

Praktická diagnostika nádorov CNS podľa WHO klasifikácie 2021: všeobecné zmeny a diagnostika difúzných gliómov

**doc. MUDr. Marián Švajdler, Ph.D.^{1,2,3}, MUDr. Peter Švajdler³, MUDr. Richard Kolečák⁴,
doc. MUDr. Vladimír Přibáň, Ph.D.⁴, doc. MUDr. Jan Mraček, Ph.D.⁴**

¹Šiklův ústav patologie, Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Plzni a Fakultní nemocnice Plzeň

²Biopická laboratoř, s. r. o., Plzeň

³Cytopathos, s. r. o., Bratislava

⁴Neurochirurgická klinika, Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Plzni a Fakultní nemocnice Plzeň

WHO klasifikácia nádorov CNS z roku 2021 (WHO CNS 2021) predstavuje zásadné zmeny v klasifikácii nádorov mozgu a miechy, ktoré vychádzajú z významných pokrokov v oblasti molekulovej patológie. Základom patologickej diagnostiky je stále histomorfologické vyšetrenie podporené imunohistochemiou, mnohé typy nádorov však nie je možné správne diagnostikovať bez genetickej analýzy, vrátane použitia novej techniky – metylačného profilovania. WHO CNS 2021 popisuje mnohé nové nádorové jednotky, predstavuje nový prístup ku gradingu, vrátane tzv. molekulového gradingu a zdôrazňuje dôležitosť tzv. integrovanej histologicko-genetickej diagnózy. V prehľadovom článku sú zhrnuté niektoré hlavné zmeny vo WHO CNS 2021 a stručne je predstavená praktická diagnostika difúzných gliómov.

Kľúčové slová: nádory CNS, gliómy, molekulová patológia, metylačné profilovanie, WHO klasifikácia.

Practical diagnosis of CNS tumors according to WHO CNS 2021 classification: General changes and diagnosis of diffuse gliomas

WHO classification of tumors of the central nervous system published in 2021 (WHO CNS 2021) introduces major changes in classification of tumors of the brain and the spinal cord which reflect major advances in the molecular genetics. Histology and immunohistochemistry still represent the cornerstone of diagnostics, but in many tumor types advanced molecular techniques, including methylation profiling, are required to arrive at correct diagnosis. WHO CNS 2021 introduces many new tumor types, establishes different approach to grading, including molecular grading, and emphasizes the importance of integrated diagnosis. This review summarizes some general changes in WHO CNS 2021 and briefly introduces practical diagnosis of diffuse gliomas.

Key words: CNS tumors, gliomas, molecular pathology, methylation profiling, WHO classification.

Úvod

Piate vydanie WHO (World Health Organization) klasifikácie nádorov centrálného nervového systému z roku 2021 (ďalej WHO CNS 2021) je postavené na základoch aktuali-

zovaného 4. vydania z roku 2016 a doporučeniach skupiny cIMPACT-NOW (Consortium to Inform Molecular and Practical Approaches to CNS Tumor Taxonomy) publikovaných v následujúcom období rokov 2018–2020 (WHO

DECLARATIONS:

Declaration of originality:

The manuscript is original and has not been published or submitted elsewhere.

Ethical principles compliance:

The authors attest that their study was approved by the local Ethical Committee and is in compliance with human studies and animal welfare regulations of the authors' institutions as well as with the World Medical Association Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects adopted by the 18th WMA General Assembly in Helsinki, Finland, in June 1964, with subsequent amendments, as well as with the ICMJE Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals, updated in December 2018, including patient consent where appropriate.

Conflict of interest:

Not applicable.

Consent for publication:

Not applicable.

Cit. zkr: *Neurol. praxi.* 2024;25(4):256-262

<https://doi.org/10.36290/neu.2024.020>

Článek přijat redakcí: 29. 12. 2023

Článek přijat k publikaci: 24. 3. 2024

doc. MUDr. Marián Švajdler, Ph.D.
svajdler@biopicka.cz

Tab. 1. Nové typy nádorov WHO CNS 2021. Kurzívou sú uvedené provizórne typy

Difúzny astrocytóm, MYB/MYBL1-alterovaný
Polymorfný low-grade neuroepiteliálny tumor mladých pacientov (Polymorphous low-grade neuroepithelial tumor of the young – PLNTY)
Difúzny low-grade glióm, s alteráciou MAPK cesty
Difúzny hemisferický glióm, H3 G34-mutovaný
Difúzny high-grade glióm pediatrického typu, H3 a IDH-wildtype
Hemisferický glióm infantilného typu
High-grade astrocytóm s piloidnými rysmi
<i>Difúzny glioneuronálny tumor s rysmi podobnými oligodendrogliómu a jadrovými zhlukmi (Diffuse glioneuronal tumor with oligodendroglioma-like features and nuclear clusters)</i>
Myxoidný glioneuronálny tumor
Multinodulárny a vakuolizujúci neuronálny tumor
Supratentoriálny ependymóm s fúziou YAP1
Ependymóm zadnej jamy, skupina PFA
Ependymóm zadnej jamy, skupina PFB
Spinálny ependymóm s amplifikáciou MYCN
Kribriiformný neuroepiteliálny tumor
CNS neuroblastóm, FOXR2-aktivovaný
CNS tumor s BCOR internou tandemovou duplikáciou
Dezmoplastický myxoidný tumor pineálnej oblasti, SMARCB1-deficientný
Intrakraniálny mezenchymálny tumor s fúziou FET-CREB
CIC-rearanžovaný sarkóm
Primárny intrakraniálny sarkóm DICER1-mutovaný
Pituitárny blastóm

Classification of Tumours Editorial Board, 2021; Louis et al., 2016; Louis et al., 2018; Brat et al., 2018; Ellison et al., 2019; Brat et al., 2020; Louis et al., 2020; Ellison et al., 2020). Základom patologickej diagnostiky je stále histomorfologické vyšetrenie, vhodne doplnené imuno-histochemiou; klasifikácia WHO CNS 2021 sa však v mnohých prípadoch výrazne opiera o genetické vyšetrenia, bez ktorých dnes už nie je možné niektoré jednotky správne diagnostikovať. Práve vďaka novým poznatkom z oblasti molekulovej genetiky nádorov CNS, vrátane použitia výsledkov nových techník (viď nižšie) WHO CNS 2021 popisuje mnohé nové nádorové jednotky (Tab. 1).

