

Glioblastom s primitivní neuronální komponentou u dlouhodobě přežívající pacientky

Tomáš Jirásek¹, Monika Šedivcová², Tomáš Vaněček^{2,3}, Petr Grossmann², Petr Šteiner², Lucia Fröhlichová⁴, Marián Švajdler ml.^{2,3}, Jana Engelová⁵, Renata Emmerová⁶, Radim Brabec⁷, Vladimír Beneš III⁷

¹Oddělení patologie, Centrum PATOS, KN Liberec, a. s., Liberec

²Bioptická laboratoř, s. r. o., Plzeň

³Šiklův ústav patologie, Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Plzni a Fakultní nemocnice Plzeň

⁴Oddělení patologie, Fakultní nemocnice L. Pasteura, Košice

⁵Oddělení radiodiagnostiky, Nemocnice Jablonec nad Nisou, p. o., Jablonec nad Nisou

⁶Komplexní onkologické centrum, KN Liberec, a. s., Liberec

⁷Oddělení neurochirurgie, Neurocentrum, KN Liberec, a. s., Liberec

Předkládáme případ naší dlouhodobě sledované pacientky s radikálně resektovaným, *IDH* mutovaným glioblastomem s primitivní neuronální komponentou, která s pouze mírnými neurologickými komplikacemi žije již 9 let od stanovení diagnózy, se zachovalou velmi dobrou kvalitou života. Radikalita chirurgické resekce spolu s mutacemi *IDH* genů představují prognosticky příznivé faktory u high grade gliových nádorů centrální nervové soustavy.

Klíčová slova: glioblastom s primitivní neuronální komponentou, *IDH* mutace, radikální resekce.

Glioblastoma with a primitive neuronal component in a long-term surviving patient

We present a case of long-term followed-up patient with radically resected *IDH* mutant glioblastoma with a primitive neuronal component who has survived for 9 years with only moderate neurological complications and with a very good quality of life. Radicality of surgical resection together with mutations of the *IDH* genes are prognostically favourable factors in high grade glial neoplasms of the central nervous system.

Key words: glioblastoma with primitive neuronal component, *IDH* mutation, radical resection.

Úvod

Glioblastom (GBM, grade IV astrocytom) představuje nejčastější primární maligní nádor mozku dospělé populace (1). Již z původního označení tohoto nádoru (*glioblastoma multiforme*) vyplývá, že se jedná o morfologicky značně variabilní onemocnění. Supratentoriální primitivní neuroektodermální tumor („CNS PNET“) byl nezralý, fenotypicky primitivní maligní nádor, který byl typicky popisován u pediatrických pacientů, u dospělých byl vzácný; v nové WHO

klasifikaci tato jednotka zanikla a byla nahrazena embryonálním nádorem s mnohovrstevnatými rozetami, C19MC alterovaným, případně některou z dalších jednotek spadajících do kategorie ostatní embryonální nádory CNS (1, 2).

Zcela vzácně se lze setkat s i výskytem nádorů, které vykazují současně známky jak gliální, tak PNET-like diferenciaci. Tyto glioblastomy s komponentou připomínající primitivní neuronální/neuroektodermální tumor (GBM-PNET-like) představují vzácnou, relativně

nově popsanou variantu GBM. Dle literatury se jedná přibližně o 0,5–1 % všech GBM (3, 4). Jeden z nejlépe popsaných souborů 53 pacientů prezentuje výše citovaná práce Perryho a spoluautorů (3). Tyto nádory se vyskytují v širokém věkovém rozmezí, není u nich patrná výraznější vazba na určitou oblast CNS, nemají kupodivu ani zcela charakteristickou morfolologii při vyšetřování pomocí magnetické rezonance. Naproti tomu bývá jejich obraz charakteristický při histopatologickém vyšetření, kdy nacházíme

