

Diagnostika nádorů CNS dětí – nový pohled

MUDr. Miroslav Koblížek, prof. MUDr. Josef Zámečník, Ph.D.

Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol, Praha

Neuropatologická diagnostika nádorů centrální nervové soustavy se v posledních letech výrazně posunula díky molekulárně biologickým poznatkům i novým metodám, jako je metylační profilování. V současné WHO klasifikaci se na jejich podkladě změnil jednak obecný přístup ke gradingu a reportování nádorů. Také byly vytvořeny nové skupiny nádorů a nové jednotky, zdůrazňující rozdíly mezi morfologicky obdobnými nádory s rozdílným molekulárně patologickým pozadím. Tento edukativní článek předkládá aktuální pohled na členění nejčastějších dětských nádorů CNS a jeho vliv na současné diagnostické postupy.

Klíčová slova: WHO klasifikace, metylační profilování, pediatrické gliomy, ependymom, meduloblastom.

CNS tumours in children – a new perspective

Neuropathological diagnostics of central nervous system tumours has advanced significantly in recent years thanks to molecular biological insights and new methods such as methylation profiling. In the current WHO classification, the general approach to grading and reporting of tumours has changed as a result. New tumour groups and new units have also been created, highlighting the differences between morphologically similar tumours with different molecular pathological backgrounds. This educative article gives actual view on groups of the most frequent pediatric CNS tumours and its impact on diagnostic approaches.

Key words: WHO classification, methylation profiling, pediatric gliomas, ependymoma, medulloblastoma.

Úvod

Nádory centrální nervové soustavy (CNS) jsou u dětí druhou nejčastější skupinou nádorových onemocnění, hned po hematologických malignitách (Krejčí et al., 2020). Jedná se o velmi heterogenní skupinu zahrnující desítky typů nádorů, od těch s excelentní prognózou až po jednotky, které jsou prakticky vždy letální. V posledních letech se rapidně rozrostly poznatky o jednotlivých nádorech, především o jejich genetickém a epigenetickém pozadí, a také se objevily nové možnosti cílené biologické léčby. Díky tomu došlo k výraznému posunu v diagnostických postupech i v celkovém pohledu na tuto skupinu nádorů. Jednotlivé změny a z nich vyplývající doporučení průběžně publikuje pracovní skupina

cIMPACT-NOW (Funakoshi et al., 2021), na jejich základě pak byly ty nejdůležitější zaneseny koncem roku 2021 do 5. vydání WHO klasifikace nádorů CNS a mají dopady i pro celkový přístup k diagnostice. V následujících odstavcích budou vysvětleny jak obecné principy diagnostiky a reportování nádorů CNS, tak změny týkající se nejčastějších pediatrických nádorů CNS.

Obecné změny v reportování nádorů CNS

Nové vydání WHO klasifikace přineslo několik změn v reportování nádorů všech věkových kategorií. Některé úpravy jsou spíše formální ve snaze přiblížit grading mozkových nádorů zvyklostem z ostatních orgánových

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):263-266

<https://doi.org/10.36290/neu.2024.053>

Článek přijat redakcí: 3. 1. 2024

Článek přijat k publikaci: 23. 5. 2024

MUDr. Miroslav Koblížek

miroslav.koblizek@lfmotol.cuni.cz

systémů. Nově se i pro grading nádorů CNS používají arabské číslice 1–4 namísto původně používaných římských, které v sobě nesly riziko snazší záměny. Zaveden byl také grading v rámci jedné morfologické jednotky, čímž byly zrušeny a sloučeny dřívější jednotky označující nádory s různým stupněm malignity. Zatímco se v dřívější klasifikaci například rozlišoval „ependyom, grade II“ a „anaplastický ependyom, grade III“, nově jsou oba tyto nádory uváděny jako ependyom a stupeň diferenciace je určen pouze označením grade 2, nebo grade 3. I přes tyto snahy má stále grading mozkových nádorů svoje specifika, a proto se doporučuje jej v reportech uvádět jako „CNS WHO grade“.

