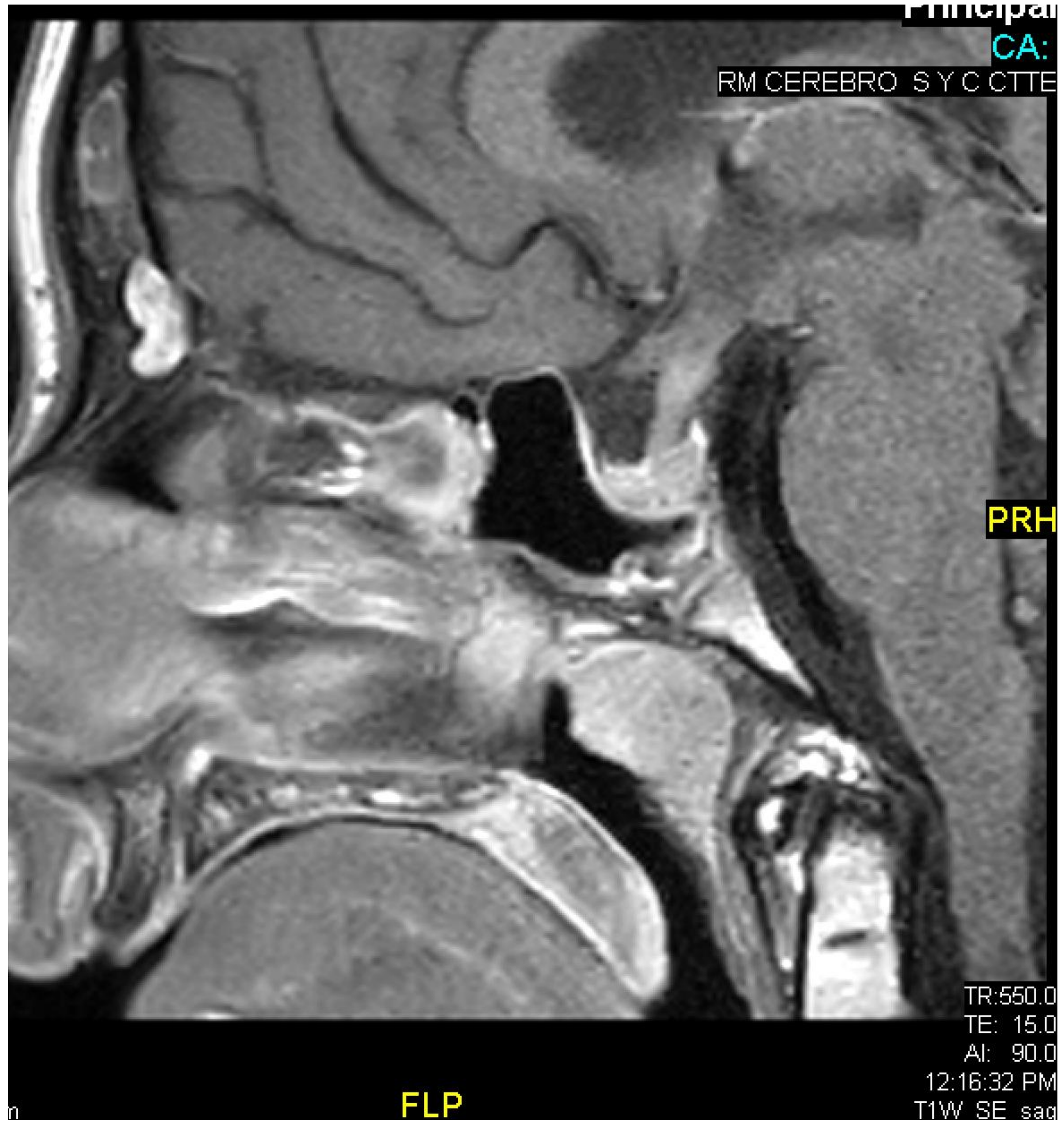
- Lesión hipermetabólica en ala esfenoidal izquierda.
- Múltiples lesiones hipermetabólicas de predominio en superficie cerebral (en espacio subaracnoideo sin visualizar claramente lesión intraparenquimatosa), en hipófisis y tallo hipofisario, periacueductal y en la práctica totalidad de la médula espinal.
- Afectación focal de raíces nerviosas aisladas, a destacar ambos hipoglosos, C7 y C8 derechas y L5 izquierda.
- Sin lesiones adenopáticas, viscerales o en otras estructuras óseas
- Estos hallazgos orientan como primera opción diagnóstica a un proceso inflamatorio/infeccioso

JC: ENFERMEDAD INFILTRATIVA EN SNC + PAQUIMENINGITIS+ NEURITIS OPTICA + LESIONES INTRAPARENQUIMATOSAS CON:

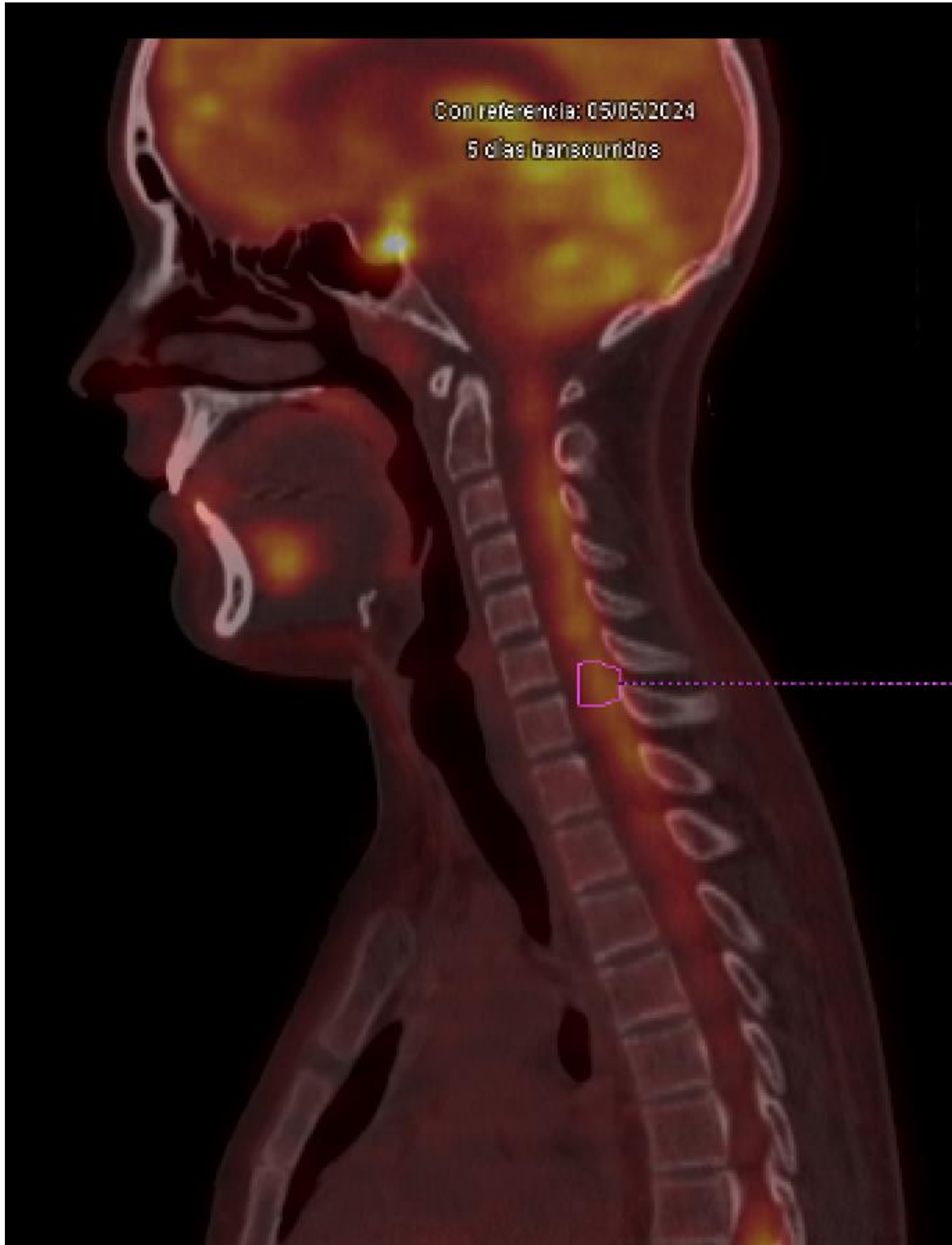
- HEPATOMEGALIA EN PROBABLE RELACION CON INFILTRACION
- PIEL DE ABDOMEN INDURADA E INFILTRADA
- ASPECTO CUSHINGOIDE
- HIPER IGE +EUSINOFILIA
- HIPERCALCIURIA
- HIPOGLUCORRAQUIA CON CELULARIDAD Y PROTEINAS NORMALES EN LCR

A DESCARTAR ENFERMEDAD GRANULOMATOSA vs PROCESO INFILTRATIVO SNC

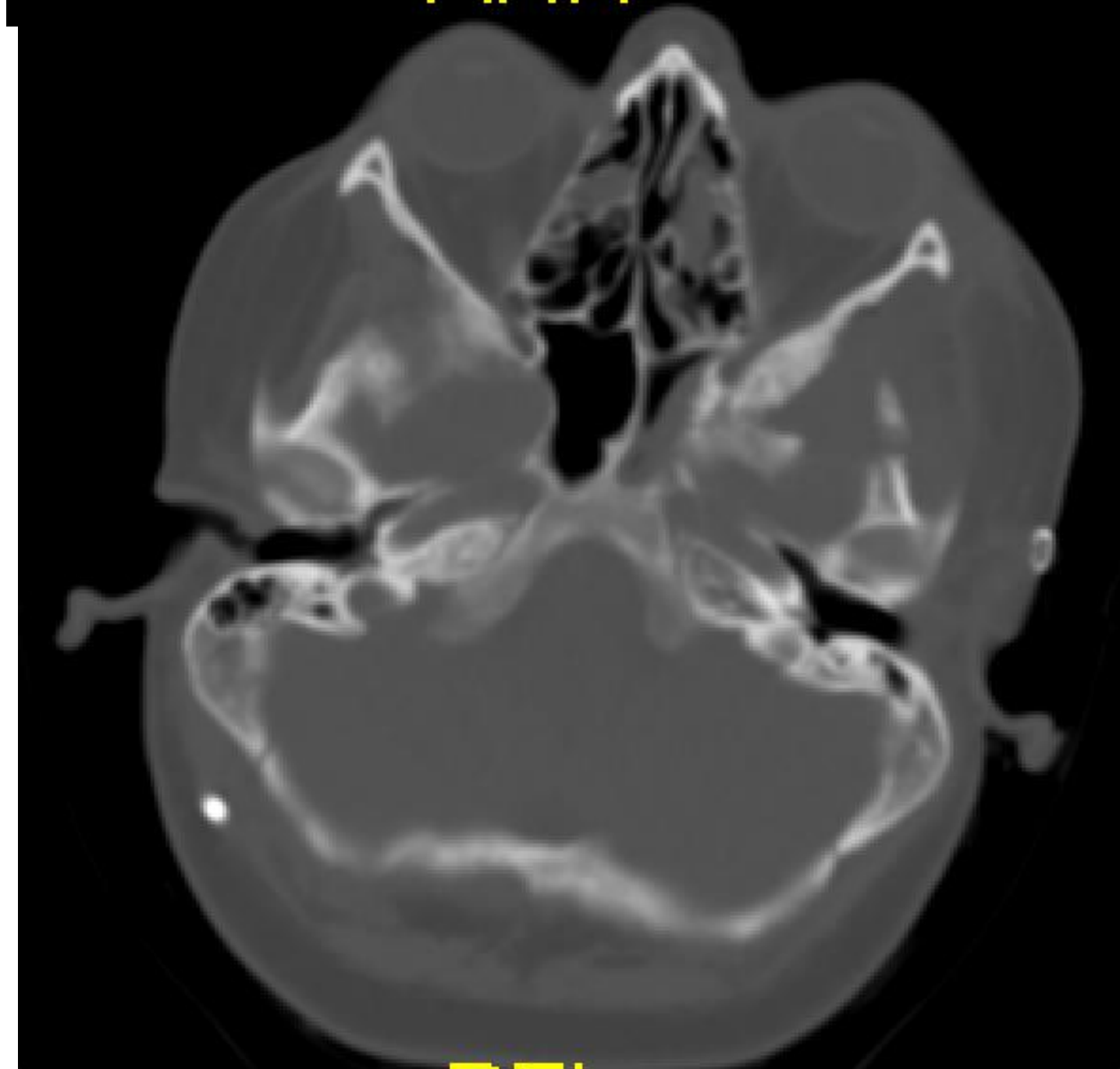
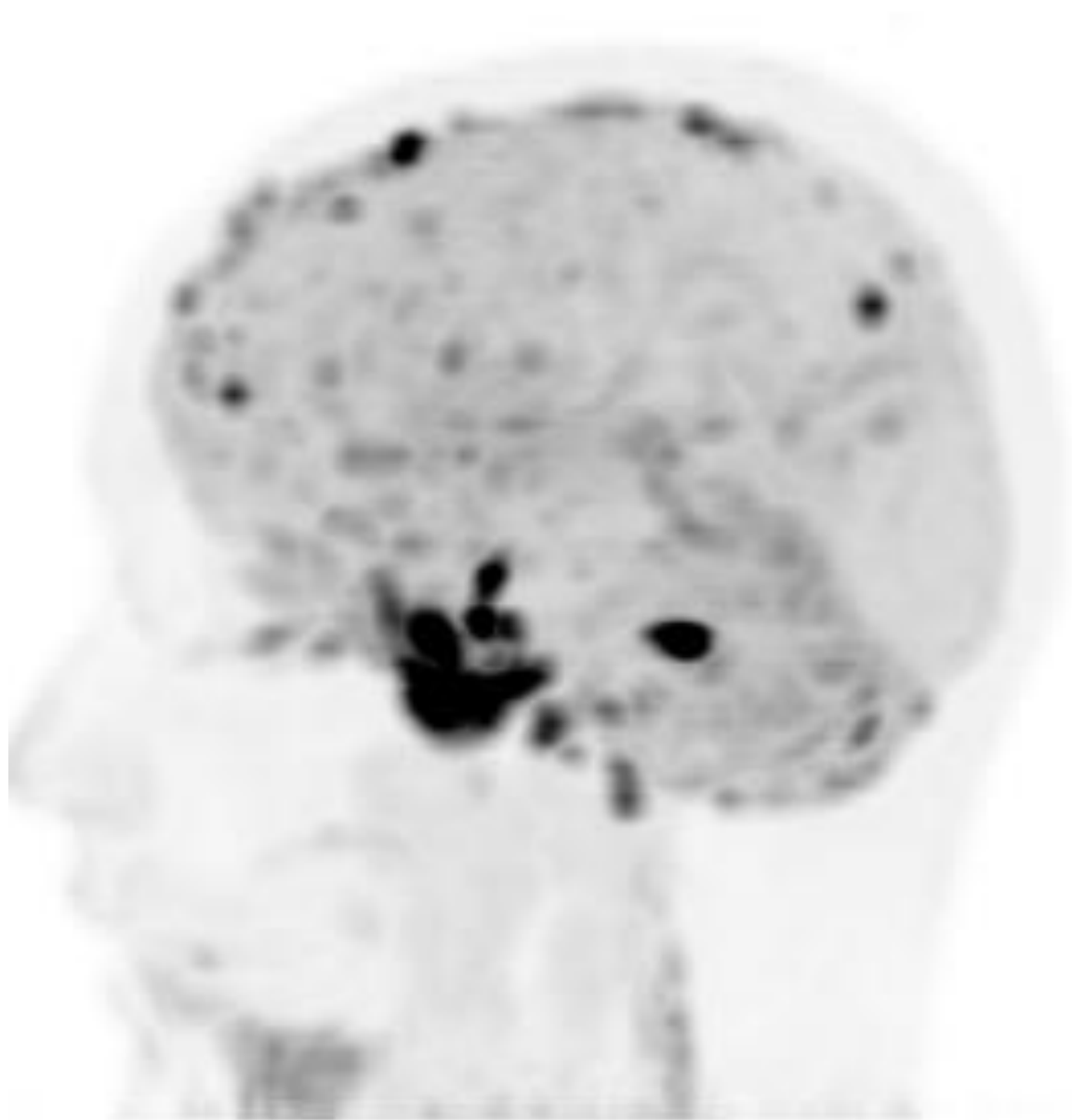
DBF



DBF



AHR



AHR

DIAGNOSTICO:

A/B/C/D. Meninge y hueso craneal (esfenoides izquierdo), biopsia incisional:

Infiltración meníngea y ósea por neoplasia neural, compatible con tumor glioneuronal leptomeníngeo difuso, grado 2-3 (OMS/SNC-5, 2021).