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

doc. MUDr. Tomáš Jirásek, Ph.D., tomas.jirasek@nemlib.cz

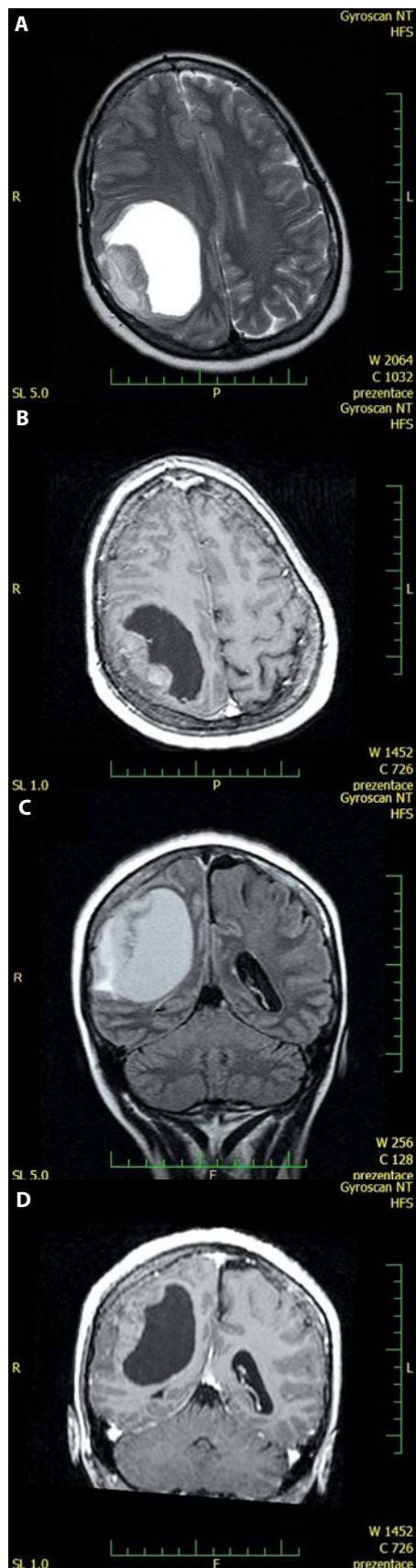
Oddělení patologie, Centrum PATOS, KN Liberec, a. s., Husova 357/10, 460 63 Liberec

Cit. zkr: Onkologie 2019; 13(2): 87–91

Článek přijat redakcí: 12. 2. 2019

Článek přijat k publikaci: 22. 2. 2019

Obr. 1. Vstupní MR (2009) A, B – solidně-cystická expanze s minimálním perilezionálním edémem parietálně za centrální krajinou; po aplikaci kontrastní látky dochází k nevýraznému syčení solidní porce v laterální části expanze. C, D – FLAIR sekvence a postkontrastní sken – minimální edém v okolí tumorózní expanze



jednak přítomnost infiltrujícího gliomu, obvykle s astrocytární diferenciací (vzácně je možné nalézt i okrsky diferenciace oligodendroglíální – 3, 5), který je kombinovaný s ostře ohraničeným zvýšením buněčným uzlem/uzly primitivních nádorových buněk, morfologicky kompatibilních s PNET, někdy se zachytem Homer Wrightových roset (1, 6). V PNET-like oblastech těchto nádorů bývá přibližně ve 40 % případů zachycena amplifikace genu *MYC* (*N-myc*, *C-myc*) (3).

Mutace genů isocitrát dehydrogenázy 1 (*IDH1*) a 2 (*IDH2*) jsou popisovány v low grade gliomech a sekundárních glioblastomech (7–9); zde bývají spojovány s lepší prognózou onemocnění. Naproti tomu u primárních glioblastomů jsou mutace *IDH1* a *IDH2* vzácné (4, 7–9). V případech GBM-PNET-like je přítomnost *IDH* mutací popisována pouze sporadicky (4, 10).

GBM obecně představují nádory se špatnou prognózou, kdy většina pacientů umírá do 15–18 měsíců od stanovení diagnózy, zpravidla v souvislosti s jejich progresí (1). Pouze méně než 5 % pacientů s diagnózou GBM přežívá déle než 5 let (11). Možnost analyzovat případ dlouhodobě přežívajícího pacienta s vzácnou variantou GBM, včetně zpětného doplnění molekulárního profilu nádoru, představuje tedy unikátní příležitost a výzvu.