Aj keď by sa mohlo zdať, že v niektorých prípadoch má detailná klasifikácia s použitím techník molekulovej genetiky zatiaľ význam skôr akademický (napr. z pohľadu aktuálnych terapeutických postupov), v mnohých prípadoch je výsledkom integrovanej histopatologicko-genetickej diagnostiky nielen presná klasifikácia nádoru, ale aj prognostická a potenciálne aj prediktívna informácia.

Všeobecné zmeny v klasifikácii WHO CNS 2021

WHO CNS 2021 zavádza celé spektrum formálnych zmien (Louis et al., 2021). Ide

o zmeny taxonómie, ktorá má aktuálne hybridný morfológicko-molekulovo-genetický charakter; (i) niektoré nádorové typy sú definované kombináciou histológie a molekulovej genetiky, (ii) u niektorých má genetická informácia iba doplňujúci/podporný charakter a nie je súčasťou diagnostických kritérií a (iii) u niektorých typov je genetika využívaná iba vzácnne, alebo prakticky nikdy a tieto nádory sú stále definované najmä morfológicky. Ďalšie zmeny zahŕňajú nahradenie pojmov jednotka a variant termínmi typ a podtyp a používanie arabských čísl pri gradingu (ide o zjednotenie s WHO klasifikáciami nádorov ostatných orgánových systémov). Zmenou je aj snaha o maximálnu simplifikáciu názvov nádorov, napr. odstránenie anatomických označení u niektorých typov nádorov (napr. chordoidný glióm tretej komory je v novej klasifikácii označený iba ako chordoidný glióm), alebo odstránenie prívlastku anaplastický, ktorý je nahradený gradingom v rámci typu nádoru (napr. anaplastický astrocytóm, IDH-mutovaný je po novom iba astrocytóm, IDH-mutovaný, Grade 3). Modifikátory v názve nádorov – odkaz na genetické zmeny, lokalizáciu, alebo vekovú kategóriu – sú ponechané iba v prípadoch s klinickým významom (Louis et al., 2021).

Grading a kombinovaný histologicko-molekulový grading

Grading nádorov CNS sa dlhodobo líši od gradingu nádorov iných orgánových systémov. Grade bol pridelovaný naprieč rôznymi jednotkami na základe očakávaného klinického priebehu. Napríklad, očakávaný priebeh ochorenia a prežívanie u anaplastického astrocytómu grade III a anaplastického meningeómu grade III bol považovaný za približne rovnaký, napriek tomu, že sa biologicky jednalo o veľmi odlišné nádory a skutočný priebeh ochorenia a prognóza sa častokrát výrazne líšili. WHO CNS 2021 zavádza grading v rámci nádorových typov a tým zdôrazňuje biologickú podobnosť v rámci konkrétneho histologického typu, poskytuje väčšiu flexibilitu gradingu v rámci histologického typu a približuje sa tak k WHO gradingu nádorov ostatných orgánových systémov (Louis et al., 2021). Nový prístup ku gradingu nádorov CNS viedol napr. ku značnému zjednodušeniu klasifikácie difúzných gliómov u dospelých pacientov; v tejto skupine bolo v predošlej klasifikácii WHO 2016 zaradených až 15 histologických jednotiek, pričom nová klasifikácia WHO CNS 2021 rozoznáva iba tri histologické typy: astrocytóm, IDH-mutovaný (ktorý môže mať grade 2, 3, alebo 4), oligodendroglióm, IDH-mutovaný, s kodeléciou 1p/19q (grade 2 alebo 3) a glioblastóm, IDH-wildtype (grade 4).

Novinkou je využitie molekulových markerov v gradingu niektorých nádorov. Prítomnosť konkrétnych genetických alterácií vedie ku stanoveniu vyššieho grade aj pri absencii high-grade morfológických zmien. Napríklad, morfológicky low-grade IDH-mutovaný astrocytóm s homozygótnou deléciou *CDKN2A/B* je klasifikovaný ako grade 4 (Brat et al., 2020). Podobne, histologicky low-grade astrocytóm, IDH-wildtype, s amplifikáciou *EGFR*, alebo kombinovaným ziskom chromozómu 7 a stratou chromozómu 10 (+7/-10), alebo mutáciou v promotórovej oblasti génu *TERT* má priradený grade 4 (Brat et al., 2018).

Metódy molekulovej genetiky v klasifikácii nádorov CNS

Až na niektoré výnimky, WHO CNS 2021 nedoporučuje konkrétne techniky na dôkaz

genetických charakteristík jednotlivých typov nádorov. Na otázku aké sú prijateľné techniky/metódy a aký by mal byť časový rámec genetického vyšetrenia nedokázali odpovedať ani oficiálne doporučená renomovaných patologických spoločností (Brat et al., 2022). Tieto rozhodnutia sú aktuálne v rukách konkrétneho patológa, ktorý musí pri výbere najspoločnejšej metódy veľmi úzko spolupracovať s genetikmi, ako aj klinickými partnermi, aby vyšetrenie netrvalo neprimerane dlho a bolo, podľa možnosti, čo najekonomickejšie.

Väčšina nových genetických poznatkov o nádoroch CNS zahrnutých vo WHO CNS 2021 bolo získaných vďaka použitiu novších robustných techník, z ktorých najvýznamnejšie miesto má sekvenovanie novej generácie (next generation sequencing – NGS) a metylačné profilovanie. Patológ si v mnohých prípadoch stále vystačí použitím klasických genetických techník (napr. Sangerovo sekvenovanie, fluorescenčná *in situ* hybridizácia – FISH), prípadne je možné niektoré genetické markery pomerne spoľahlivo identifikovať zástupným imunohistochemickým (IHC) vyšetrením (napr. dôkaz expresie IDH1, ATRX, H3K27M, H3K27Mme3, EZHIP, BRAF a ďalších proteínov). Nezriedka je však výhodnejšie použiť identifikáciu celého spektra genetických zmien v rámci jedného vyšetrenia (tj. použiť NGS). Takáto „panelová“ diagnostika je jednoznačne doporučovaná aj v prípadoch hľadania prípadných terapeutických cieľov (Capper et al., 2023).