NOTAS:

1. Existen signos de agresividad biológica del tumor (presencia de mitosis, vasos sanguíneos irregulares, pérdida de expresión de ATRX y de histona trimetilada H3K27me3, alto índice proliferativo).
2. La escasa proporción de células tumorales y el artefacto inducido en la muestra no permiten obtener resultados en el estudio molecular, necesario para la tipificación precisa de la neoplasia.
3. En el caso de que se precise un estudio molecular completo de la lesión, se recomienda la obtención de nueva muestra, de localización intraaxial.

Micro:

El estudio histológico muestra la infiltración meníngea, ósea y de los tejidos blandos paraostales por una proliferación atípica de apariencia neural, que crece formando fascículos y pequeños agregados, asociándose a una marcada reacción desmoplásica. Focalmente, la lesión presenta vasos irregulares de pared gruesa. Las células tumorales muestran un pleomorfismo moderado, con núcleos redondeados u ovoides de cromatina fina, sin nucleolo aparente; ocasionalmente se observa alguna célula aislada de tamaño grande, con núcleo irregular; el citoplasma es eosinófilo y mal definido, determinando una matriz tumoral fibrilar; algunos agregados de células presentan un halo claro perinuclear. En todo el conjunto de las muestras se observa un total de 2 mitosis. No se aprecian signos de necrosis en el material analizado.

El tejido óseo infiltrado muestra signos de osteólisis y regeneración, con células reactivas entremezcladas íntimamente con la celularidad tumoral. En conjunto, la proporción de células tumorales en las muestras analizadas no supera el 50%, mostrando además con cierta frecuencia artefacto derivado de la obtención y el procesamiento.

El estudio inmunohistoquímico muestra la positividad intensa y generalizada de las células tumorales frente a marcadores de estirpe neural, glial y neuronal (SOX10, S100, Olig-2, GFAP y sinaptofisina, con un marcaje débil y focal frente a la proteína de neurofilamentos; la expresión de NeuN es negativa). Por otro lado, no se observa marcaje frente a marcadores epiteliales (citoqueratina AE1/AE3, citoqueratina 8/18, EMA), linfoides/mieloides (CD45, CD20, CD3, TdT, CD68) ni germinales (OCT3/4, CD117).

Expresión inmunohistoquímica de marcadores diagnósticos en gliomas:

- A. IDH1 (R132H): NEGATIVA (no mutado).
- B. ATRX: NEGATIVA (pérdida de expresión en aprox. 90% de las células)(mutado).
- C. p53 (mutada): POSITIVA (55%).
- D. Histona trimetilada H3K27me3: NEGATIVA (pérdida de la expresión entre 80% de las células).
- E. Ki67: 40%.

Estudio FISH de codeleción 1p/19q: NO VALORABLE (VER ESTUDIO 24M1861).

Estudio FISH de fusión KIAA1549-BRAF: NO VALORABLE (VER ESTUDIO 24M1862).

Expresión inmunohistoquímica de marcadores diagnósticos en gliomas: IDH1 (R132H): NEGATIVA (no mutado); ATRX: NEGATIVA (pérdida de expresión en aprox. 90% de las células)(mutado); p53 (mutada): POSITIVA (55%); **Histona trimetilada H3K27me3: NEGATIVA (pérdida de la expresión entre 80% de las células)**; Ki67: 40%. Estudio FISH de codeleción 1p/19q y fusión KIAA1549-BRAF: NO VALORABLES.

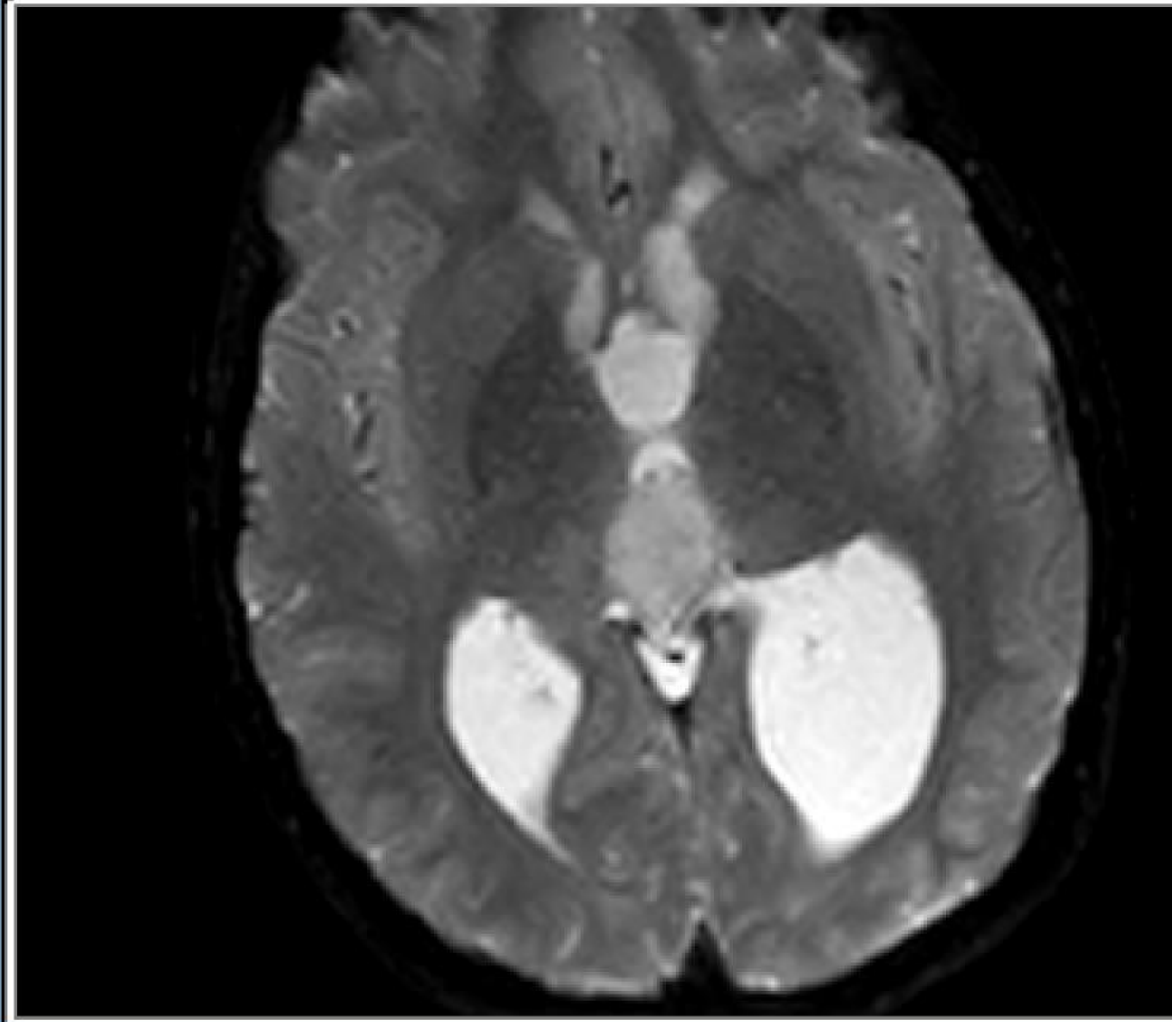
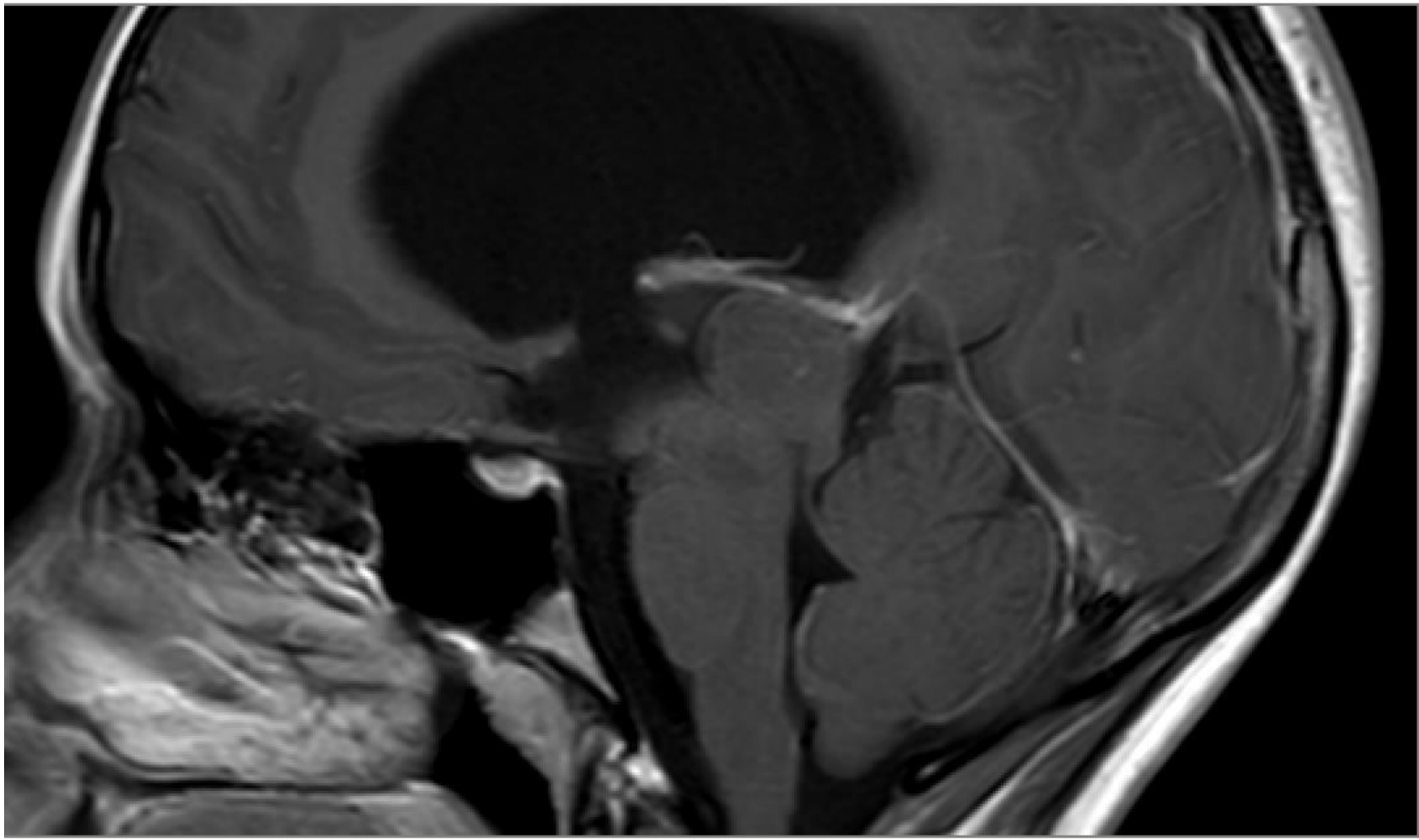
-Estudio NGS muestra tumoral (SEHOP-PENCIL, 5/09). Transcrito parcialmente, hallazgos positivos:

H3-3A VAF 36.3%; KRAS VAF 54.9%; tp53 2 variantes (VAF 38.6% y VAF 39.9%); ATRX Variante perdida; PALB2 VAF 48.3%

-Presentado en Comité de Medicina de Precisión 24/09. Tras revisión de hallazgos histopatológicos y moleculares, en correlación con presentación clínica y evolución del paciente, se considera apropiado **modificar el diagnóstico del paciente a glioma difuso de línea media H3K27M alterado con diseminación leptomeníngea.** Se decide envío de muestras para estudio de metilación y panel WES

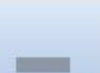
- **DMG** son un subtipo específico de la clasificación OMS 2021 con una presentación clínica y radiológica característica
- El estudio IHQ de **H3K27me3** y molecular de **H3K27M** es **esencial** para definir el diagnóstico
- La **biopsia** en DIPG muestra un perfil favorable de fiabilidad (dx 95%) y seguridad (morbilidad 0.6%), confirma el dx y permite identificar potenciales dianas de tratamiento
- El **pronóstico** de los DMG es muy desfavorable (mediana 12m, grado 4) y no se considera indicada la resección quirúrgica
- La **RT** (54-60 Gy) es el pilar fundamental de tratamiento y la protonterapia puede ofrecer beneficios respecto a la precisión del volumen a tratar pero no mejora el pronóstico
- Diversas líneas **estudio**
 - biopsia líquida tras disrupción BHE por US
 - caracterización molecular y qt específica
 - inmunoterapia y CAR-T