Kazuistika

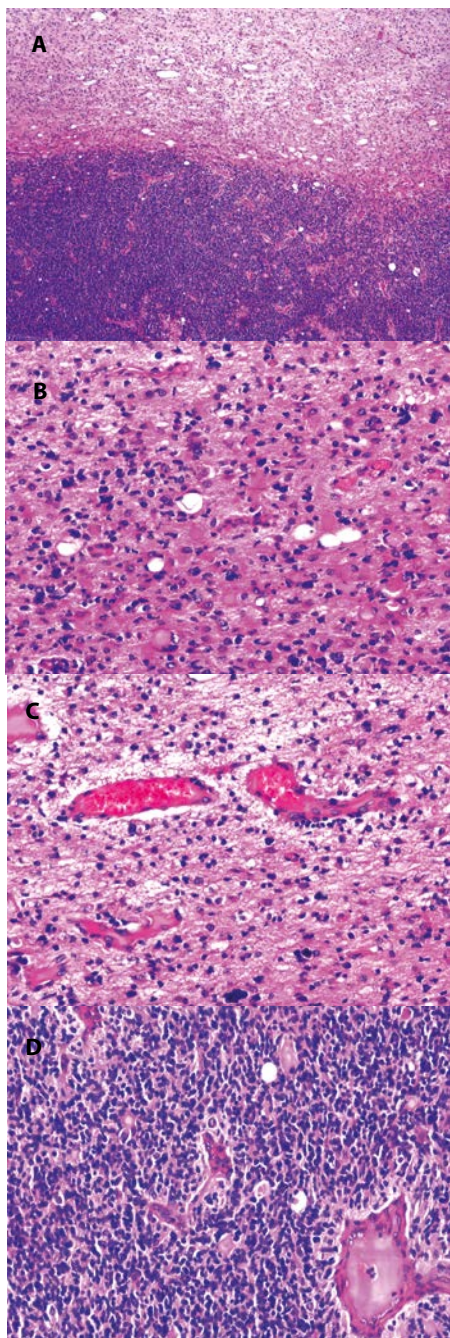
Žena, ročník narození 1965, se v březnu 2009 dostavila cestou praktického lékaře a psychiatra k neurologickému vyšetření. Subjektivně si stěžovala na přibližně dva týdny trvající zvýšenou únavu, nešikovnost rukou, problémy při oblékání (např. nosila oblečení naruby) a obtíže při běžných pracovních úkonech (jako účetní nedokázala sečíst pomocí kalkulačky 10 čísel); dále si uvědomovala zhoršení chůze s napadáním na levou nohu. Několik posledních dní trpěla nauzeou, nikoli však zvracením, či bolestmi hlavy. Objektivně byl u plně orientované a spolupracující pacientky při neurologickém vyšetření zjištěn patologický Mingazziniho příznak na levé horní (pokles o cca 15 cm) a levé dolní končetině (pokles o cca 10 cm), dále paraparetický vzorec chůze s napadáním na levou dolní končetinu a výraznější instabilitou při stoji. Při navazujícím vyšetření mozku magnetickou rezonancí (MR) byla zjištěna objemná cystická tumorózní expanze velikosti přibližně 7 × 5 × 6 cm vysoko parietálně vpravo, za centrální krajinou, se

solidní složkou rozměru asi 4 × 4 × 1,5 cm při laterální stěně, dále lehký perifokální edém laterálně od léze. Expanze tlačila zprava na thalamus a mesencephalon, výrazně utlačovala zadní část pravé postranní komory. Dále byl zjištěn přesun středočárových mozkových struktur doleva asi o 8 mm. Etiologicky směřovala diferenciálně diagnostická rozvaha směrem ke glioblastomu, či metastáze nádoru z jiné primární lokalizace do mozku (obrázek 1).