Metylácia je epigenetická modifikácia DNA, ktorou je regulovaná transkripcia génov. Biochemicky ide o naviazanie metylovej skupiny na cytozín, alebo menej často adenín. Metylóm nádorovej bunky odráža pôvod nádorovej bunky a somaticky získané zmeny v procese karcinogenézy. Klasifikácia nádorov založená na metylačnom profilovaní využíva skutočnosť, že metylóm buniek rôznych typov nádorov sa vzájomne dostatočne líši. Metóda používa techniky strojového učenia a pri odlišovaní jednotlivých typov nádorov porovnáva prítomnosť (alebo neprítomnosť) metylácie na tisícach vybraných miest v celej DNA (Capper et al., 2018). Aktuálne (december 2023) celosvetovo zrejme najpoužívanejší klasifikátor nádorov CNS založený na metylačnom profilovaní rozoznáva 370 molekuly

Tab. 2. Vybrané nové typy nádorov, ktoré nie sú zahrnuté vo WHO CNS 2021

Typ	Klinické charakteristiky	Molekulovo-genetické charakteristiky	Referencia
Glioneuronálny tumor, NOS, Subtyp A	Tumor detského veku, potenciálne agresívny, ale prognóza aktuálne neistá	Identifikovateľný iba metylačným profilovaním; fúzie <i>NTRK</i> a <i>ALK</i>	Tauziède-Espariat, 2022
Glioneuronálny tumor s alteráciou <i>ATRX</i> , kinázovými fúziami a anaplastickými rysmi (GTAKA)	Supratentoriálny tumor, vek 4 – 76 rokov (median 19 rokov), potenciálne agresívny tumor, rekurencia priemerne po ~ 23 mesiacoch	Identifikovateľný iba metylačným profilovaním; alterácie <i>ATRX</i> , fúzie <i>NTRK</i> , <i>FGFR1</i> , <i>EGFR</i> , <i>BRAF</i> , <i>MET</i> ; homozygotná delícia <i>CDKN2A/B</i> (50 %)	Bogumil, 2023
CNS embryonálny tumor s alteráciami <i>PLAGL1</i>	Tumor detského veku, väčšinou primitívna malobunková morfológia, klinicky agresívny tumor	Najlepšie identifikovateľný metylačným profilovaním; amplifikácia <i>PLAGL1</i> , <i>PLAGL2</i> , fúzia <i>PLAG1</i>	Keck, 2023; Tauziède-Espariat, 2023
Supratentoriálny neuroepiteliálny tumor s <i>PLAGL1</i> fúziou	Tumor prevažne detského veku, pravdepodobne s ependymálnou diferenciáciou, median PFS = 35 mesiacov	Identifikovateľný iba metylačným profilovaním	Tauziède-Espariat, 2023
High-grade glióm s pleomorfnými a pseudopapilárnymi rysmi (HPAP)	Ohraničene rastúci glióm dospelých (median 46,5 rokov), morfologicky podobný pleomorfnému xanthoastrocytému, astroblastómu, ependymómu, alebo PLNTY. Agresívny tumor, prognóza ale výrazne lepšia ako pri glioblastóme, IDHwt	Identifikovateľný iba metylačným profilovaním; strata chromozómu 13, mutácie <i>p53</i> , <i>RB1</i> , <i>NF1</i> , <i>NF2</i> , vzácné <i>BRAF</i>	Prat, 2022
Gliomatosis cerebri-like glioma, IDH-wildtype (GCLG, IDH-wt)	Radiologicky často obraz podobný gliomatosis cerebri, morfologicky difúzny glióm s astrocytárnou morfológiou, bez nekrózy alebo mikrovaskulárnej proliferácie. Prognóza signifikantne lepšia ako pri glioblastóme, IDHwt, podobná IDH-mutovaným astrocytómom	Identifikovateľný iba metylačným profilovaním; mutácie promotora <i>TERT</i> , <i>PIK3R1</i> , <i>p53</i>	Muench, 2023

lových tried, ktoré zahŕňajú histologické typy, podtypy a podtriedy väčšiny nádorov CNS, nádorov hypofýzy, nádorov zo zárodočných buniek, nádorov z obalov periférnych nervov a niektoré typy sarkómov (Capper et al., 2018; www.molecularneuropathology.org). Mnohé nové jednotky vo WHO CNS 2021 boli objavené práve vďaka metylačnému profilovaniu, pričom niektoré typy nádorov (napr. difúzny glioneuronálny tumor s rysmi podobnými oligodendrogliómu a jadrovými zhlukmi/DGONC, alebo high-grade astrocytóm s piloidnými rysmi) nie je možné správne identi-

fikovať inými genetickými technikami. V prípade high-grade astrocytómu s piloidnými rysmi ide o zásadný problém – tento tumor vo väčšine prípadov nemá high grade morfológiu a skutočne môže byť zamenený za pilocytický astrocytóm alebo iný low-grade tumor, jeho prognóza je však iba o niečo lepšia ako prognóza glioblastómu, IDH-wildtype (Bender et al., 2021). Metylačné profilovanie má ďalej nezastupiteľnú úlohu v klasifikácii a stratifikácii rizika vybraných typov nádorov, napríklad ependymómov zadnej jamy, alebo medulloblastómov (viac o metylačnom profi-

lovaní a diagnostike nádorov CNS detského veku v ďalšom článku v tomto čísle). Metylačné profilovanie je ďalej doporučované v diagnostike morfológicky obtiažnych nádorov, prípadov s nejednoznačným, alebo protichodným genetickým profilom, alebo prípadov s neobvyklým klinickým priebehom. Klinická užitočnosť tejto techniky bola preukázaná v mnohých prácach – diagnostika postavená na metylačnom profilovaní môže viesť k zmene histologickej diagnózy v 6 – 25 % prípadov nádorov u detí i dospelých (Capper et al. 2018; Jaunmuktane et al., 2019; Priesterbach-Ackley et al., 2020; Schepke et al., 2022). V jednej práci, v ktorej boli zahrnuté iba morfológicky obtiažne prípady, viedlo metylačné profilovanie k zmene pôvodnej histopatologickej diagnózy až v 84 % prípadov, pričom až v 15 % prípadov zmena diagnózy ovplyvnila onkologický manažment (Karimi et al., 2019).