LME



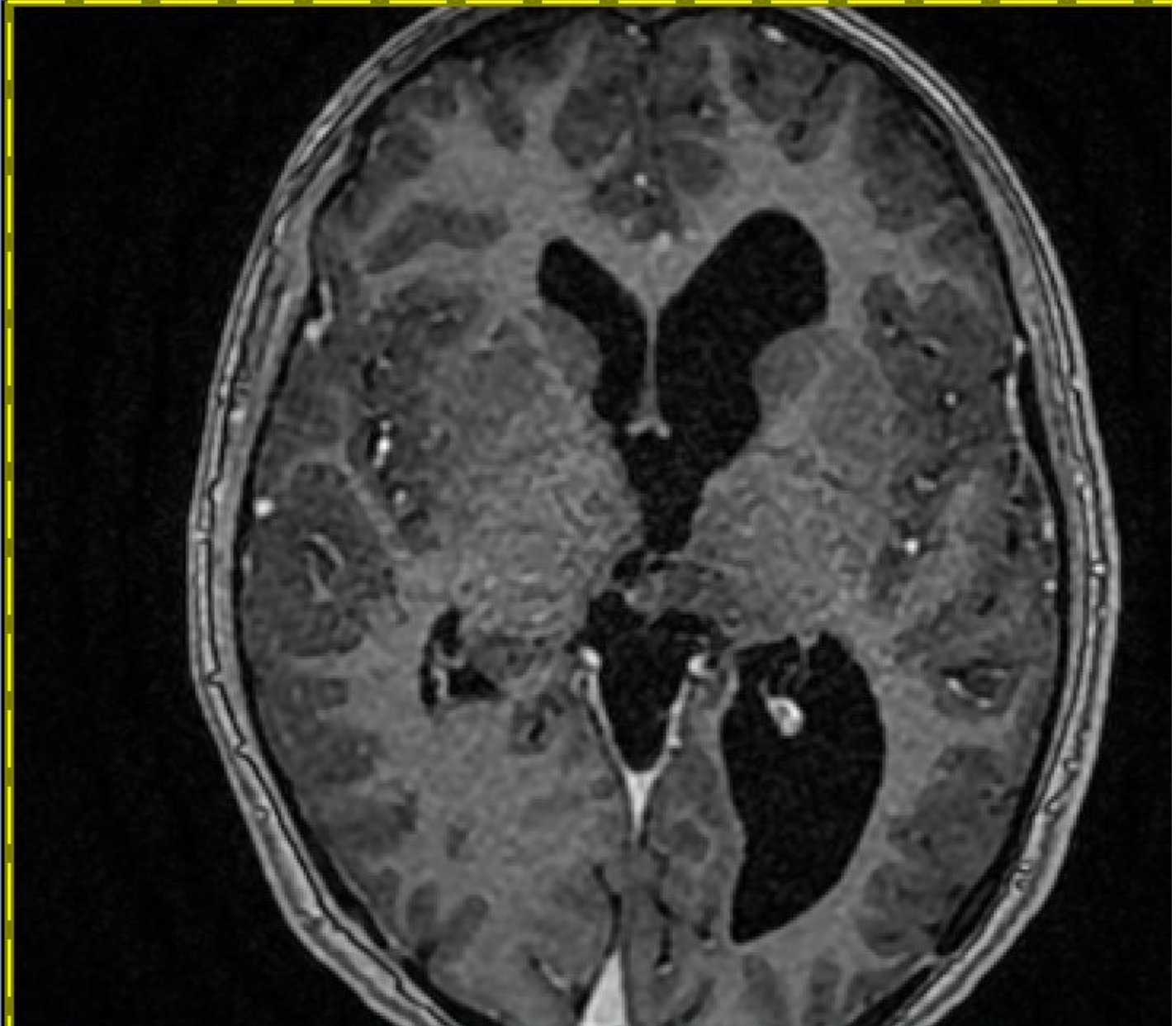
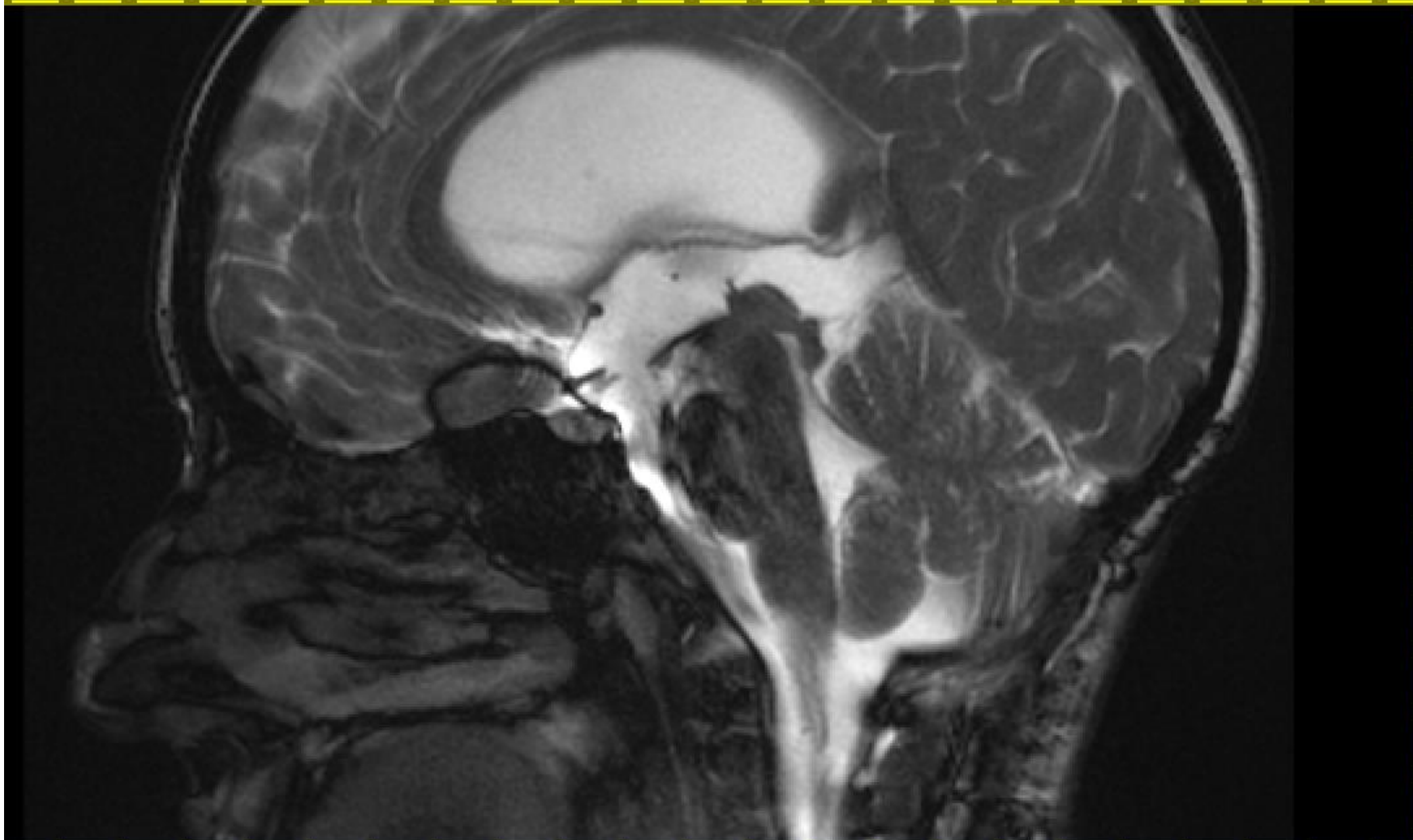
23 11:42:10 AM

41%



N° ser11 MR 05-11-2024 05:44:03 PM

20%



NUMERO ESTUDIO: 20B0018887

DESCRIPCION PRUEBA: BIOPSIA

DIAGNOSTICO:

tumor cerebral, biopsia: compatible con glioma difuso, grado II de la OMS.

Nota: 100% celularidad tumoral(> 1000 células).

ESTADO INFORME: CERRADO

FECHAS:

- **Fecha Informe:** martes 29 de diciembre de 2020
- **Fecha Registro:** viernes 11 de diciembre de 2020

PATOLOGO:

- **Nombre:** MEDICO ADJUNTO

Notas:

IHQ para h3k27: no se observa expresión.

Macro:

DOS MUESTRAS:

A. Dos fragmentos de 0'2 y 0'3 cm. Se guarda muestra en congelación.

B. Múltiples fragmentos de tejido de dimensiones entre 0'2 y 0'3 cm.

Micro:

tumor cerebral, biopsia: compatible con glioma difuso, grado II de la OMS.

Nota: 100% celularidad tumoral(> 1000 células).

*** MOTIVO DE COMITÉ:**

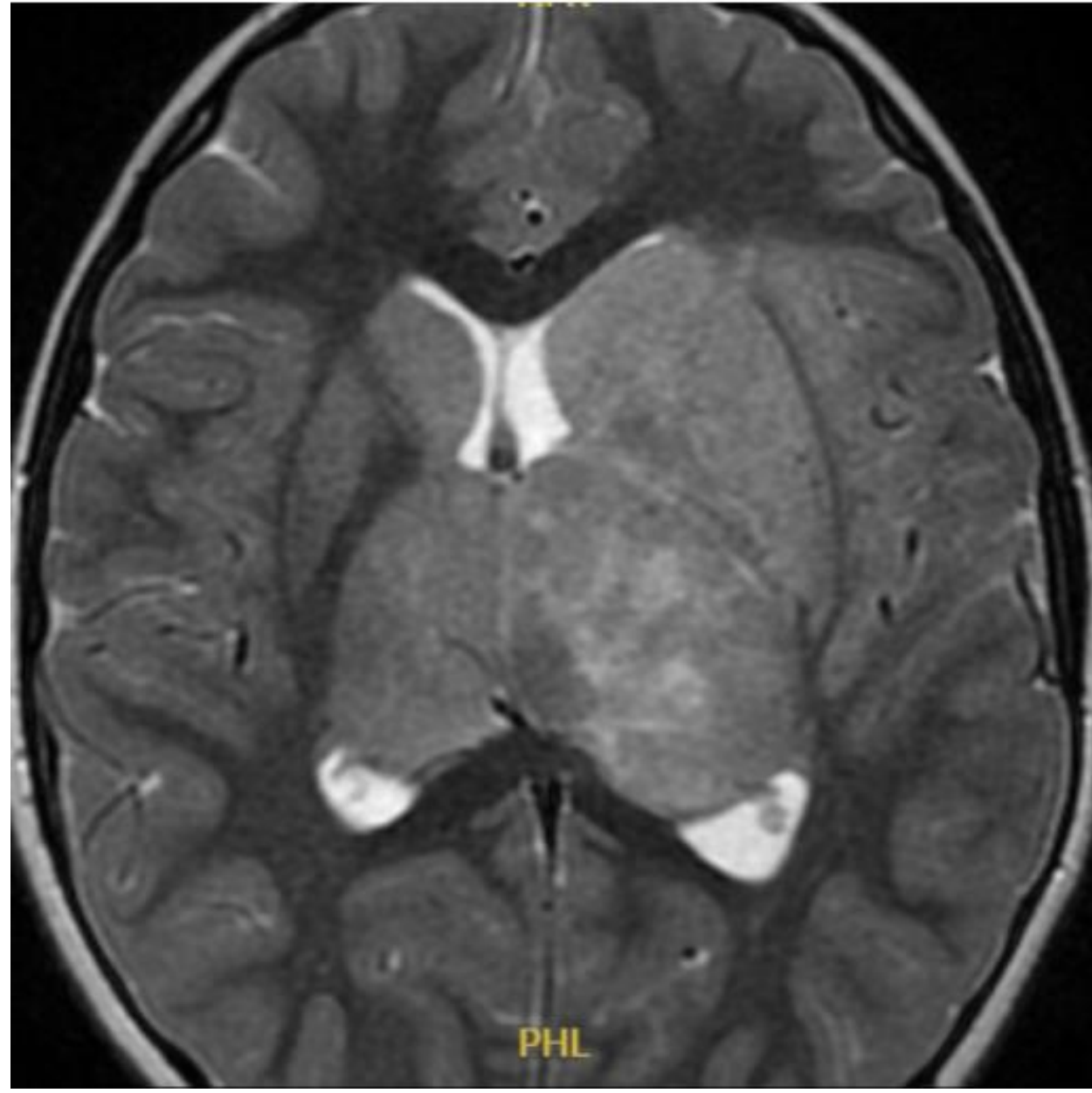
Revisar pruebas complementarias realizadas hasta la fecha y valorar ampliación de estudios para optimizar clasificación/cambio diagnóstico +/- cambio de actitud de manejo si se considera alto grado de malignidad.

*** Pruebas complementarias a evaluar:**

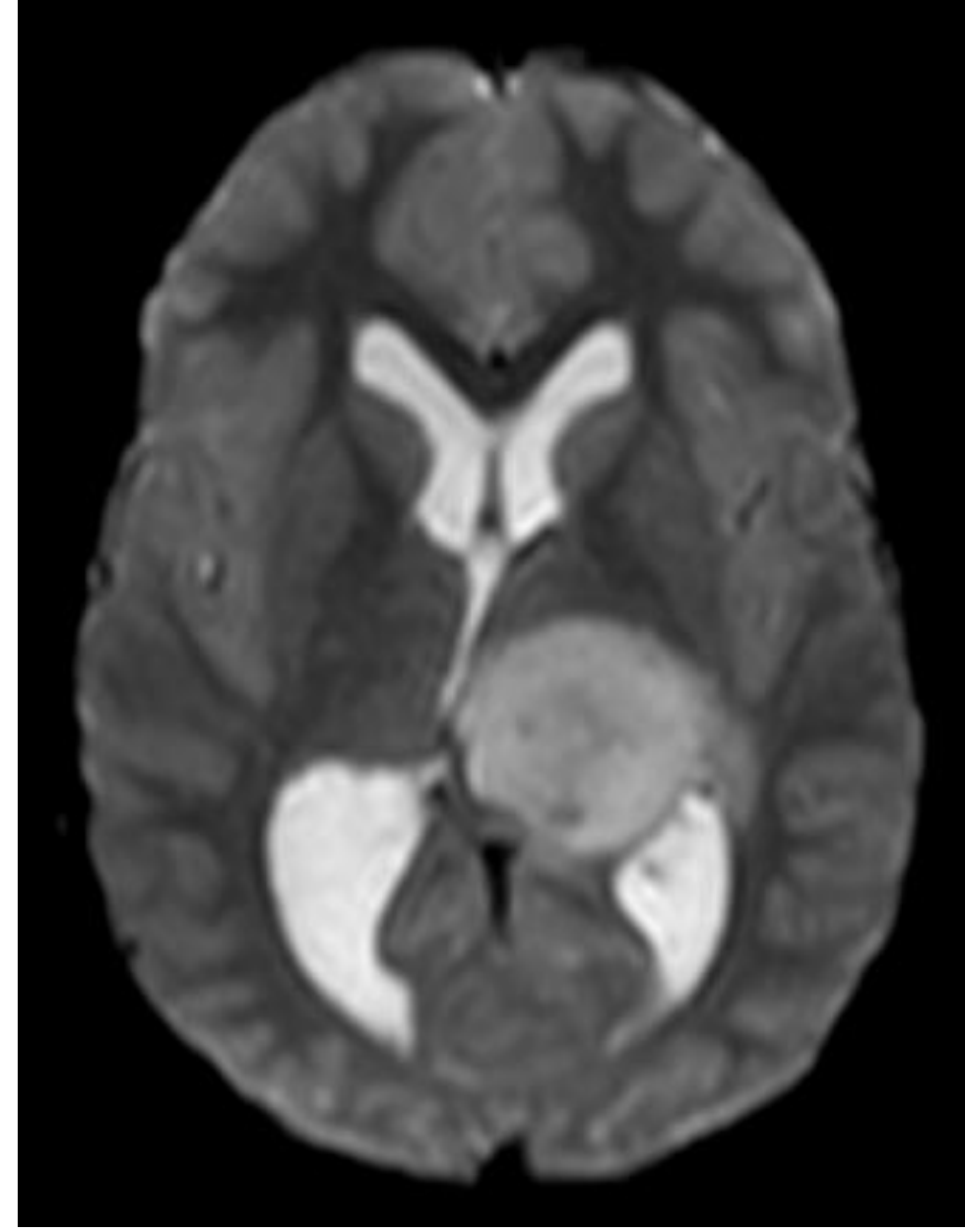
Pruebas de imagen (RMN) y estudios AP/moleculares.