V krátké době po těchto vyšetřeních následoval neurochirurgický výkon, při kterém došlo k evakuaci cystické části léze a radikální exstirpaci solidní části tumoru ve stěně cysty. Stěna cysty byla po okrajích resekována, porce stěny cysty mediálně naléhající na thalamus a bazální ganglia byla ponechána, jinak byla i stěna cystické části tumoru makroskopicky radikálně odstraněna. Vlastní operační výkon proběhl bez komplikací, bezprostředně po operaci však došlo ke krátkodobé progresi neurologického nálezu do obrazu levostranné hemiplegie, která během následujících dnů regredovala prakticky ad integrum; u pacientky z dlouhodobého hlediska přetrvává pouze frustní hemiparéza. Klinicky byla pacientka před zahájením onkologické léčby stabilní, stěžovala si na občasné bolesti hlavy v ranních hodinách, které odezněly bez medikace; objektivně neurologicky byla bez lateralizace, s nejistým stojem dle Rombergova testu stupně II a III, s tahem doleva.

Při histologickém vyšetření provedeném v roce 2009 a revidovaném a doplněném v roce 2017 byl nalezen bifázický nádor (obrázek 2). Tento nádor byl tvořený jednak strukturou glioblastomu, která vykazovala hojně hrubé cytologické nepravidlosti, s přítomností atypických, místy objemných gliálních buněk a která vznikla nejspíše na podkladě gliomu nižšího stupně malignity (gemistocytárního astrocytomu), ložiskově s náznaky mikrovaskulární proliferace. Druhou složku nádoru představoval nádor z malých modrých buněk, který byl poměrně ostře oddělený od předchozího gliálního nádoru, se zřetelnými ložisky nekróz, bez zachytu Homer Wrightových roset. Imunohistochemicky (obrázek 3) byla gliová komponenta nádoru pozitivní v průkazu gliálního fibrilárního acidického proteinu (GFAP), dále poměrně silně pozitivní v průkazu *IDH1* (R132H), negativní v průkazu synaptofyzinu a cytokeratinů (CAM 5,2). Malobuněčná komponenta byla negativní v průkazu GFAP

Obr. 2. 2A – celkový pohled na nádor, GBM (horní polovina snímku) a PNET-like komponenta (dolní polovina snímku); 2B – detail GBM komponenty s atypickými gliovými buňkami; 2C – cévy v GBM komponentě s náznaky mikrovaskulární proliferace; 2D – detail PNET-like komponenty nádoru. HE, původní zvětšení $\times 4$ (A) a $\times 20$ (B-D)



a vykazovala pozitivitu v průkazu *IDH1*, dále vykazuje poměrně silnou expresi synaptofyzinu. Negativní v této komponentě byl průkaz cytokeratinů (CAM 5.2). Proliferační aktivita (Ki-67, MIB-1) byla v gliové komponentě poměrně nízká, okolo 5 % buněčnosti, v malobuněčné komponentě pak vysoká, okolo 50 % buněčnosti. V původním histologickém nálezu v roce 2009 byl nádor, vzhledem k negativnímu výsledku detekce CD99 v malobuněčné komponentě, hodnocen

jako různě diferencovaný glioblastom, nikoli jako PNET. Při revizi nálezu z důvodu neobvykle příznivého průběhu onemocnění v roce 2017 jsme nádor hodnotili jako GBM-PNET-like a doplnili jsme, kromě některých výše popsaných imunohistochemických vyšetření, i molekulární profil nádoru z dostupného archivního parafínového materiálu. Analýza hotspotových mutací genů *IDH1* a *IDH2* a části promotorové oblasti genu *TERT* byla provedena metodou polymerázové řetězové reakce a přímého sekvenování. Analýza chromozomálních oblastí 1p, 19q, *EGFR*, *PTEN*, *MYC*, *MYCN* a detekce aneuploidie chromozomu 7 v nádorových buňkách byla provedena pomocí metody fluorescenční in-situ hybridizace (FISH); laboratorní postupy a hodnocení reakcí vycházelo z již dříve publikovaných pozorování (3, 12–16). Pomocí těchto analýz jsme našli v nádoru mutaci c.395G>A, p.Arg 132His (R132H) genu *IDH1* a delecii 19q13. Studované oblasti *EGFR*, *PTEN*, 1p36, *TERT*, *MYC*, *N-MYC* a chromozomu 7 byly beze změn.