Nové jednotky identifikované po publikácii WHO CNS 2021

Metylačným profilovaním boli od vydania WHO CNS 2021 objavené ďalšie nové

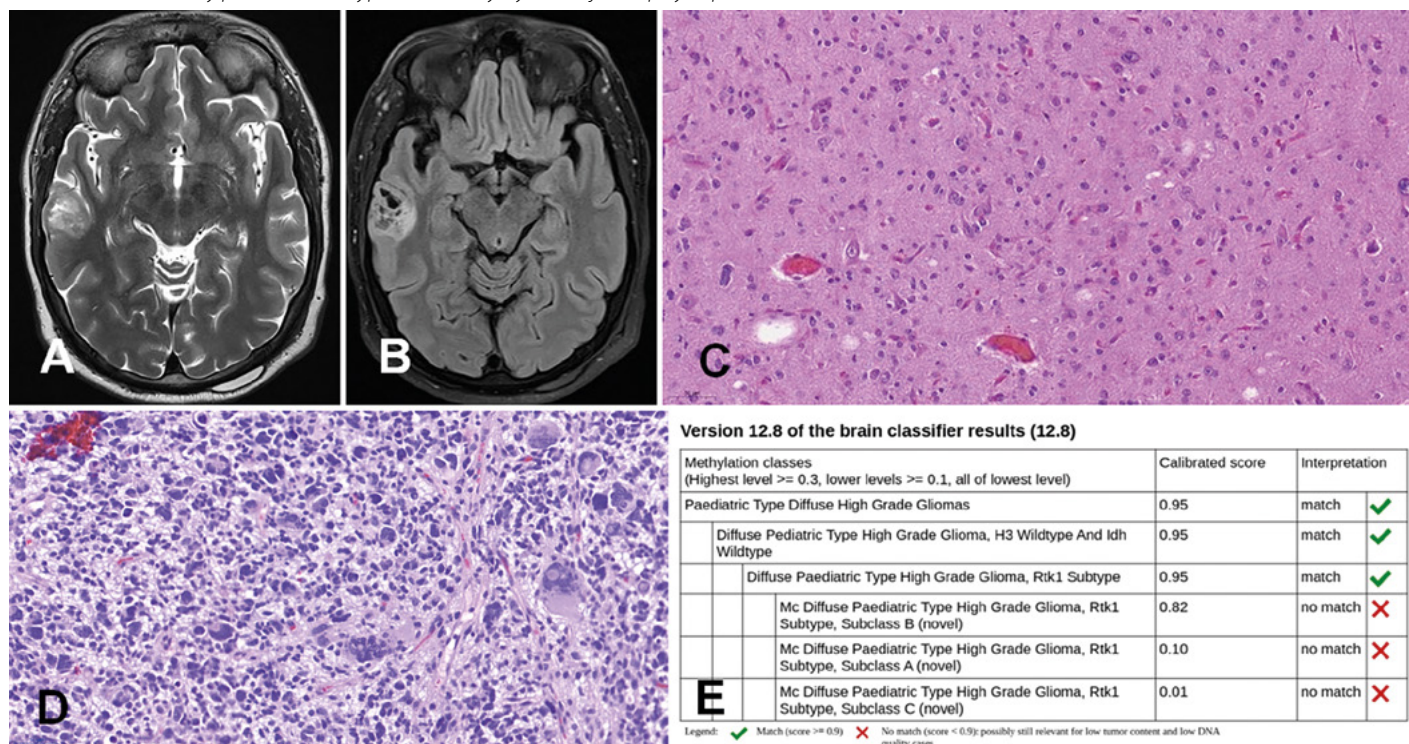
typy nádorov, napr. glioneuronálny tumor, NOS, Subtyp A (Tauziède-Espariat et al., 2022), glioneuronálny tumor s alteráciou ATRX, kinázovými fúziami a anaplastickými rysmi (GTAKA) (Bogumil et al., 2023), CNS embryonálny tumor s alteráciami PLAG(L) (Keck et al., 2023), supratentoriálny neuroepiteliálny tumor s PLAGL1 fúziou (Tauziède-Espariat et al., 2023), high-grade glióm s pleomorfými a pseudopapilárnymi rysmi (HPAP) (Prat et al., 2022), alebo gliomatosis cerebri-like glióm, IDH-wildtype (GCLG, IDH-wt) (Muench et al., 2023). Objavenie posledne menovaného tumoru (GCLG, IDH-wt) komplikuje ináč doposiaľ pomerne jednoduchú diagnostiku väčšiny difúzných astrocytómov u dospelých; tento tumor typicky nemá nekrózy ani mikrovaskulárnu proliferáciu, ale má často mutáciu v promotórovej oblasti *TERT* a podľa súčasných doporučení by mohol byť klasifikovateľný ako glioblastóm, IDH-wildtype, Grade 4. Prognózu však má signifikantne lepšiu, porovnateľnú skôr s IDH-

-mutovanými astrocytómami (Muench, 2023). Základné charakteristiky niektorých nových typov nádorov objavených až po publikácii WHO CNS 2021 sú uvedené v tabulke 2.

Integrovaná diagnóza a diagnózy NOS (Not Otherwise Specified) a NEC (Not Elsewhere Classified)

WHO CNS 2021 doporučuje pri reportovaní výsledkov patologického vyšetrenia používanie integrovaných a vrstvených („layered“) diagnóz. Prvý riadok výsledku by mal obsahovať integrovanú konečnú WHO diagnózu, (napr. Difúzny low-grade glióm s alteráciou MAPK cesty), ktorá by mala byť nasledovaná histopatologickou diagnózou, odkazujúcou na morfológiu tumoru (napr. astrocytóm, alebo oligodendroglióm). Poslednou zložkou vrstvenej diagnózy je súhrn výsledkov molekulovej diagnostiky a popis metodiky (napr. duplikácia *FGFR1*, dokázaná pomocou NGS vyšetrenia) (Louis et al., 2021).