*** Recomendaciones del comité:**

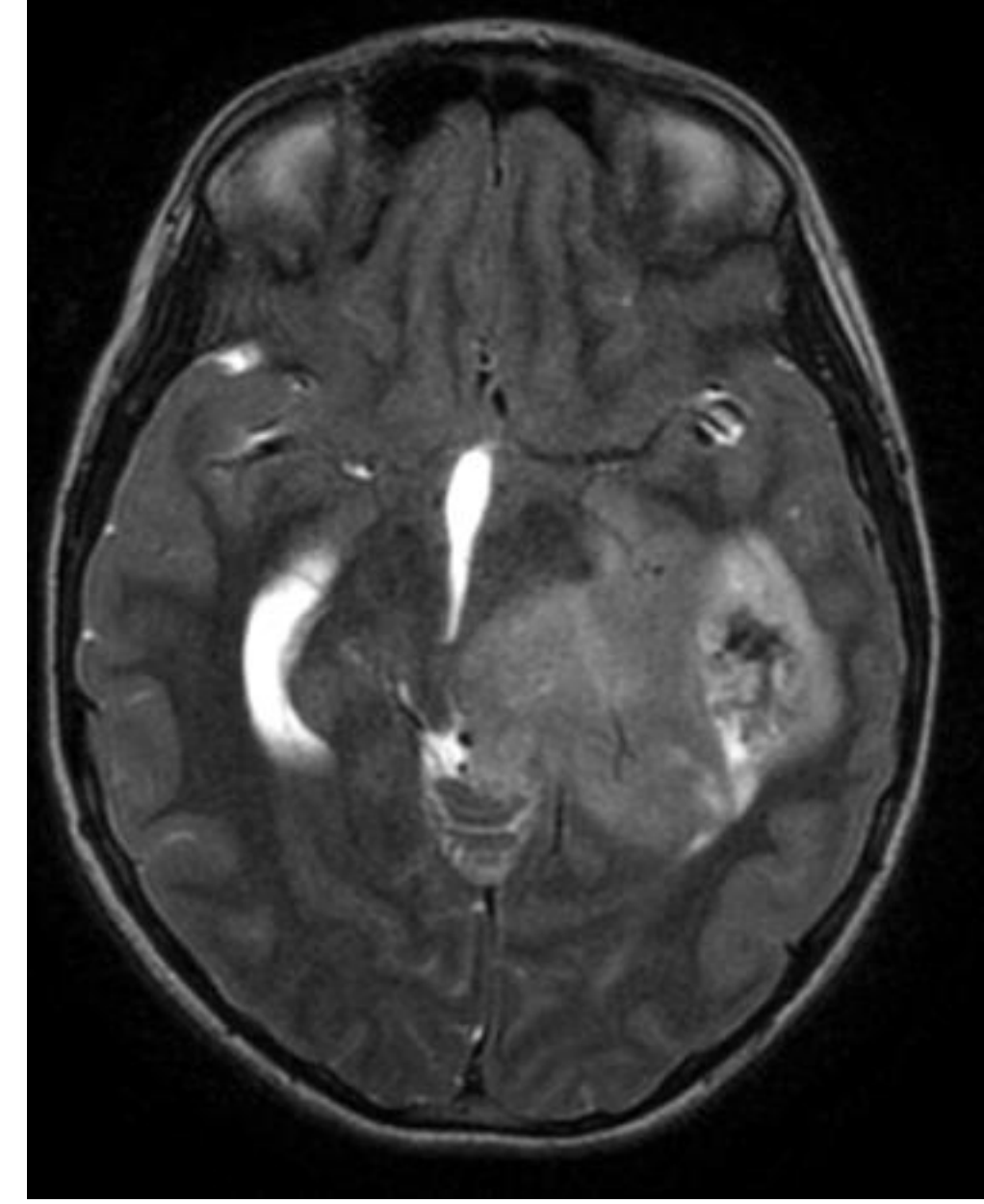
- Completar estudio molecular y consultar si es candidata a entrar en EC Biomed II
- Valorar tratamiento local con RT en función de resultados si se confirma cambio de grado histológico.



Rhim



Vicent



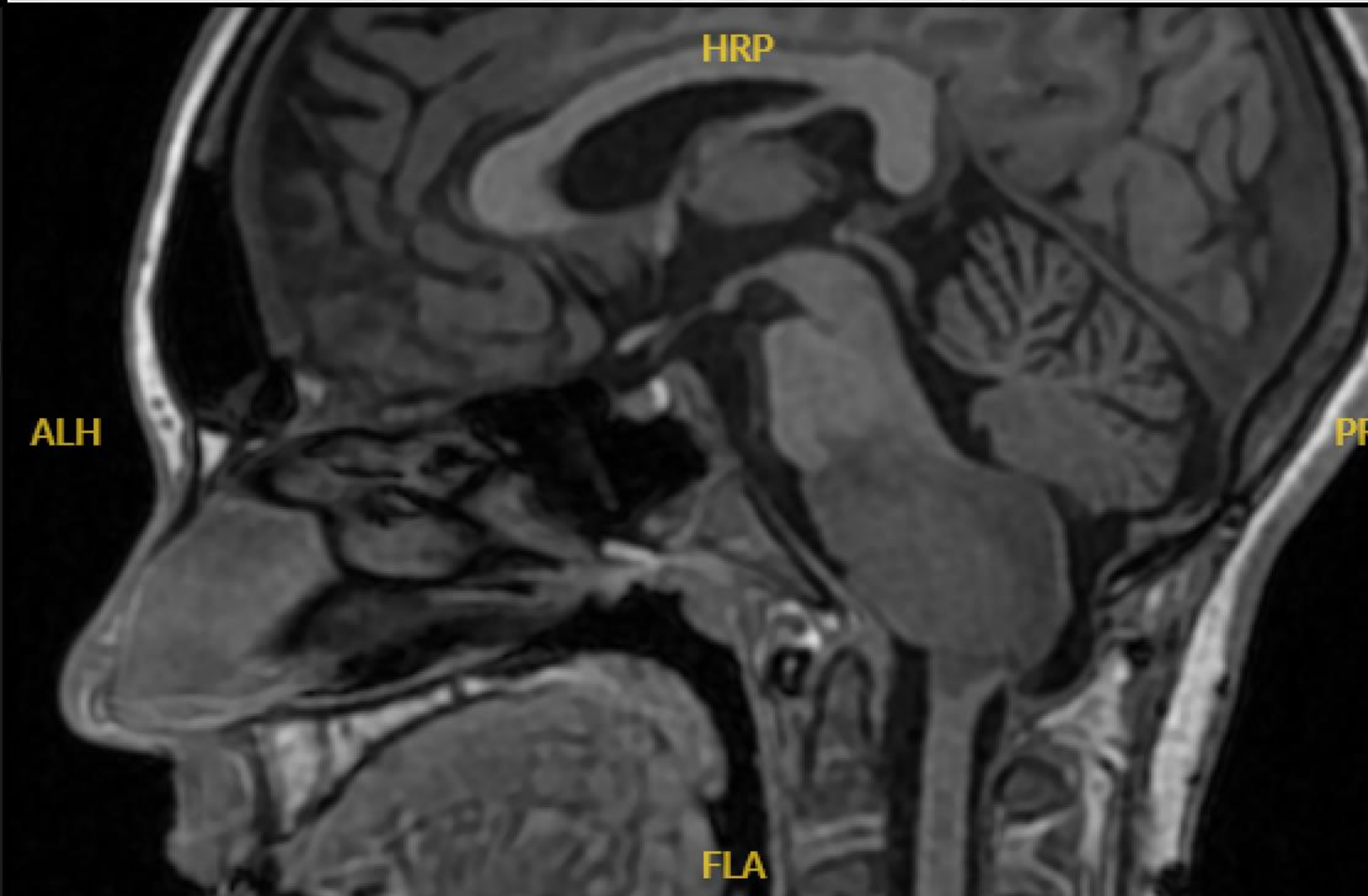
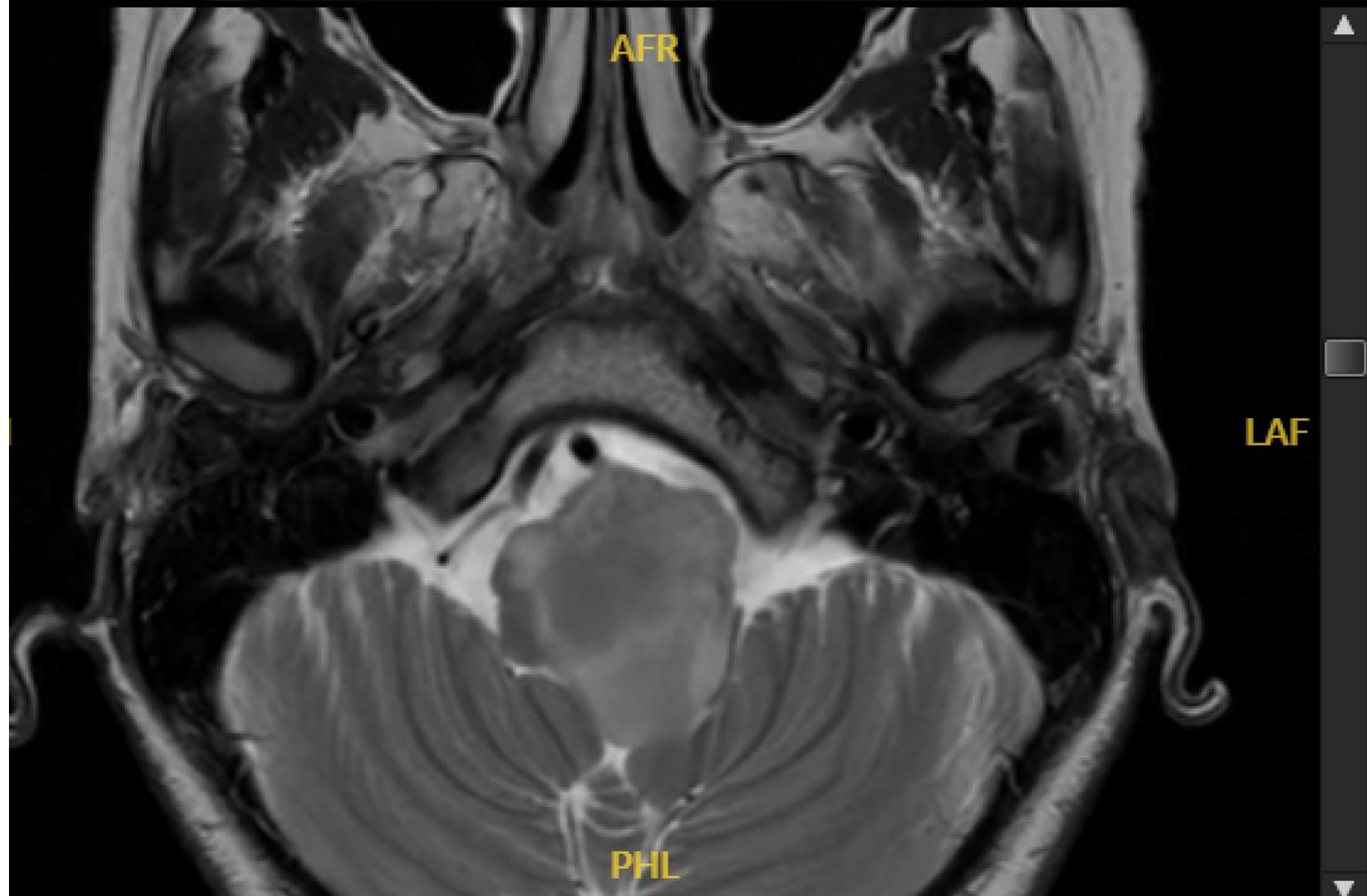
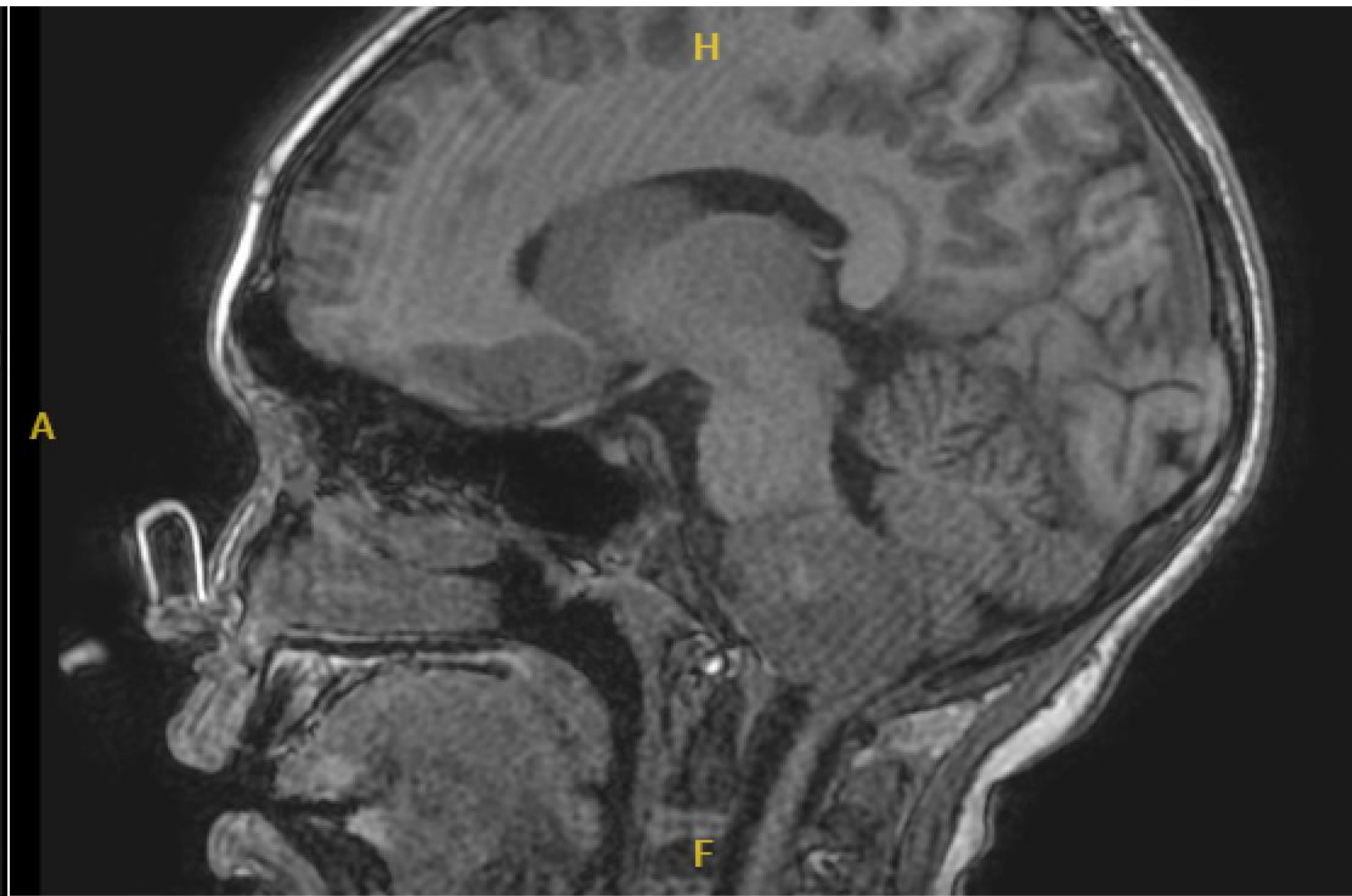
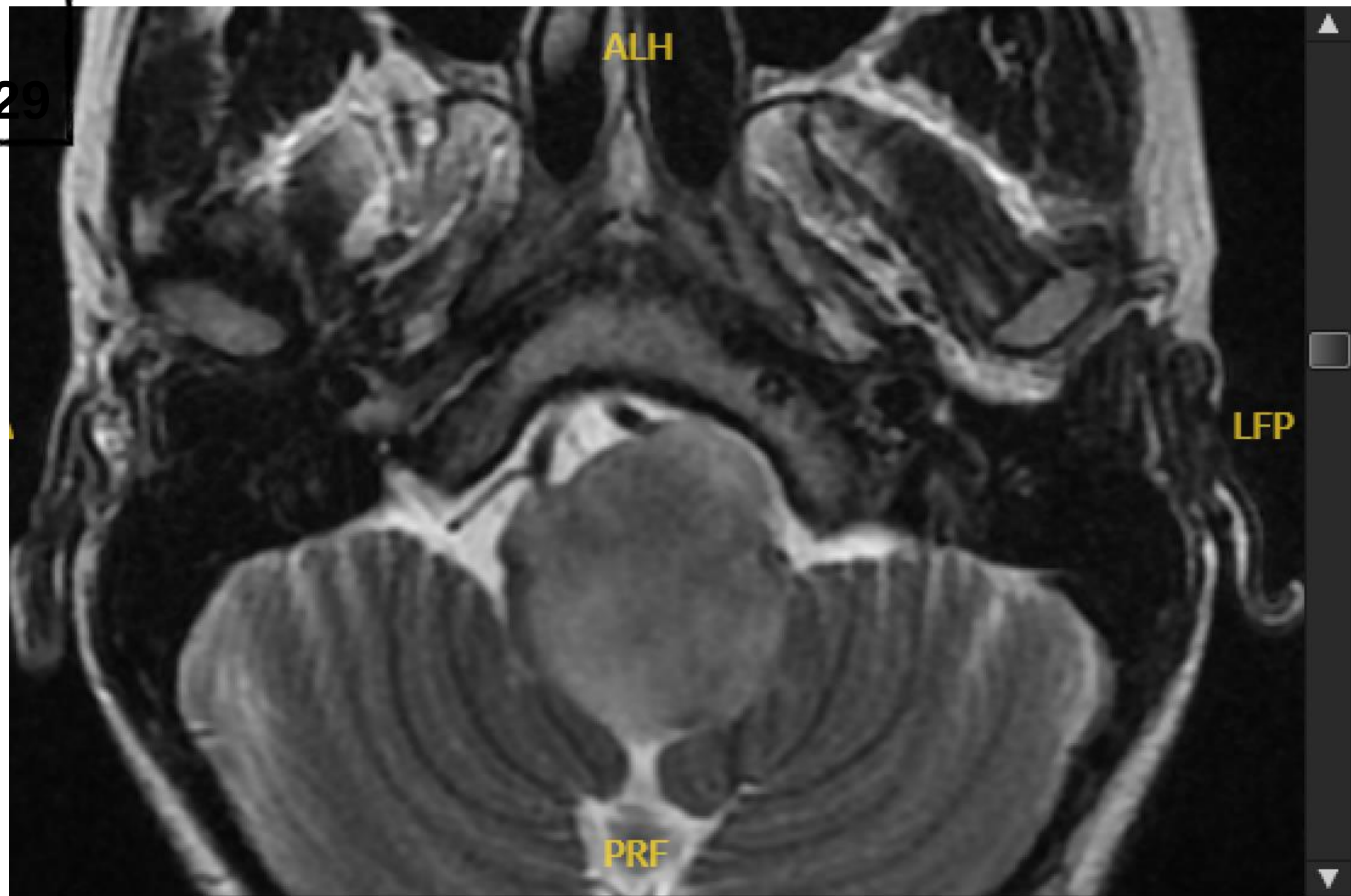
Neus