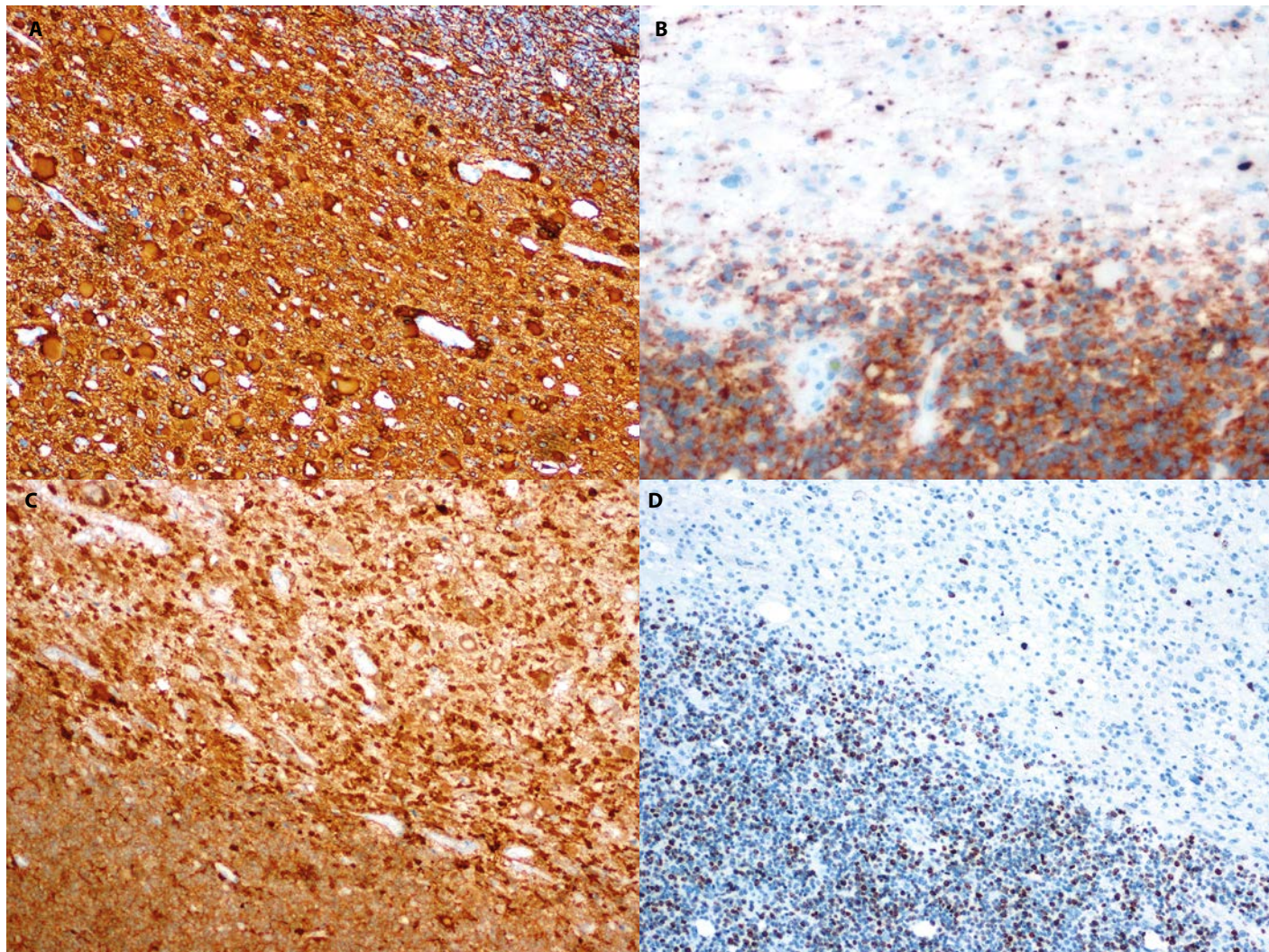
V květnu 2009 byla pacientka zevně frakcionovaně ozářena fotony lineárního urychlovače. V první fázi byla ozářena oblast lůžka tumoru s větším lemem dávkou 2/40 Gy, následně lůžko tumoru s menším lemem dávkou 2/20 Gy. Konkromitantně byl pacientce podáván ve dnech aplikace radioterapie i o víkendech Temodal v dávce 120 mg/den. Konkromitantní chemo-radioterapie proběhla bez komplikací, kontrolní laboratorní vyšetření krve nevykazovalo patologické odchylky. Během radioterapie pacientka užívala Fortecortin v dávce 4 mg/den pro počínající příznaky edému mozku. Po skončení radioterapie byl Fortecortin během 3 týdnů postupně redukován až vysazen. Po 28 denní pauze od skončení chemo-radioterapie byl nemocné v červenci 2009 nasazen temozolomid, který užívala v dávce 350 mg/den vždy 1.–5. den 28denního cyklu. Pacientce bylo podáno 12 cyklů do května 2010. Monoterapie 12 cyklů temozolomidu v adjuvantní fázi proběhla bez komplikací. MR mozku v průběhu adjuvantní onkologické léčby byla vyšetřena v srpnu 2009 a v únoru 2010. Dle MR kontrol je pacientka bez známek recidivy nádoru. Dále je nemocná dispenzarizována v rámci neuroonkologické poradny, s pravidelnými klinickými vyšetřeními, včetně MR mozku. V červenci 2013 je pro nově recidivující, progredující ataky brnění levé poloviny obličeje a přechodnou parézu LHK