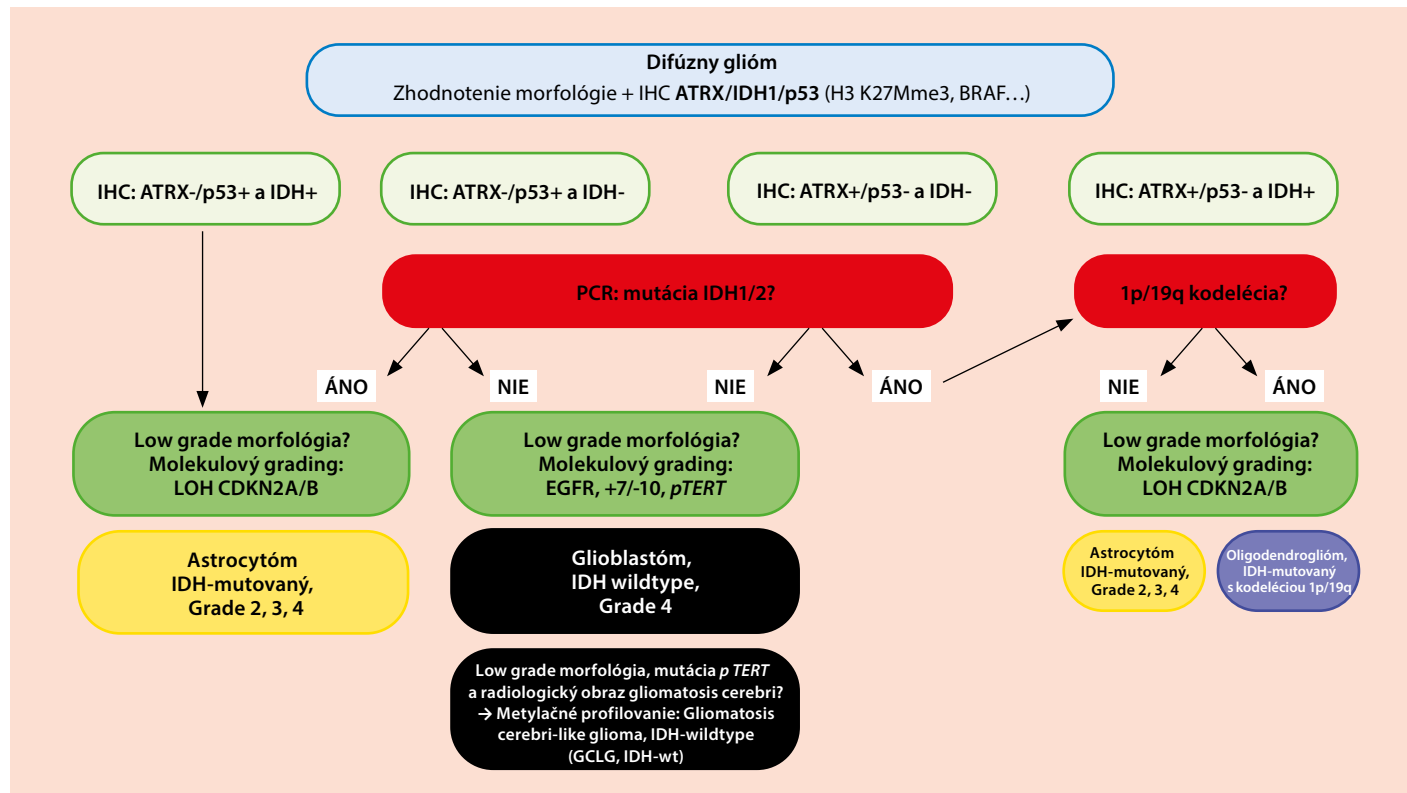
Obr. 1. Gliové nádory pediatrického typu sa môžu vyskytovať aj u dospelých pacientov