Pau

Gracias

AC
7756829



- a) Bulbo; biopsia incisional: **Hallazgos histopatológicos compatibles con glioma difuso de bajo grado pediátrico.**
- Macro: Siete fragmentos irregulares, de coloración pardo rojiza. IT en (A1).
- Micro: En el tejido encefálico se observa una leve distorsión arquitectural producida por una proliferación celular de baja densidad celular de patrón difuso mal definido y aspecto general monomorfo, no bifásico, sin componente quístico, orientada sobre una matriz fibrilar. Las células presentan morfologías ovoides y redondeadas con citoplasmas eosinófilos mal delimitados y núcleos redondeados de contorno liso y cromatina homogénea hipercromática, sin nucleolo prominente. No se identifica necrosis, figuras mitóticas típicas ni atípicas, pleomorfismo nuclear ni atipia citológica prominente.
- El estudio inmunohistoquímico evidencia una inmunorreactividad de la celularidad neoplásica frente a GFAP, ATRX y Olig2. **La celularidad no expresa** CD34, Sinaptofisina, IDH, p53 ni **histona H3K27**. El índice de proliferación celular (Ki67) es prácticamente nulo en la muestra remitida. Esta determinación se corrobora en segunda determinación.

Variantes moleculares identificadas

Gen	Variante	Profundidad	VAF	Carácter
BRAF [LRG_299(t1)]	KIAA1549(15)-BRAF(11)	385		Patogenico
EGFR [LRG_304(t1)]	c.866C>A; p.(Ala289Asp)	2702	3,5%	Patogenico

SSC 10492296- dipg h3k27

DBF 7231286- dmg h3k27 no dipg

YEO 14117733 - dipg h3k27

PMM 12110705 - dipg h3k27

Candela MArtínez Giner- 6541307 - 5360155 - dmg tálamo - 2014

Sara Madrona Valiente- 6629917c- 6710431- hemisférico difuso - 2015

Vicent Agramunt - 6749338 - 7862525- dmg talámico -

Neus Cuenca Caballero - 6763537 - 6350788- dmg talámico

Rhim Zagri 6807941- 10949097- DMG grado IV talámico- dx ap

Pau Llorens Sánchez- 6831917- 9173104 - DMG talámico

Ignacio Ripoll - 4668081 - dmg talámico

Camilo Alcaide Aras - 4190355- 2467643

Número Estudio: 22B0001176

Diagnóstico:

a) Bulbo; biopsia incisional:

- Hallazgos histopatológicos compatibles con glioma difuso de bajo grado pediátrico.
- Se remite muestra a secuenciación masiva.□

Estado Informe: CERRADO

Descripción prueba: BIOPSIA

Fechas:

- **Fecha Informe:** 22-feb-2022
- **Fecha Registro:** 21-ene-2022

Patólogo que informa: LLAVADOR ROS MARGARITA - MEDICO ADJUNTO

Notas: No constan notas

Macro:Macro:

Siete fragmentos irregulares, de coloración pardo rojiza. IT en (A1).□

Micro:Micro:

En el tejido encefálico se observa una leve distorsión arquitectural producida por una proliferación celular de baja densidad celular de patrón difuso mal definido y aspecto general monomorfo, no bifásico, sin componente quístico, orientada sobre una matriz fibrilar. Las células presentan morfologías ovoides y redondeadas con citoplasmas eosinófilos mal delimitados y núcleos redondeados de contorno liso y cromatina homogénea hipercromática, sin nucleolo prominente.

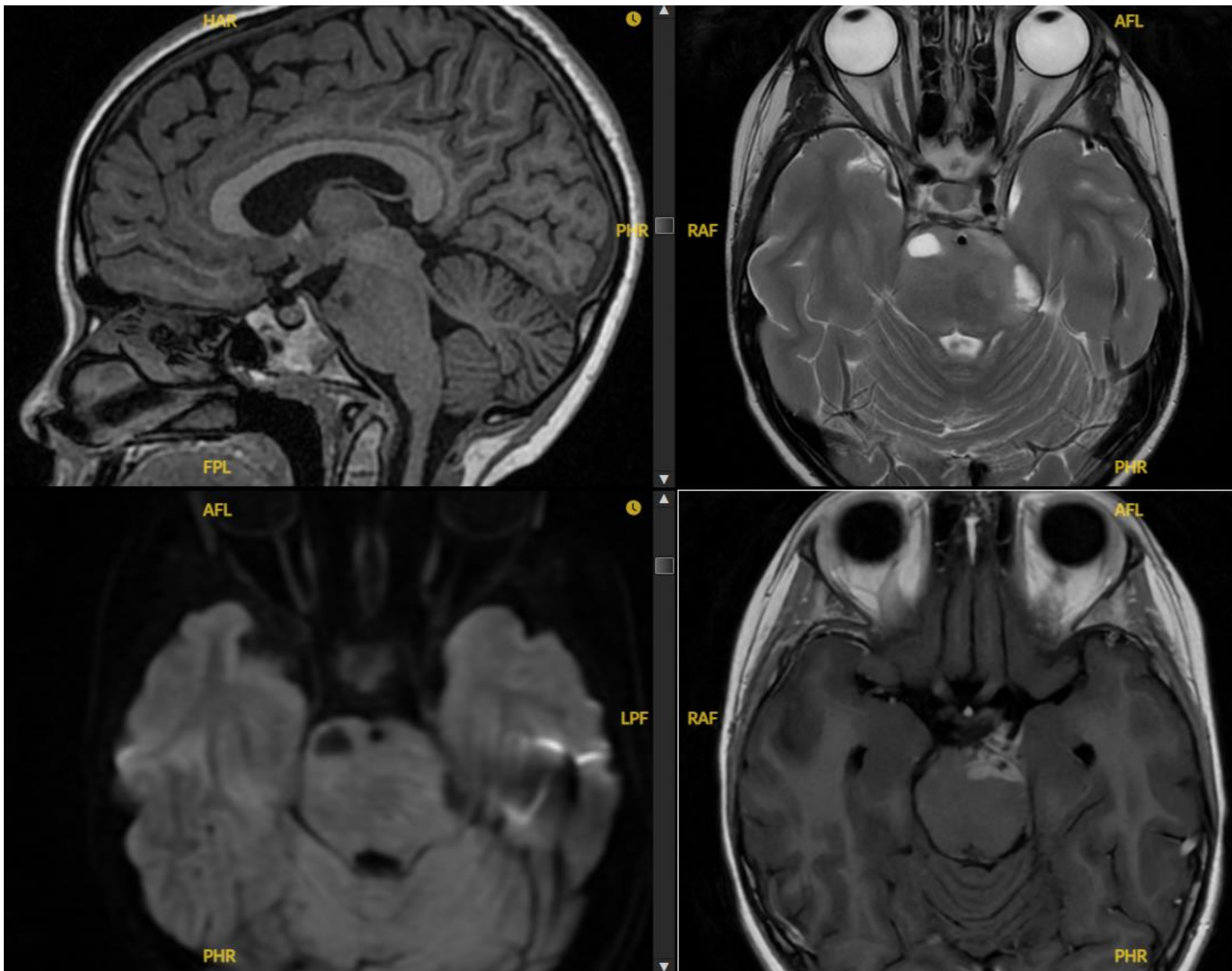
No se identifica necrosis, figuras mitóticas típicas ni atípicas, pleomorfismo nuclear ni atipia citológica prominente.

El estudio inmunohistoquímico evidencia una inmunorreactividad de la celularidad neoplásica frente a GFAP, ATRX y Olig2. La celularidad no expresa CD34, Sinaptofisina, IDH, p53 ni histona H3K27.

El índice de proliferación celular (Ki67) es prácticamente nulo en la muestra remitida. Esta determinación se corrobora en segunda determinación.

Datos para estudio por secuenciación masiva.

100% celular(1000células).□



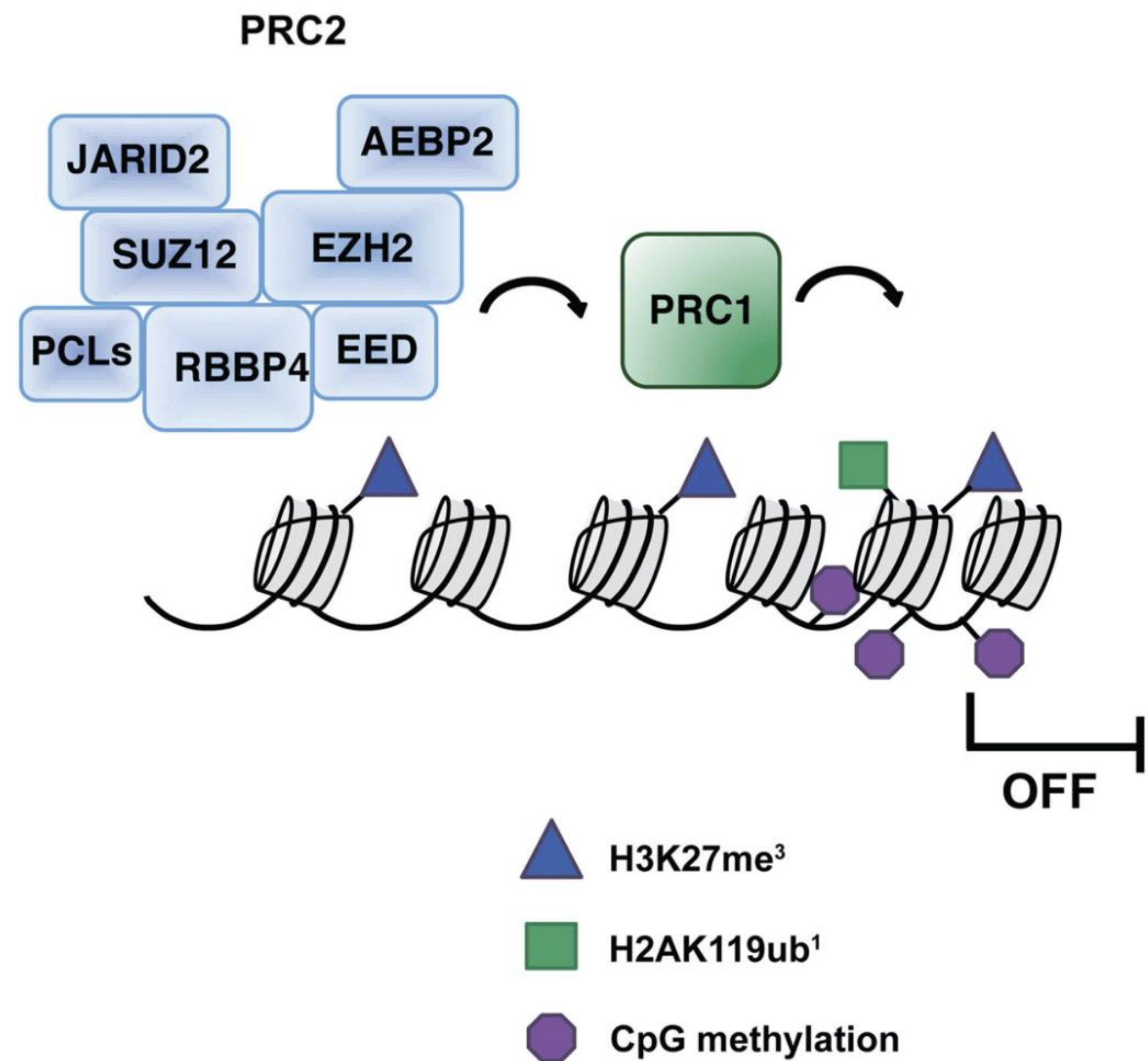


Fig. 1. PRC2 is composed of the core subunits, EZH2, SUZ12, RBBP4 and EED, and is associated with accessory factors, JARID2, AEBP2 and the Polycomb-like proteins (PCLs). PRC2 catalyzes the methylation of histone H3 lysine 27 (H3K27me). PRC1 recognizes, or “reads,” the tri-methylation of the H3K27 residue (H3K27me³), a repressive mark, and in turn adds an ubiquitin to histone H2A lysine 119 (H2AK119ub¹). This causes the recruitment of DNA methyltransferases, which will add methyl groups to DNA at CpG islands, and in this way, the repression of chromatin is maintained and propagated.

↑ EZHIP U EZH2 → PRC2 → K27me3

↓ H3K27me3

↑ EGFR ↑ PI3K/AKT Ser21p ↓ EZH2

↓ H3K27me3

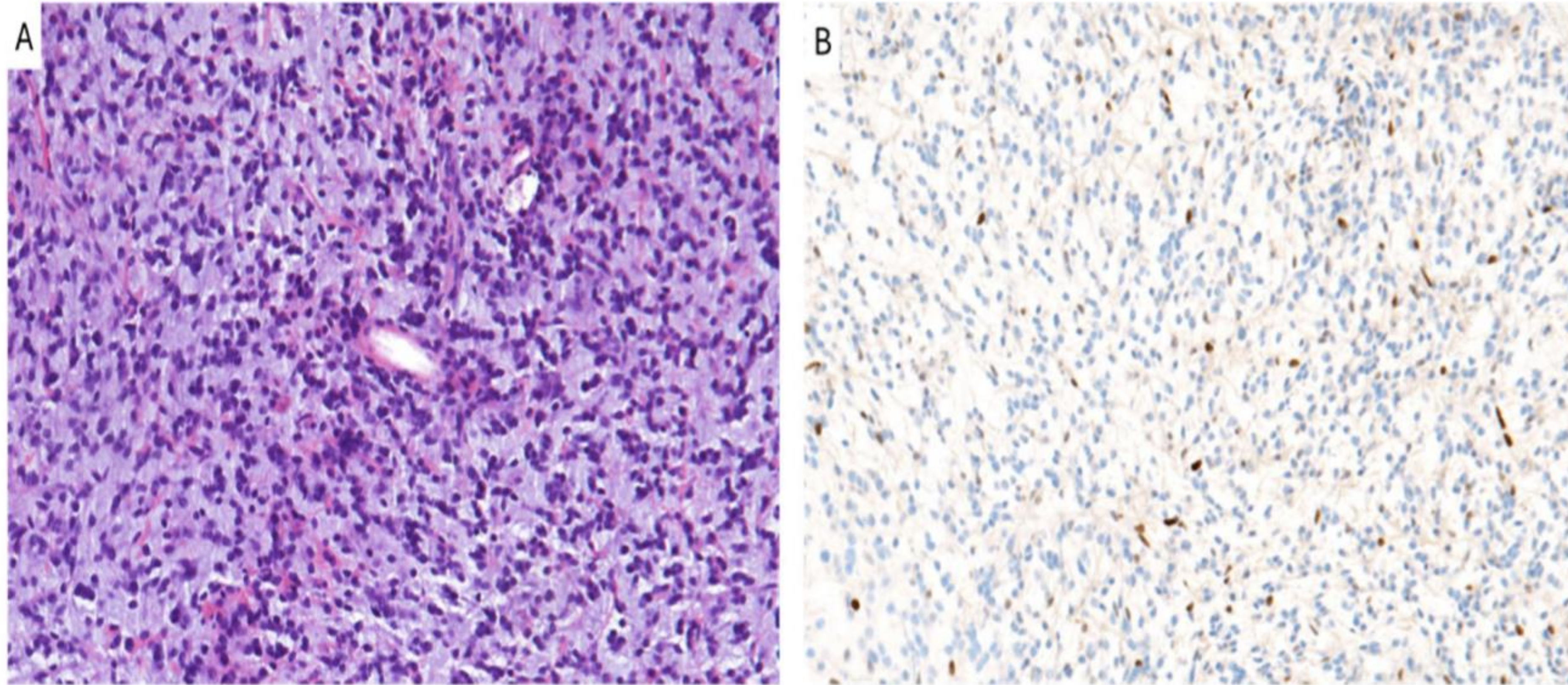


Figure 1. Diffuse midline glioma, H3 K27-altered. (A) An hypercellular diffuse glioma with astrocytic morphology and moderate/severe nuclear pleomorphism is seen. (B) Tumor cells show loss of nuclear staining for H3K27me3 (A,B): original magnifications 300x.