vyšetřena neurologem (včetně EEG záznamu) a zahájena antiepileptická léčba Tegretolem 400 mg tbl., kterou užívá dosud. Pacientka si průběžně stěžuje na občasné malé záchvaty ve formě parézie levé poloviny těla, které bez progresu odezní, výjimečně se objevují bolesti hlavy, dále lehké problémy s rovnováhou při chůzi hlavně z kopce. Objektivně přetrvává frustní levostranná hemiparéza, chůze je nejistá – pacientka používá při chůzi trekové hole. Poslední kontrola proběhla v listopadu 2018, pacientka je ve velmi dobrém výkonnostním stavu, Karnofského skóre 90 %, pracuje, sportuje, učí se angličtinu. Dle MR mozku přetrvává postoperační pseudocysta, bez známek recidivy nádoru, bez hyperperfuzních změn (obrázek 4).

Diskuze

Záchyt malobuněčné komponenty v gliovém nádoru nebývá častým nálezem. Přesné zařazení takového nádoru může být obtížné, zvláště v situacích, kdy máme k dispozici pouze limitované množství nádorové tkáně, např. při stereotaktických biopsiích odběrech. V rámci diferenciální diagnostiky takových lézí je třeba kromě „CNS PNET“ vylučovat i vzácněji se vyskytující varianty GBM, jako je malobuněčný glioblastom, který tvoří méně než 5 % všech GBM, či GBM-PNET-like, představující dokonce méně než 0,5–1 % všech GBM (3, 4). Diferenciální diagnostika těchto lézí bývá o to komplikovanější, že malobuněčné GBM mohou vykazovat spornou, či slabou reaktivitu GFAP a naopak různou intenzitu reakcí v průkazu neuronálních znaků, např. synaptofyzinu (10). Ve sporných případech může pomoci imunohistochemický průkaz vimentinu a CD56 v nádorové tkáni, spolu s využitím detekce transkripčního faktoru OLIG2 k průkazu případné gliální diferenciace nádorové tkáně (4, 10). Naproti tomu náš případ ukazuje, že i pomocí „pouhé“ morfologie nádoru v běžném barvení hematoxylinem-eozinem a za pomoci základního imunohistochemického barvení je možné dojít v zásadě ke správnému diagnostickému závěru: námi prezentovaný nádor byl jako glioblastom s ložiskem nádoru PNET podobnému, ale nikoli PNET odpovídajícímu zařazen již v roce 2009, tedy v době, kdy Perry et al. jednotku GBM-PNET-like teprve konstituovali a představovali odborné veřejnosti (3); byt neobvyklé glioneurální nádory byly popisovány i dříve (17, 18).