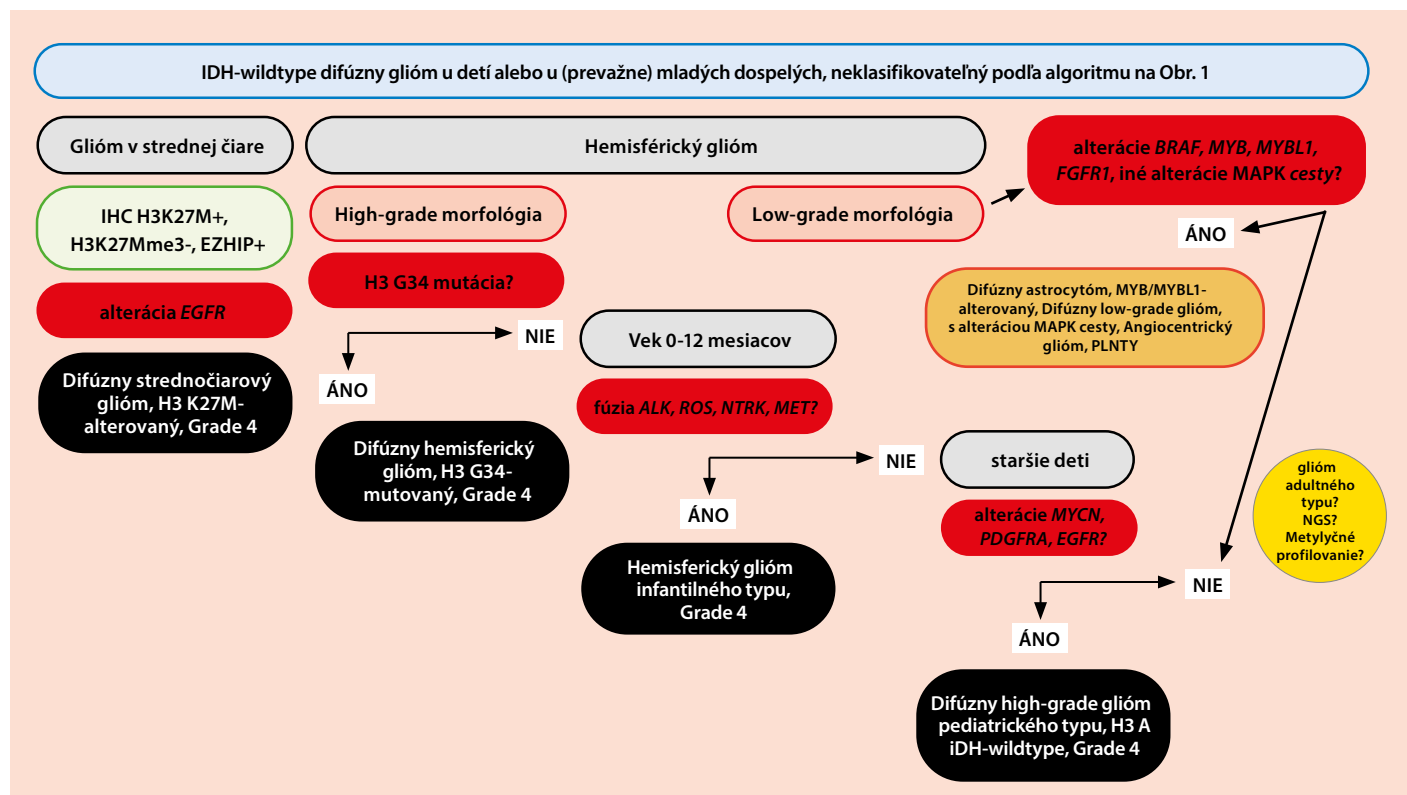
V prípade ilustrovanom na obrázkoch A–C išlo o 34-ročného muža s chronickou epilepsiou trvajúcou najmenej 13 rokov. Na MRI bol identifikovaný a následne resekovaný tumor temporálneho laloka vpravo. Morfológicky sa jednalo o low-grade gliálny tumor s morfológiou astrocytómu a oligodendrogliómu. Geneticky bol IDH1/2-wildtype, bez kodelácie 1p/19q, bez amplifikácie EGFR, bez 7+/10- a bez mutácie pTERT. NGS vyšetrením bola dokázaná fúzia *FGFR2::CTNNA3* a tumor mohol byť klasifikovaný ako glióm pediatrického typu: Difúzny low-grade glióm, s alteráciou MAPK cesty. Alterácia *FGFR2* je zároveň potenciálnym terapeutickým cieľom.

Na obrázkoch D a E je ilustrovaný prípad 76-ročnej pacientky s tumorom mozoka. Morfológicky išlo o glióm tvorený až bizarnými atypickými bunkami, tumor však nemal nekrózy ani mikrovaskulárnu proliferáciu. Geneticky sa nejednalo o IDH-mutovaný glióm, ani glioblastóm IDH-wildtype, a po iníciaľnom vyšetrení bol teda klasifikovateľný iba ako high grade glióm/astrocytóm, NOS. Na základe vyšetrenia metylačného profilu (E) bol tumor klasifikovaný ako difúzny high-grade glióm pediatrického typu, H3 a IDH-wildtype, podtyp RTK1, podtrieda B

Obr. 2. Jeden z možných testovacích algoritmov difúzných gliómov u dospelých pacientov, slúžiaci na klasifikáciu nádorov s IDH-mutáciami a identifikáciu glioblastómu IDH-wildtype. Tento algoritmus vychádza z iníciaľného imunohistochemického vyšetrenia. Niektoré laboratória preferujú mierne modifikované postupy, napr. iníciaľne testovanie kodelécie 1p/19q, následované vyšetrením ATRX/p53, alebo multigénové/panelové testovanie. Uvedeným algoritmom je možná klasifikácia drvivej väčšiny difúzných gliómov u dospelých pacientov. Diagnostiku glioblastómu IDH-wildtype s low-grade morfológiou komplikuje existencia novej jednotky gliomatosis cerebri-like glioma, IDH-wildtype (GCLG, IDH-wt) – bližšie informácie v texte



Obr. 3. Testovací algoritmus difúzných gliómov bez IDH mutácií. Spektrum genetických alterácií, ktoré sú typické pre jednotlivé typy nádorov je pomerne pestré a vyšetovanie jednotlivých alterácií (napr. pomocou FISH a klasického Sangerovského sekvenovania) môže byť zdĺhavé, finančne nákladné a môže viesť k spotrebovaniu bioptického materiálu ešte pred stanovením správnej diagnózy. Efektívnejšou stratégiou je použitie metylačného profilovania a/alebo NGS. Viac informácií o diagnostike nádorov detského veku v ďalšom článku v tomto čísle



Použitie prívlastku NOS alebo NEC za finálnou diagnózou umožňuje jednoznačné oddelenie štandardných, dobre charakterizovaných WHO CNS 2021 diagnóz od diagnóz, ktoré sú výsledkom nedostatočných diagnostických informácií o molekulovom pozadí tumoru (Louis et al., 2021). Označenie NOS je možné použiť v prípadoch, keď genetické vyšetrenie nebolo vykonané, alebo došlo k jeho technickému zlyhaniu. Prípona NEC je použitá v prípadoch, keď bolo potrebné genetické vyšetrenie úspešne vykonané, ale jeho výsledky aj tak neumožňujú jednoznačnú CNS WHO 2021 klasifikáciu. Príkladom môže byť nádor, u ktorého je nezhoda medzi klinickými, morfológickými, imunohistochemickými, alebo genetickými rysmi. Pri použití pokročilých diagnostických techník (NGS, metylačné profilovanie) by počet diagnóz s príponou NOS, alebo NEC mal byť minimálny.