- Biopsia
 - Descartar entidades con tratamiento diferente (embrionarios)
 - Confirmar alteración H3K27M y pérdida H3K27me3 (DMG H3K27M NOS/NEC)
 - Identificar dianas
 - PDGFRA - dasatinib
 - EGFR - nimotuzumab-vinorelbina
 - ATRX- temozolamida
- Radioterapia craneoespinal 54-60 Gy (IMRT, protonterapia)
- Mediana de supervivencia > 12 meses, <10% supervivientes 2 años
 - Sobre-expresión EZHIP pronóstico ligeramente mejor

FOCUS SESSION

Use of intra-operative stimulation of brainstem lesion target sites for frameless stereotactic biopsies

Jason Labuschagne^{1,2}  • Denis Mutyaba^{1,2} • Jacques Nel³ • Claudia Casieri⁴

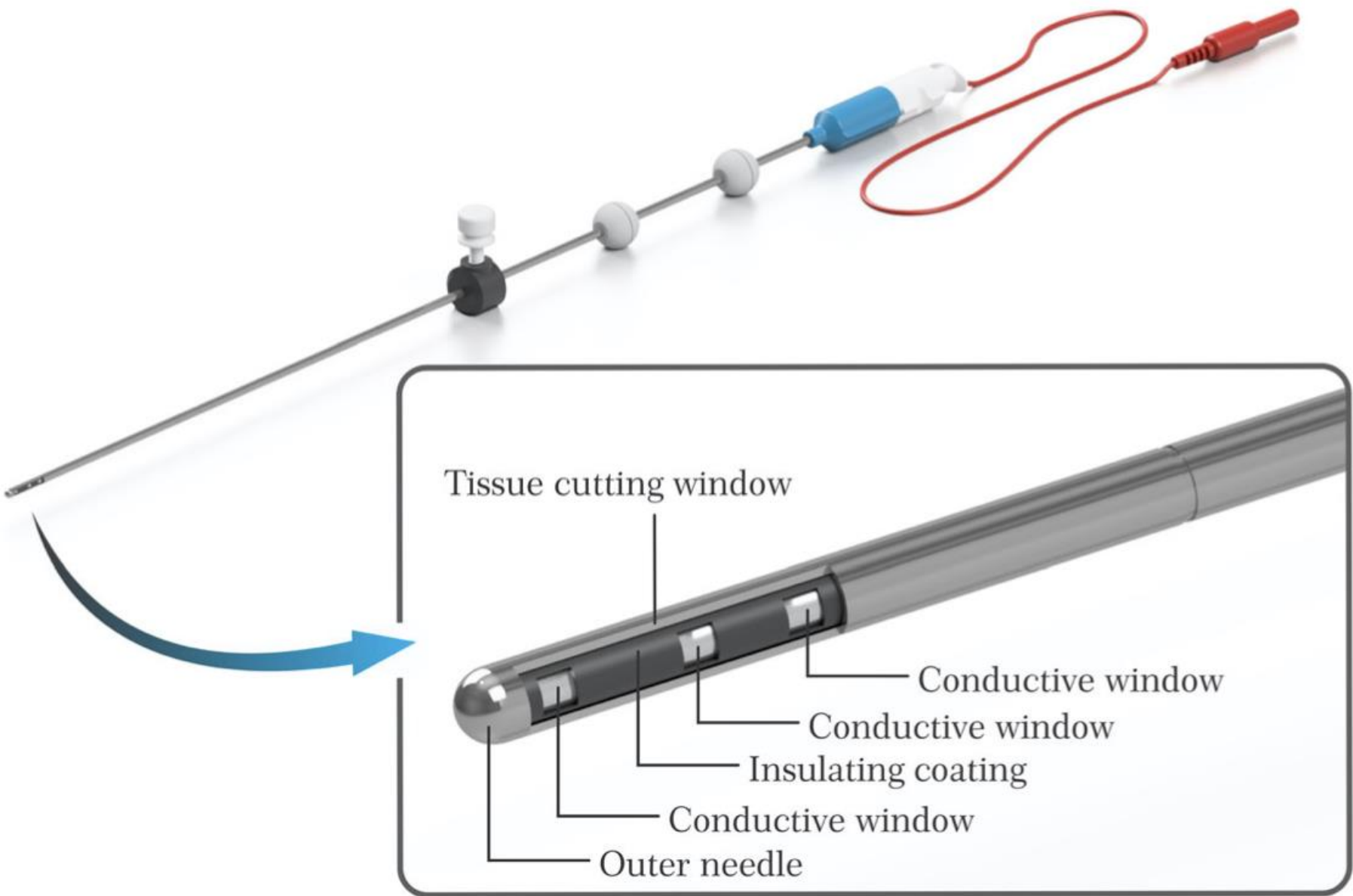


Table 1 Demographics, histological diagnosis and management

Number	Age/gender	Integrated diagnosis	Intra-operative stimulation findings	Further treatment
1	11 years, female	Diffuse astrocytoma, IHD-1 wild, BRAF +Ve, H3 K27M mutant negative. WHO grade II.	No change in EMG or elicitation of compound action potential	Referred to surgery for resection. Gross total resection achieved.
2	18 months, male	Diffuse astrocytoma. BRAF +Ve. H3 K27M testing not available at the time. WHO grade II	No change in EMG or elicitation of compound action potential	Resective surgery was offered but parents refused additional surgery.
3	6 months, male	Pilocytic astrocytoma. WHO grade I.	No change in EMG or elicitation of compound action potential	Referred to surgery for resection. Subtotal resection achieved
4	1 year, male	Anaplastic astrocytoma. IDH1 wild, H3 K27M mutant negative. WHO grade II.	No change in EMG or elicitation of compound action potential	Referred to surgery for resection. Subtotal resection achieved.
5	3 years, female	Diffuse astrocytoma. IDH1 wild, H3 K27M mutant negative. WHO grade II.	No change in EMG or elicitation of compound action potential	Referred to surgery for tumour resection. Gross total resection achieved.
6	5 years, male	Ganglioglioma, WHO grade I.	No change in EMG or elicitation of compound action potential	Referred to surgery. Gross total surgical resection achieved.
7	5 years, male	Diffuse midline glioma, H3 K27M mutant. WHO grade IV.	No change in EMG or elicitation of compound action potential	Referred for radiotherapy
8	2 years, female	CNS embryonal tumour NOS. WHO grade IV.	Abnormal EMG activity detected from vocal cord monitoring with biopsy needle advancement	Referred for chemotherapy
9	4 years, male	Diffuse midline glioma, H3 K27M mutant. WHO grade IV.	Compound action potential elicited at 1.5mA from CN VII	Referred for radiotherapy

SITE INITIATION VISIT
CSET N°: 2014/2126
EudraCT N°: 2014-001929-32



BIOMEDE 2.0

Biological Medecine for Diffuse Intrinsic Pontine Glioma (DIPG) Eradication

COORDINATING INVESTIGATOR
DR JACQUES GRILL

SPONSOR TEAM – PROJECTS AND PROMOTION DIVISION
ANNE-SOPHIE BLANC – SPONSOR PROJECT MANAGER
JULIE MALATIER--SEGARD – SPONSOR CLINICAL STUDY COORDINATOR
MARIUS JAGUENEAU – SPONSOR CRA



❖ Monitoring of biopsy in BIOMEDE 1.0

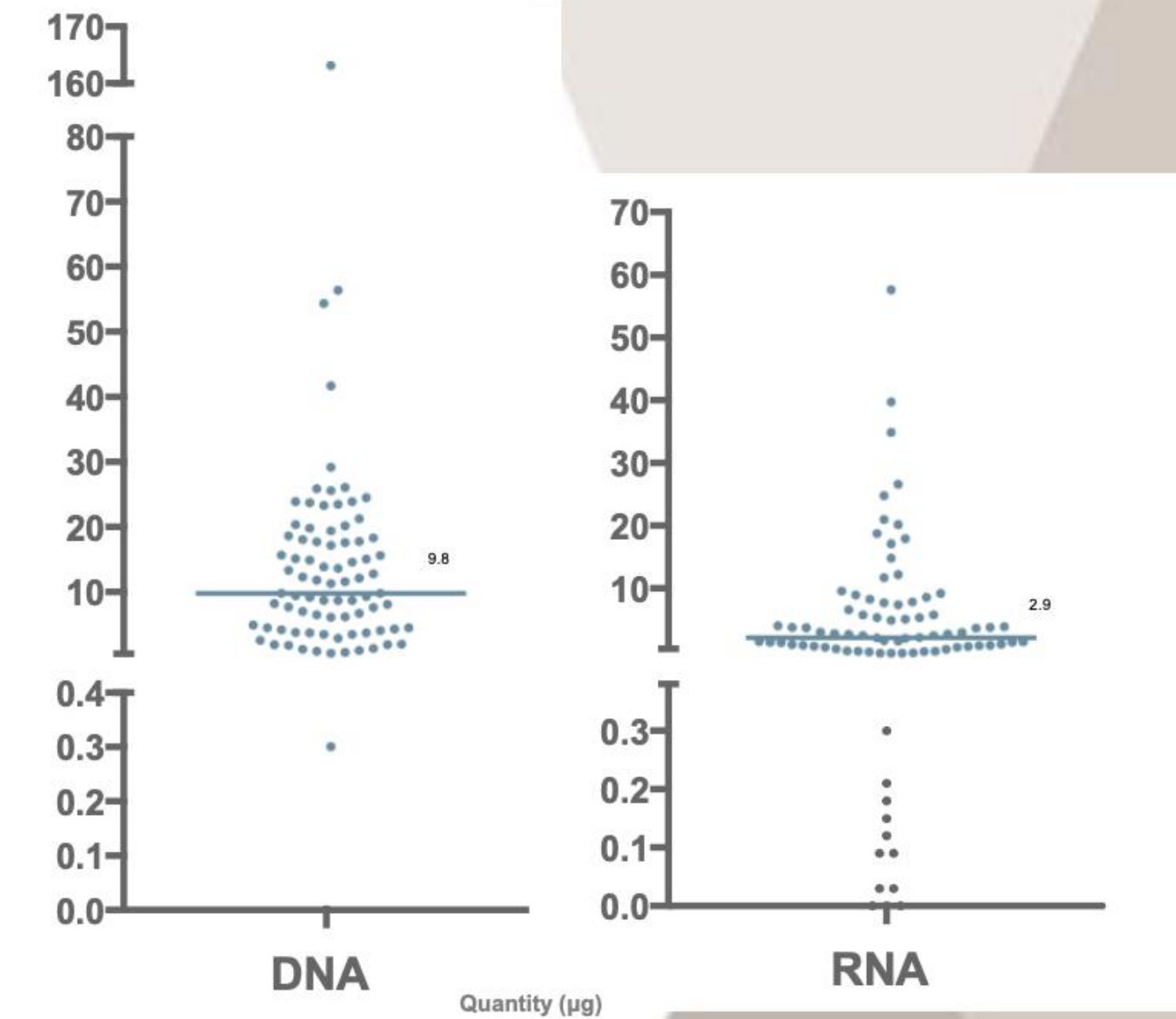
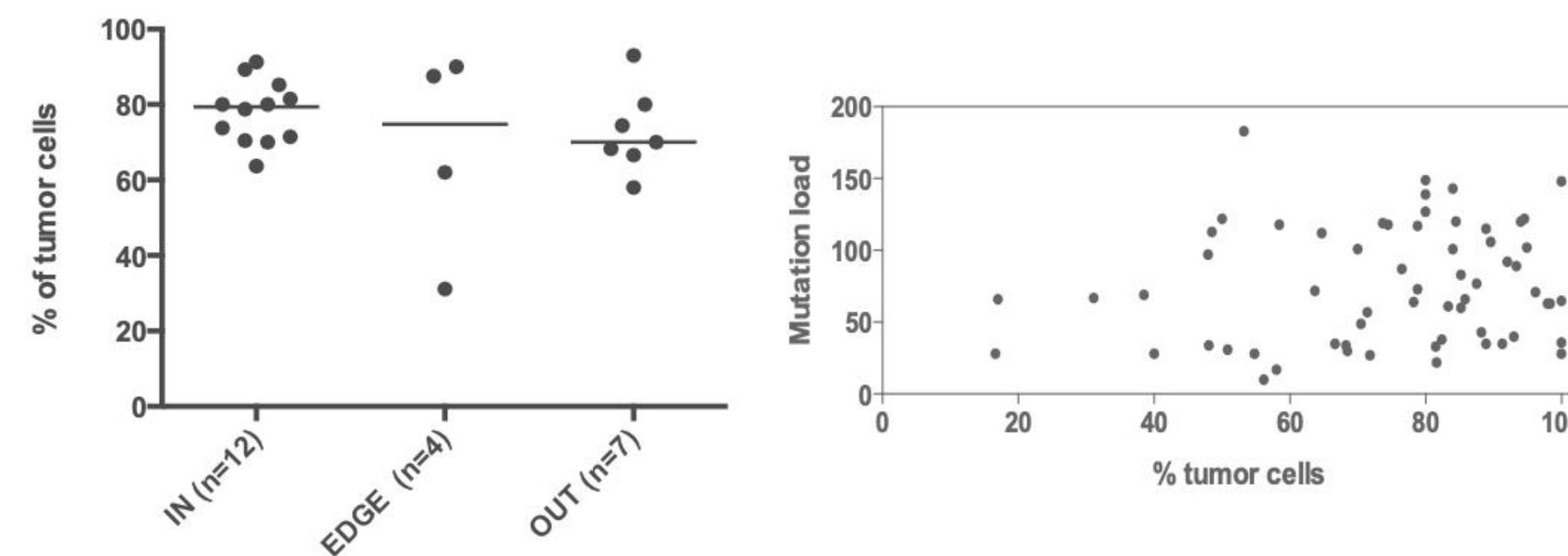
% of tumour cells is not linked to biopsy site



Inside

Edge

Outside



Sufficient material for DNA and RNA sequencing



CAR T cell therapy for pediatric central nervous system tumors: a review of the literature and current North American trials

Rebecca Ronsley^{1,2} · Kelsey C. Bertrand^{3,4} · Edward Z. Song² · Andrea Timpanaro² · Michelle Choe^{1,5} · Dana Tlais^{3,4} · Nicholas A. Vitanza^{1,2} · Julie R. Park³

Table 1 North American phase 1 pediatric clinical trial evaluations CAR T cell products