Obr. 3. 3A – imunohistochemická detekce GFAP v GBM komponentě nádoru; 3B – pozitivita synaptofyzinu v PNET-like komponentě (dolní polovina snímku) a jeho téměř negativní průkaz v GBM komponentě (horní polovina snímku); 3C – pozitivita IDH1(R132H) v GBM (nahore vpravo) i PNET-like (dole vlevo) komponentě; 3D – vysoká proliferační aktivita (Ki-67, MIB-1) v PNET-like komponentě (dole vlevo) ve srovnání s výrazně nižší proliferační aktivitou v GBM komponentě (nahore vpravo). Původní zvětšení $\times 10$ (A, C, D) a $\times 20$ (B)



Z hlediska epidemiologických údajů, morfolického obrazu a molekulárního profilu nevybočuje náš případ z rámce změn, popisovaných v literatuře u těchto nádorů. Za zmínku jistě stojí relativně příznivá lokalizace nádoru z hlediska jeho operability, která umožnila jeho téměř makroskopicky radikální chirurgickou resekci. Věk pacienta v době diagnózy nižší než 50 let a možnost makroskopicky radikální resekce jsou u GBM uznávány jako příznivé prognostické znaky (1), byť v literatuře jsou popisovány i GBM-PNET-like radikálně resekované, s nepříznivým klinickým průběhem (19, 20). Mutace v genu *IDH1* bývají popisovány v GBM-PNET-like pouze sporadicky: dva z osmi popisovaných případů (10) měly mutaci R132H prokázanou metodou pyrosequencingu a oba případy při zpětné analýze vykazovaly korespondující imunohistochemickou pozitivitu v obou komponentách nádoru. Celkem 5 z 34 nádorů v práci Joseph a kolektivu (4) vykazovalo

také imunohistochemickou pozitivitu tohoto znaku v obou komponentách nádoru, ovšem bez provedené molekulárně genetické analýzy genu *IDH1*. V jednom dalším případě je opět popisována pouze imunohistochemická, nikoli molekulárně genetická detekce změn *IDH1*, navíc

není zřejmé, zda exprese byla zachycena v obou komponentách léze, či nikoli (5). Dle dostupných informací se zdá, že námi vyšetřovaná, léčená a sledovaná pacientka představuje teprve devátý popsany a třetí molekulárně potvrzený *IDH*-mutovaný případ GBM-PNET-like publikovaný

Obr. 4. A, B – MR – stav po resekci tumoru, bez recidivy (podzim 2017)



v literatuře. Z těchto kazuistik jsou detailnější informace o přežívání dostupné u dvou nemocných z práce Song a kol. (10) – oba pacienti byli naživu 15, resp. 31 měsíců od doby diagnózy, a v kazuistice Chen a kol. (5) – pacient zemřel 9 let od diagnózy v souvislosti s progresí tohoto nádoru. Z uvedeného kontextu tedy vyplývá, že naše pacientka je pravděpodobně nejdéle přežívající případ *IDH*-mutovaného GBM-PNET-like popsáný v literatuře. Je také zajímavé, že onemocnění u naší pacientky nevykazuje známky progresse/diseminace nádoru likvorovými ces-

tami, které jsou popisovány jinými autory (1, 3, 19, 20), přestože jsme terapeutické ozáření neuroaxiální osy neprováděli.

Závěr

GBM-PNET-like představují vzácné, málo prozkoumané nádory, charakterizované zpravidla nepříznivým klinickým chováním, spojeným s jejich rychlou progresí, časným recidivováním, špatnou odpovědí na léčbu a velmi často končícími infaustně. Námi předložený, *IDH*-mutovaný, dlouhodobě přežívající případ je spíše šťastnou

výjimkou z tohoto pravidla. Zkušenosti s dlouhodobě přežívajícími high grade gliomy a jejich zpětná analýza jsou proto významným zdrojem informací o těchto nádorech. Identifikace prognostických znaků spojených s dlouhodobým přežíváním umožňuje prospektivně modifikovat a individualizovat léčebný přístup k takovým pacientům. Histologická typizace, molekulární profil nádoru a radikalita chirurgického výkonu takové znaky nepochybně představují.

Věnováno památce

prim. MUDr. Josefa Mikuláštky.