Diagnostika difúzne infiltrujúcich gliálnych tumorov

Difúzne infiltrujúce gliómy tvoria najväčšiu skupinu primárnych intraaxiálnych nádorov CNS. WHO CNS 2021 rozdeľuje tieto nádory na tumory dospelého a detského typu, pretože sa klinicky a geneticky významne líšia (Louis et al., 2021). Ako bolo uvedené vyššie, WHO CNS 2021 výrazne zjednodušila klasifikáciu difúzných gliómov u dospelých. Naopak, v skupine pediatrických difúzných gliómov pribudlo množstvo nových jednotiek. V skupine low-grade difúzných pediatrických gliómov pribudli k angiocentrickému gliómu tri nové typy: difúzny astrocytóm, MYB/MYBL1-alterovaný, polymorfný low-grade neuroepiteliálny tumor mladých pacientov (PLNTY) a difúzny low-grade glióm, s alteráciou MAPK cesty. V skupine high-grade difúzných pediatrických gliómov sú taktiež tri nové jednotky: difúzny hemisferický glióm,

H3 G34-mutovaný, difúzny high-grade glióm pediatrického typu, H3 a IDH-wildtype a hemisferický glióm infantilného typu. Difúzny strednočiarový glióm s alteráciou H3 K27M, známy už z predošlej klasifikácie WHO 2016, podľa novej klasifikácie môže byť definovaný aj aberantnou overexpresiou proteínu EZHIP, alebo alteráciami *EGFR* (Castel et al., 2020, Sievers et al., 2021).

Diagnostiku difúzných gliómov komplikuje skutočnosť, že sa nádory detského typu môžu vyskytnúť u dospelých pacientov (najmä mladších, ale výskyt je možný vo všetkých vekových kategóriách) (Obr. 1) a naopak, veľmi vzácné môže mať detský pacient tumor dospelého typu. Diagnostická schéma pre difúzne gliómy je preto spoločná pre obe vekové skupiny, líšiť sa prípadne môže iba poradie použitých vyšetrení. Patológ diagnostiku difúzneho gliómu u dospelého pacienta v typickom prípade začína vyhodnotením histomorfológie a IHC vyšetrením; minimálny doporučený IHC panel by mal obsahovať protilátky proti IDH1, ATRX a p53; v prípade lokalizácie tumoru v strednej čiare (najmä u mladšieho pacienta) aj protilátky proti H3 K27M a H3K27Mme3. Protilátka proti BRAF je doporučovaná ako skríningové vyšetrenie u IDH a H3-wildtype nádorov (Brat et al., 2022). Diagnostika ďalej podľa potreby pokračuje genetickým dôkazom mutácií génov *IDH1/2*, kodelécie 1p/19q a molekulárnym gradingom IDH-mutovaných ako aj IDH-wildtype astrocytómov s morfológicky nižším stupňom malignity (dôkaz homozygotnej delécie *CDKN2A/B*, amplifikácie *EGFR*, vyšetrenie statusu chromozómov 7 a 10 a mutácie promotóra *TERT*). Súborom týchto vyšetrení je možné klasifikovať absolútnu väčšinu difúzných gliómov u dospelých pacientov (Obr. 2). IDH-wildtype glioblastómy sú nakoniec testované na prítomnosť metylácie pro-

motóra *MGMT* za účelom predikcie účinnosti chemoterapie temozolomidom.

V prípade, že nemožno tumor klasifikovať vyššie popísaným algoritmom, najmä v prípade detských pacientov a u mladších dospelých, je nutné doplniť (resp. najlepšie paralelne zapojiť) vyšetrenia, ktoré umožnia potvrdiť diagnózu niektorého z low-grade, alebo high-grade gliómov pediatrického typu (Obr. 3). Vzhľadom na skutočnosť, že je potrebné vyšetrenie veľkého spektra genetických alterácií, najvýhodnejšie je použitie metylačného profilovania doplneného NGS analýzou, ktoré okrem podpory diagnózy vo veľkom počte prípadov zároveň identifikuje potenciálne terapeutické ciele.

Záver

Klasifikácia WHO CNS 2021 významne zmenila diagnostiku a klasifikáciu nádorov CNS. Vo veľkej miere integruje nové poznatky z oblasti molekulovej genetiky a zavádza do rutínnej praxe nové diagnostické modalítity (NGS, metylačné profilovanie), vďaka ktorým bolo identifikovaných mnoho nových typov nádorov. Patologická diagnostika nádorov CNS sa stáva čoraz komplexnejšou a časovo i finančne náročnejšou disciplínou, ktorá patrí do rúk špecialitov a iba na plne vybavené pracoviská patológie, ktoré disponujú kvalitným genetickým zázemím. Iba tak bude výsledkom práce patológa precízna diagnóza, s prognostickou a potenciálne prediktívnou informáciou, užitočná v neuroonkologickom manažmente pacienta, dosiahnutá v čo najkratšom čase s ekonomicky najracionálnejším využitím diagnostických prostriedkov. Klasifikácia nádorov CNS stále nemá definitívnu podobu, ide o nesmierne dynamický proces a v najbližšom období určite dôjde vďaka novým poznatkom molekulovej genetiky k ďalším významným zmenám.

LITERATÚRA

1. Bender K, Perez E, Chirica M, et al. High-grade astrocytoma with piloid features (HGAP): the Charité experience with a new central nervous system tumor entity. *J Neurooncol*. 2021;153(1):109-120. doi: 10.1007/s11060-021-03749-z.
2. Bogumil H, Sill M, Schrimpf D, Ismer B, et al. Glioneuronal tumor with ATRX alteration, kinase fusion and anaplastic features (GTAKA): a molecularly distinct brain tumor type with recurrent NTRK gene fusions. *Acta Neuropathol*. 2023;145(5):667-680. doi: 10.1007/s00401-023-02558-0.
3. Brat DJ, Aldape K, Bridge JA, et al. Molecular Biomarker Testing for the Diagnosis of Diffuse Gliomas. *Arch Pathol Lab*

- Med. 2022;146(5):547-574. doi: 10.5858/arpa.2021-0295-CP.
4. Brat DJ, Aldape K, Colman H, et al. cIMPACT-NOW update 3: recommended diagnostic criteria for „Diffuse astrocytic glioma, IDH-wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV“. *Acta Neuropathol*. 2018;136(5):805-810. doi: 10.1007/s00401-018-1913-0.
5. Brat DJ, Aldape K, Colman H, et al. cIMPACT-NOW update 5: recommended grading criteria and terminologies for IDH-mutant astrocytomas. *Acta Neuropathol*. 2020;139(3):603-608. doi: 10.1007/s00401-020-02127-9.
6. Capper D, Jones DTW, Sill M, et al. DNA methylation-based