Trial (NCT)	Target	Admin	Dose range	Lympho-depletion (Y/N)	Multi-dose (Y/N)	Toxicity	Status
03500991	HER2	Locoregional	1–10×10 ⁷	N	Y	Headache, transient worsening of neurodeficits	Active, not recruiting
03638167	EGFR	Locoregional	1–10×10 ⁷	N	Y	Not published	Active, not recruiting
04185038	B7-H3	Locoregional	1–10×10 ⁷	N	Y	Headache, N/V, fever	Recruiting
04099797	GD2	IV and Locoregional	5×10 ⁶ –510 ⁷ /dose ICV, 15 million cells/dose IV	Y	Y	Not published	Recruiting
05768880	B7-H3, EGFR, HER2, IL-13 Rα2	Locoregional	1–10×10 ⁷	N	Y	Not published	Recruiting
04903080	HER2	IV	8×10 ⁷ /m ²	Y	N	Not published	Active, not recruiting
05835687	B7-H3	Locoregional	1×10 ⁷ –1×10 ⁸	N	Y	Not published	Recruiting
04196413	GD2	Locoregional	1×10 ⁶ –100×10 ⁶ /kg	N/Y	Y	Increased ICP, TIAN	Recruiting
04510051	IL-13Rα2	Locoregional	unknown	Y	Y	Not published	Recruiting

Abbreviations: *N* no, *NCT* National Clinical Trial, *N/V* nausea/vomiting, *IV* intravenous, *ICV* intracerebroventricular, *TIAN* tumor inflammation-associated neurotoxicity, *Y* yes

Intravenous and intracranial GD2-CAR T cells for H3K27M⁺ diffuse midline gliomas

<https://doi.org/10.1038/s41586-024-08171-9>

Received: 19 June 2024

Accepted: 8 October 2024

Published online: 13 November 2024

Open access

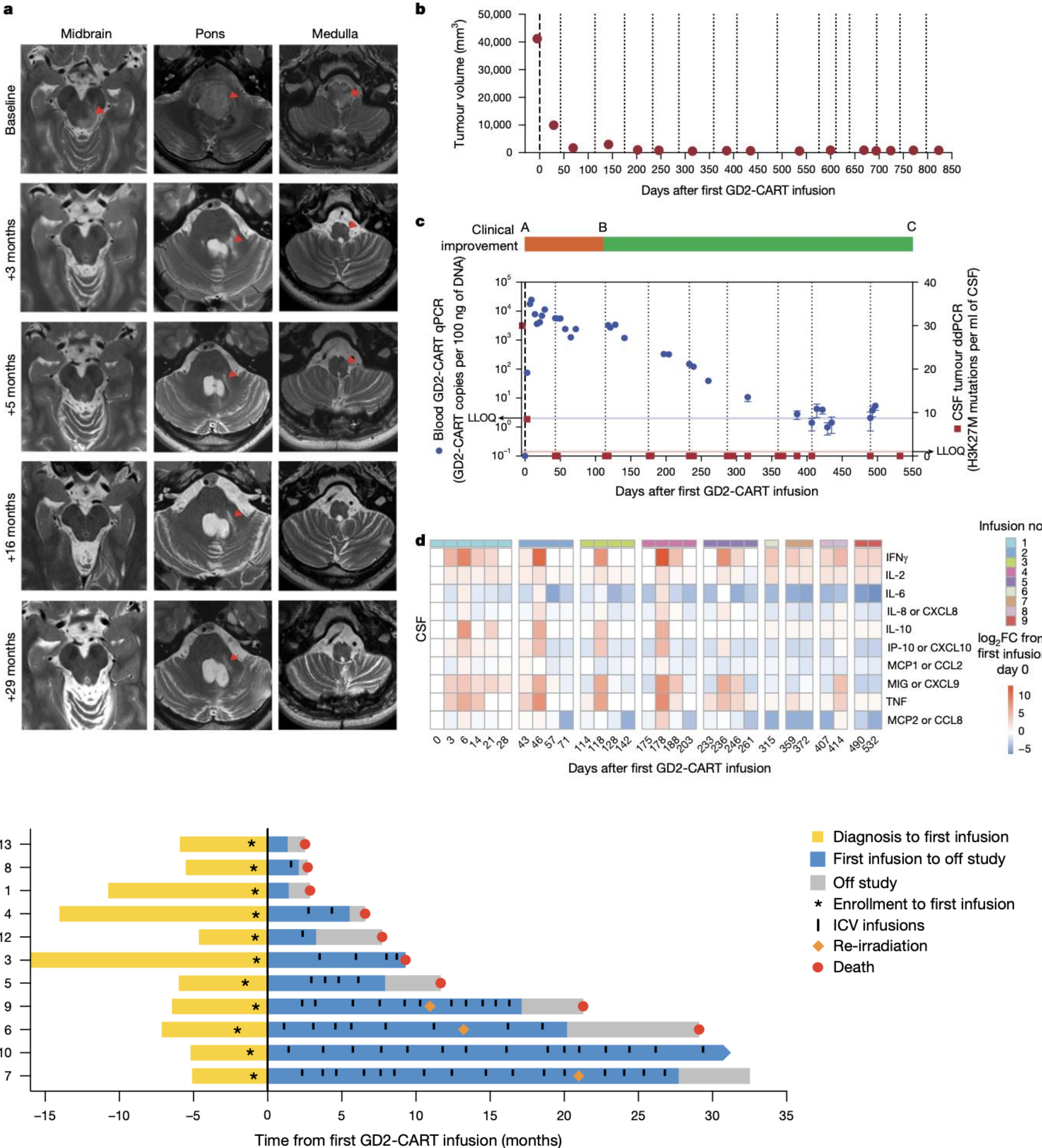
 Check for updates

Michelle Monje^{1,2,3,4,5,6}, **Jasia Mahdi^{1,3}**, **Robbie Majzner^{2,3}**, **Kristen W. Yeom^{1,4,7}**, **Liora M. Schultz^{2,3}**, **Rebecca M. Richards^{2,3}**, **Valentin Barsan^{2,3}**, **Kun-Wei Song^{1,3}**, **Jen Kamens^{2,3}**, **Christina Baggott³**, **Michael Kunicki³**, **Skyler P. Rietberg³**, **Alexandria Sung Lim³**, **Agnes Reschke^{2,3}**, **Sharon Mavroukakis³**, **Emily Egeler³**, **Jennifer Moon³**, **Shabnum Patel³**, **Harshini Chinnasamy³**, **Courtney Erickson³**, **Ashley Jacobs³**, **Allison K. Duh⁴**, **Ramya Tunuguntla³**, **Dorota Danuta Klysz³**, **Carley Fowler³**, **Sean Green²**, **Barbara Beebe³**, **Casey Carr³**, **Michelle Fujimoto³**, **Annie Kathleen Brown³**, **Ann-Louise G. Petersen³**, **Catherine McIntyre⁸**, **Aman Siddiqui⁸**, **Nadia Lepori-Bui⁸**, **Katlin Villar⁸**, **Kymhuynh Pham⁸**, **Rachel Bove⁸**, **Eric Musa⁸**, **Warren D. Reynolds³**, **Adam Kuo³**, **Snehit Prabhu³**, **Lindsey Rasmussen⁹**, **Timothy T. Cornell⁹**, **Sonia Partap¹**, **Paul G. Fisher¹**, **Cynthia J. Campen¹**, **Gerald Grant⁴**, **Laura Prolo⁴**, **Xiaobu Ye¹⁰**, **Bita Sahaf³**, **Kara L. Davis^{2,3}**, **Steven A. Feldman³**, **Sneha Ramakrishna^{2,3}** & **Crystal Mackall^{2,3,11,12}**

Table 1 | Patient demographics and GD2-CAR T cell infusions received

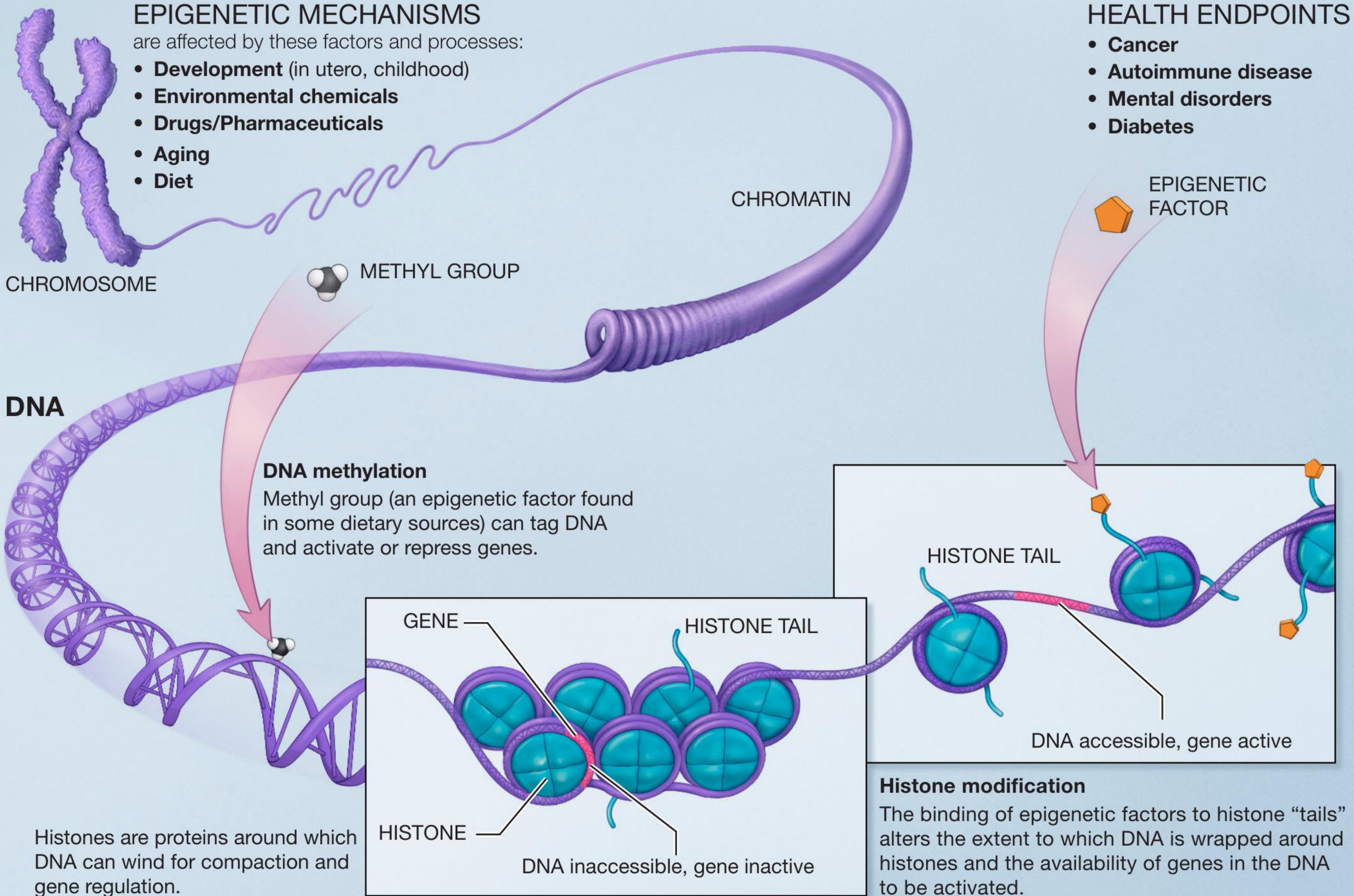
UPN	Age (years)/sex	Disease	Histone mutation	Other known mutations and molecular aberrations	At enrolment			IV			ICV
					Time since diagnosis (months)	Time since end of XRT (months)	Progression at time of first treatment	Dose (×10 ⁶ kg ^{−1})	Dose (×10 ⁶)	No. of doses	
001 ‘DIPG Pt 1’ ^a	14/F	DIPG	H3.3H27M	TP53, KIT amplification, MET amplification, NBN rearrangement	9.9	8.0	Yes	1	NA	0	
003 ‘DIPG Pt 2’ ^a	21/M	DIPG	H3.3H27M	TP53, ATRX, RB1	15.5	12.5	Yes	1	30	4	
004 ‘DIPG Pt 3’ ^a	5/F	DIPG	H3.3H27M	TP53, DAXX rearrangement	13.3	11.5	No	1	30	2	
005	11/F	DIPG	H3.3H27M	NF1, PIK3CA	4.5	1.6	No	2	30	4	
006	30/F	sDMG	H3K27M ^b	From cell-free tumour DNA in CSF: TP53, BRCA1, NBN, NF1, MGA rearrangement, CASP8 rearrangement, RAF1 rearrangement	5.1	1.5	Yes	2	30	8	
007	4/F	DIPG	H3.3K27M	KDM5A, PTEN	4.1	2.0	No	2	10, 30, 50	16	
008	15/M	DIPG	H3K27M ^b	TP53	4.6	2.0	Yes	2	30	1	
009	27/M	sDMG	H3K27M ^b	Patchy ATRX expression	5.7	1.6	Yes	2	10, 30	11	
010	17/M	DIPG	H3.3K27M	NF1	4.1	1.5	Yes	2	30, 50	15	
012	12/F	DIPG	H3.3K27M	TP53, FANCM, MYD88, TSC2	3.9	1.0	No	2	30	1	
013	7/M	DIPG	H3.3K27M	TP53	4.9	2.0	Yes	2		0	

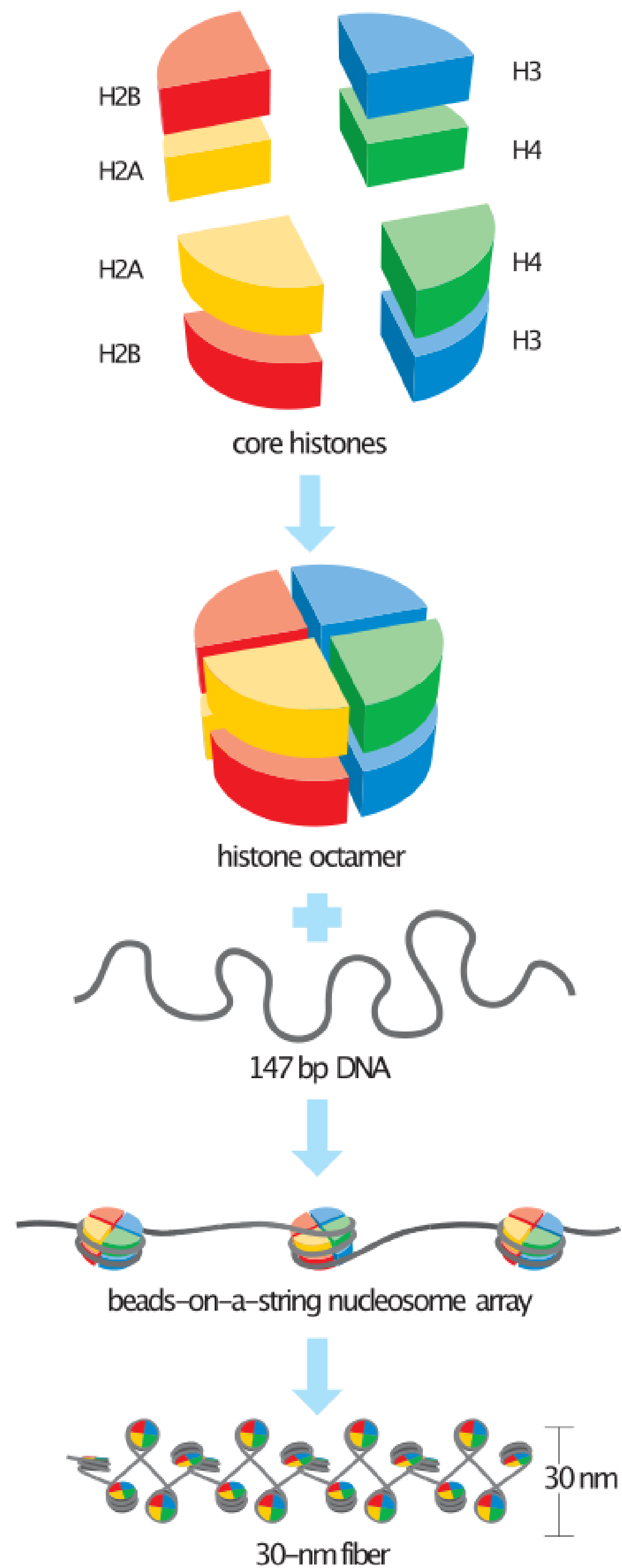
^aPatient nos. 001, 003 and 004 were previously reported as ‘DIPG Patient nos. 1, 2 and 3’, respectively, in ref. 2. Note that patient nos. 002 and 011 became ineligible following enrolment and before infusion; patient no. 002 was treated on a single-patient-compassionate IND application and was reported as ‘spinal cord DMG patient #1’ in ref. 2. ^bAs determined by immunohistochemistry. NA, not applicable; UPN, unique patient number; XRT, radiation therapy.