LITERATURA

1. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. WHO classification of tumours of the central nervous system (revised 4th edition). IARC: Lyon 2016.
2. Zámečník J, Rychlý B, Švajdler M. Novinky ve WHO klasifikaci nádorů centrálního nervového systému 2016 – 2. část: Embryonální nádory CNS a ostatní skupiny nádorů (kromě difúzních gliomů). *Cesk Patol* 2017; 53(1): 22–28.
3. Perry A, Miller CR, Gujrati M, et al. Malignant gliomas with primitive neuroectodermal tumor-like components: a clinicopathologic and genetic study of 53 cases. *Brain Pathol.* 2009; 19(1): 81–90.
4. Joseph NM, Phillips J, Dahiya S, et al. Diagnostic implications of *IDH1*-R132H and *OLIG2* expression patterns in rare and challenging glioblastoma variants. *Mod Pathol.* 2013; 26(3): 315–326.
5. Chen YT, Hsu SS, Yip CM, et al. Glioblastoma with Both Oligodendroglioma and Primitive Neuroectodermal Tumor-Like Components in a Case with 9-Year Survival. *Case Rep Surg.* 2018; 2018: 1382680.
6. Ali S, Joseph NM, Perry A, et al. Apparent diffusion coefficient in glioblastoma with PNET-like components, a GBM variant. *J Neurooncol.* 2014; 119(2): 353–360.
7. Yan H, Parsons DW, Jin G, et al. *IDH1* and *IDH2* mutations in gliomas. *N Engl J Med.* 2009; 360(8): 765–773.
8. Yen KE, Bittner MA, Su SM, et al. Cancer-associated *IDH* mutations: biomarker and therapeutic opportunities. *Oncogene.* 2010; 29(49): 6409–6417.
9. Balss J, Meyer J, Mueller W, et al. Analysis of the *IDH1* codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol.* 2008; 116(6): 597–602.
10. Song X, Andrew Allen R, et al. Glioblastoma with PNET-like components has a higher frequency of isocitrate dehydrogenase 1 (*IDH1*) mutation and likely a better prognosis than primary glioblastoma. *Int J Clin Exp Pathol.* 2011; 4(7): 651–660.
11. Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, et al. CBRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005–2009. *Neuro Oncol.* 2012; 14(Suppl. 5): v1–49.
12. van Dongen JJ, Langerak AW, Brüggemann M, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia.* 2003; 17(12): 2257–2317.
13. Rozen S, Skaletsky H. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods Mol Biol.* 2000; 132: 365–386.
14. Ward DG, Baxter L, Gordon NS, et al. Multiplex PCR and Next Generation Sequencing for the Non-Invasive Detection of Bladder Cancer. *PLoS One.* 2016; 11(2): e0149756.
15. Mohapatra G, Betensky RA, Miller ER, et al. Glioma test array for use with formalin-fixed, paraffin-embedded tissue: array comparative genomic hybridization correlates with loss of heterozygosity and fluorescence in situ hybridization. *J Mol Diagn.* 2006; 8(2): 268–276.
16. Pollack IF, Hamilton RL, James CD, et al. Rarity of *PTEN* deletions and *EGFR* amplification in malignant gliomas of childhood: results from the Children's Cancer Group 945 cohort. *J Neurosurg.* 2006; 105(5 Suppl): 418–424.
17. Wharton SB, Lammie GA, Collie DA, et al. The significance of intratumoural neurones and neuronal differentiation in diffuse gliomas: a case series. *Acta Neuropathol.* 2000; 100(6): 695–700.
18. Shibahara J, Fukayama M. Secondary glioblastoma with advanced neuronal immunophenotype. *Virchows Arch.* 2005; 447(3): 665–668.
19. Konar SK, Bir SC, Maiti TK, et al. Early dural metastasis from a case of glioblastoma with primitive neuroectodermal differentiation: A case report and literature review. *J Clin Neurosci.* 2017; 35: 78–81.
20. Alvarado AM, Salacz ME, Chamoun RB. Malignant glioma-primitive neuroectodermal tumor recurring as PNET-like only subdural collection: Case report. *Surg Neurol Int.* 2017; 8: 243.