- classification of central nervous system tumours. *Nature*. 2018;555(7697):469-474. doi: 10.1038/nature26000.
7. Capper D, Reifenberger G, French PJ, et al. EANO guideline on rational molecular testing of gliomas, glioneuronal, and neuronal tumors in adults for targeted therapy selection. *Neuro Oncol*. 2023;25(5):813-826. doi: 10.1093/neuonc/noad008.
8. Castel D, Kergrohen T, Tauziède-Espariat A, et al. Histone H3 wild-type DIPG/DMG overexpressing EZHIP extend the spectrum diffuse midline gliomas with PRC2 inhibition beyond H3-K27M mutation. *Acta Neuropathol*. 2020;139(6):1109-1113. doi: 10.1007/s00401-020-02142-w.

9. Ellison DW, Aldape KD, Capper D, et al. cIMPACT-NOW update 7: advancing the molecular classification of ependymal tumours. *Brain Pathol.* 2020;30(5):863–866. doi: 10.1111/bpa.12866.
10. Ellison DW, Hawkins C, Jones DTW, et al. cIMPACT-NOW update 4: diffuse gliomas characterized by MYB, MYBL1, or FGFR1 alterations or BRAFV600E mutation. *Acta Neuropathol.* 2019;137(4):683–687. doi: 10.1007/s00401-019-01987-0.
11. Jaunmuktane Z, Capper D, Jones DTW, et al. Methylation array profiling of adult brain tumours: diagnostic outcomes in a large, single centre. *Acta Neuropathol Commun.* 2019;7(1):24. doi: 10.1186/s40478-019-0668-8.
12. Karimi S, Zuccato JA, Mamatjan Y, et al. The central nervous system tumor methylation classifier changes neuro-oncology practice for challenging brain tumor diagnoses and directly impacts patient care. *Clin Epigenetics.* 2019;11(1):185. doi: 10.1186/s13148-019-0766-2.
13. Keck MK, Sill M, Wittmann A, et al. Amplification of the PLAG-family genes-PLAGL1 and PLAGL2-is a key feature of the novel tumor type CNS embryonal tumor with PLAGL amplification. *Acta Neuropathol.* 2023;145(1):49–69. doi: 10.1007/s00401-022-02516-2.
14. Louis DN, Giannini C, Capper D, et al. cIMPACT-NOW update 2: diagnostic clarifications for diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant and diffuse astrocytoma/anaplastic astrocytoma, IDH-mutant. *Acta Neuropathol.* 2018;135(4):639–642. doi: 10.1007/s00401-018-1826-y.
15. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK. World Health Organization Classification of Tumours of the Central Nervous System. 4th ed., updated ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer. 2016. 408 s. ISBN 978-92-832-4492-9.
16. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol.* 2021;23(8):1231–1251. doi: 10.1093/neuonc/noab106.
17. Louis DN, Wesseling P, Aldape K, et al. cIMPACT-NOW update 6: new entity and diagnostic principle recommendations of the cIMPACTUtrecht meeting on future CNS tumor classification and grading. *Brain Pathol.* 2020;30(4):844–856. doi: 10.1111/bpa.12832.
18. Louis DN, Wesseling P, Paulus W, et al. cIMPACT-NOW update 1: Not Otherwise Specified (NOS) and Not Elsewhere Classified (NEC). *Acta Neuropathol.* 2018;135(3):481–484. doi: 10.1007/s00401-018-1808-0.
19. Muench A, Teichmann D, Spille D, et al. A Novel Type of IDH-wildtype Glioma Characterized by Gliomatosis Cerebri-like Growth Pattern, TERT Promoter Mutation, and Distinct Epigenetic Profile. *Am J Surg Pathol.* 2023;47(12):1364–1375. doi: 10.1097/PAS.0000000000002118.
20. Pratt D, Abdullaev Z, Papanicolaou-Sengos A, Ketchum C, et al. High-grade glioma with pleomorphic and pseudopapillary features (HPAP): a proposed type of circumscribed glioma in adults harboring frequent TP53 mutations and recurrent monosomy 13. *Acta Neuropathol.* 2022;143(3):403–414. doi: 10.1007/s00401-022-02404-9.
21. Priesterbach-Ackley LP, Boldt HB, Petersen JK, et al. Brain tumour diagnostics using a DNA methylation-based classifier as a diagnostic support tool. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2020;46(5):478–492. doi: 10.1111/nan.12610.
22. Schepke E, Löfgren M, Pietsch T, et al. DNA methylation profiling improves routine diagnosis of paediatric central nervous system tumours: A prospective population-based study. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2022;48(6):e12838. doi: 10.1111/nan.12838.
23. Sievers P, Sill M, Schrimpf D, et al. A subset of pediatric-type thalamic gliomas share a distinct DNA methylation profile, H3K27me3 loss and frequent alteration of EGFR. *Neuro Oncol.* 2021;23(1):34–43. doi: 10.1093/neuonc/noaa251.
24. Tauziède-Espariat A, Siegfried A, Nicaise Y, et al. PLAG1 fusions extend the spectrum of PLAG(L)-altered CNS tumours. *Acta Neuropathol.* 2023;146(6):841–844. doi: 10.1007/s00401-023-02643-4.
25. Tauziède-Espariat A, Volodia-Dangouloff-Ros, Figarella-Branger D, et al. Clinicopathological and molecular characterization of three cases classified by DNA-methylation profiling as „Glioneuronal Tumors, NOS, Subtype A“. *Acta Neuropathol.* 2022;144(6):1179–1183.
26. WHO Classification of Tumours Editorial Board. World Health Organization Classification of Tumours of the Central Nervous System. 5th ed. Lyon: 1. International Agency for Research on Cancer. 2021. 568 s. ISBN 9789283245087.