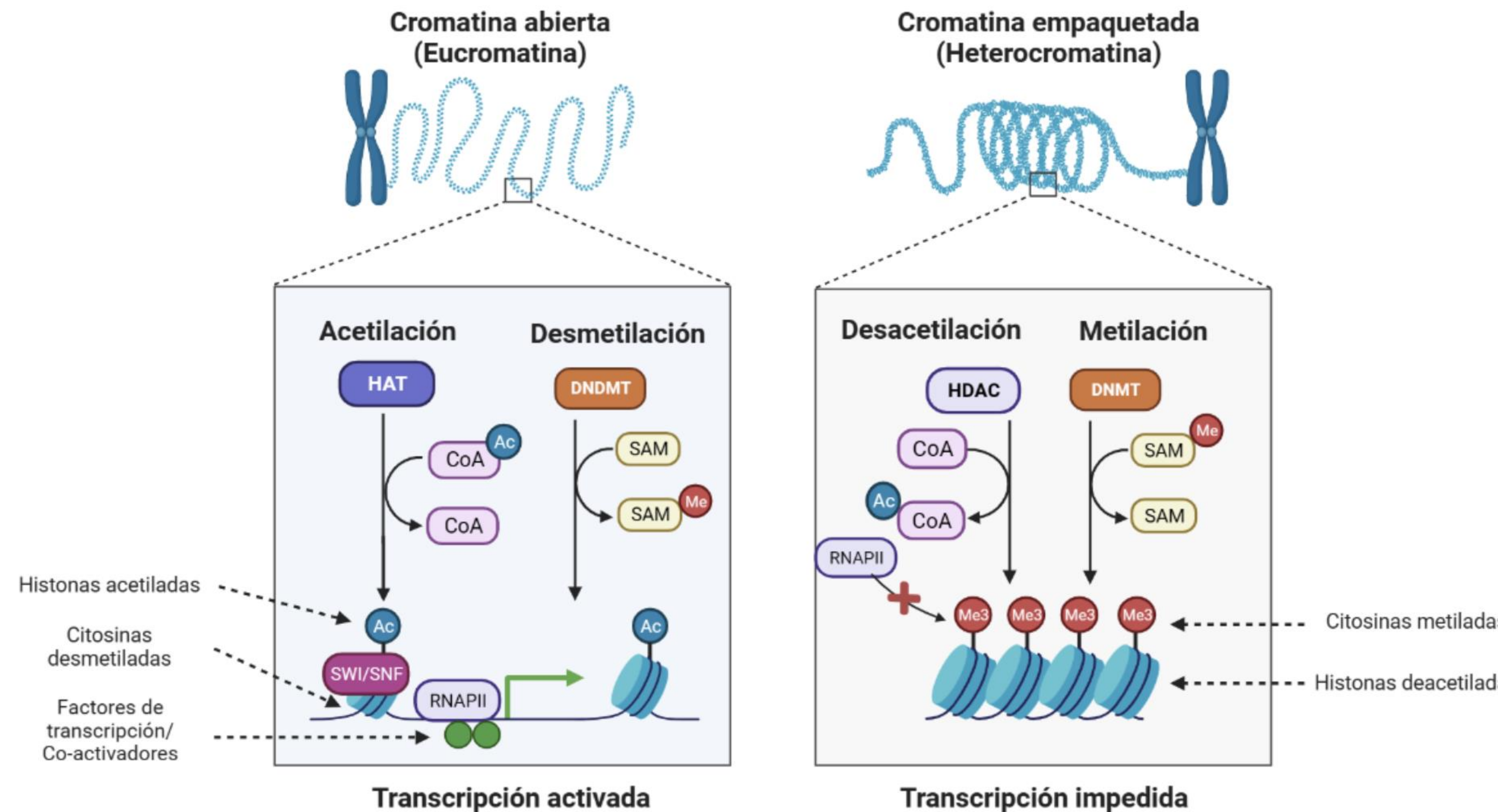
	Essential	Desirable
K27 M-altered	- Diffuse glioma with loss of K27me3 by immunohistochemistry, midline location AND - K27M mutation for H3 K27–mutant subtype, OR - Pathogenic mutation or amplification of EGFR for the EGFR-mutant subtype, OR - Overexpression of EZHIP for the H3-wildtype with EZHIP overexpression subtype, OR - Methylation profile of one of the subtypes of diffuse midline glioma	Molecular results discriminating the H3.1 or H3.2 subtype from the H3.3 subtype
H3 G34-mutant	- Cellular, infiltrative glioma with mitotic activity AND - H3.3 G34R or G34V mutation AND - Hemispheric location AND - Methylation profile of diffuse hemispheric glioma, H3 G34–mutant (for unresolved lesions)	- OLIG2 immunonegativity - Loss of ATRX expression - Diffuse p53 immunopositivity
pHGG H3/IDH WT	- A diffuse glioma in a child or young adult with high mitotic activity AND - Lack of IDH1/IDH2 mutations AND - Lack of H3 mutations AND - Methylation profile: pHGG RTK1, RTK2 or MYCN OR - PDGFRA alteration, EGFR alteration, or MYCN amplification	- Microvascular proliferation - Necrosis, typically palisading - K27me3 retained
Infant-type hemispheric glioma	- Cellular astrocytoma AND - Presentation in early childhood AND - Hemispheric location AND - Receptor tyrosine kinase alterations (e.g. fusion in NTRK family gene or ROS1, MET1, or ALK) OR - Methylation profile: infant-type hemispheric glioma	

- DMG H3K27 alterado: Astrocitoma agresivo tronco/ línea media
 - DIPG > talámico, tallo, médula espinal
- Definido molecularmente en tres subtipos
 1. DMG H3K27 M/L mutado (H3 subtipos 1-3)
 2. DMG H3 wildtype con sobre expresión EZHIP
 3. DMG con alteración EGFR (amplificación o mutación)
- Inmunofenotipo consistente con el origen glial
 - Olig2 y S100 positivas, variable para GFAP
- Puede coexistir con mutación BRAF V600E > IDH1 >> H3.3. G34R/V



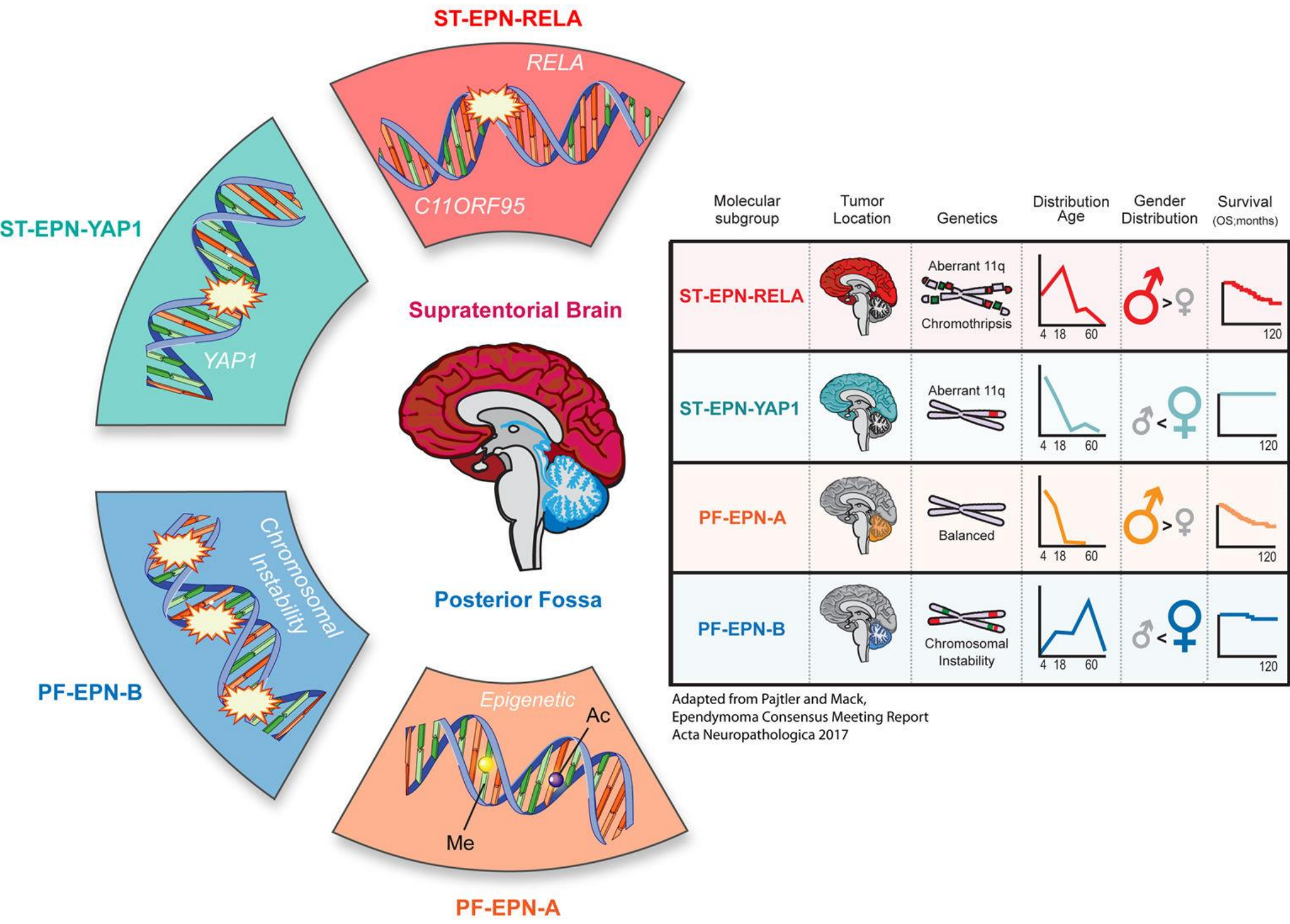
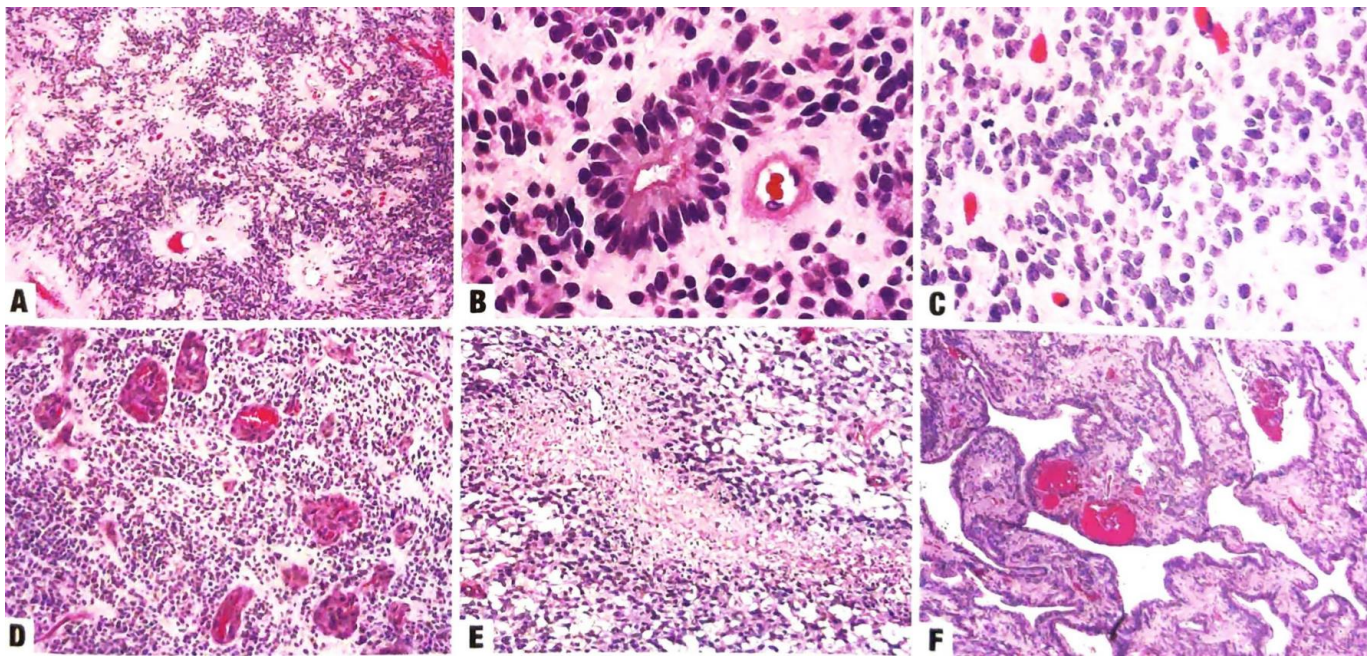
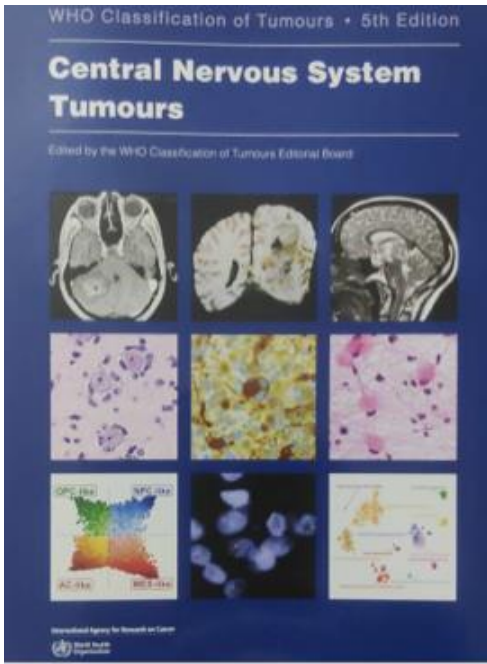


- **H3.1:** *HIST1H3A, HIST1H3B, HIST1H3C, HIST1H3D, HIST1H3E, HIST1H3F, HIST1H3G, HIST1H3H, HIST1H3I, HIST1H3J*
- **H3.2:** *HIST2H3A, HIST2H3C, HIST2H3D*
- **H3.3:** *H3F3A, H3F3B*



Put away your microscopes: The ependymoma molecular era has begun

Stephen C. Mack^{1,2} and Michael D. Taylor³



		Age	Sex	CNS WHO grade	Molecular features	Outcome
Supratentorial	ST-SE		♂♂♂♀	1	Balanced genome	
	ST-ZFTA		♂♂♀	2 / 3	ZFTA fusions Chromothripsis CDKN2A and/or CDKN2B loss	
	ST-YAP1		♂♀♀♀	2 / 3	YAP1 fusions	
Infratentorial	PF-SE		♂♂♂♀	1	Balanced genome	
	PFA		♂♂♀	2 / 3	EZH1P mutations H3 p.K28M (K27M) mutations Chr. 1q gain	
	PFB		♂♀	2 / 3	Chromosomal instability	
	SP-SE		♂♀	1	Chr. 6q deletion	
Spinal	SP-EP		♂♂♀	2 / 3	NF2 mutations	
	SP-MP		♂♀	2	Chromosomal instability	
	SP-MYCN		♂♀		MYCN amplification (Chr. 2p)	