Další změnou, která může mít i klinický význam, je kombinovaný histologický a molekulární grading. Dříve bylo stanovení gradu nádoru založeno pouze na histopatologii (Louis et al., 2014). Díky hlubšímu poznání molekulárně biologických vlastností nádorů a jejich asociace s klinickým chováním a prognózou však byly u některých jednotek vyčleněny konkrétní genetické změny, jejichž přítomnost může sama o sobě určit grade nádoru nezávisle na morfologii (Louis et al., 2021). Příkladem je homozygotní delece *CDKN2A/B*, která je u IDH-mutovaného astrocytomy dostatečným kritériem pro stanovení CNS WHO grade 4. Tento kombinovaný grading je obzvláště užitečný v případech, kdy neuropatolog dostane k vyšetření pouze limitované množství materiálu, ve kterém nemusí být morfologické rysy svědčící pro vyšší grade zastíženy. Díky kombinovanému gradingu je pak možné i z takto limitovaného materiálu přesněji predikovat biologické chování nádoru a adekvátně tomu zvolit léčbu pacienta.

Nová WHO klasifikace také zavádí způsob, jakým v závěru neuropatologické diagnózy upozornit na nedostatky či nesoulady histopatologie a molekulárně genetických vyšetření, a to užitím přívlastků NOS („not otherwise specified“) nebo NEC („not elsewhere classified“) (Louis et al., 2018). První jmenovaný, NOS, znamená, že z nějakého důvodu nebylo možné provést všechna vyšetření nutná pro stanovení specifické diagnózy. Mohlo se tak

stát ať už z důvodu nedostatku materiálu či nízké kvality nukleových kyselin, ale i z důvodu limitovaných možností vyšetřujícího pracoviště. Závěr neuropatologického vyšetření tak může znít např. „pediatrický high-grade gliom, NOS“. Takový závěr poskytne přinejmenším základní klinickou informaci, ale zároveň v sobě nese jasnou výstrahu, že vyšetření není kompletní, a tudíž může ošetřující lékař v případě nutnosti zvážit žádost o doplnění vyšetření či opakování odběru. Přívlastek NEC naopak značí, že všechna vyšetření sice byla provedena, ale jejich výsledky dohromady nejsou v souladu a nezapadají do žádné jednotky definované WHO klasifikací. V takovém případě je lepší reportovat výsledek v rámci obecnější kategorie spolu s označením NEC, než se snažit i přes nejistoty nádor zařadit ke konkrétní jednotce. Tento přístup má hned dvě pozitiva. Zaprvé, mezi přesně definovanými jednotkami díky tomu nejsou skrytě přimísené nádory s jinými vlastnostmi, což zpřesňuje výsledky statistik. Zadruhé, hypoteticky je možné, že nádor, který nyní označíme jako NEC, bude v budoucnu blíže prozkoumán a třeba i definován jako zcela nová jednotka. Zpětně je pak mnohem snazší dohledávat takto označené nádory než ty, které jsou nesprávně skryty pod jinou diagnózou.

Metylační profilování

Metylační profilování je molekulárně genetická metoda, která sehrála velmi významnou roli ve výzkumu nádorů CNS a posléze se stala i diagnostickým nástrojem, jenž je v některých případech téměř nepostradatelný (Vicha et al., 2021).

Metylace DNA patří mezi epigenetické mechanismy, které regulují, jaké geny budou v buňce exprimovány, a tím ovlivňují její fenotyp a příslušnost k určité vývojové linii. Její podstatou je fakt, že cytosin, jeden ze čtyř nukleotidů, se v sekvenci DNA vyskytuje buď v čisté formě, nebo s navázanou metylovou skupinou. Nej důležitější je tento jev v promotorových oblastech genů, kde metylace většího množství cytosinů vede k útlumu exprese daného genu.

V praxi se však vyšetření nezaměřuje na jeden či několik konkrétních genů, ale hodnotí se celkový metylační profil dané tkáně, získaný vyšetřením metylačního stavu více než 850 000

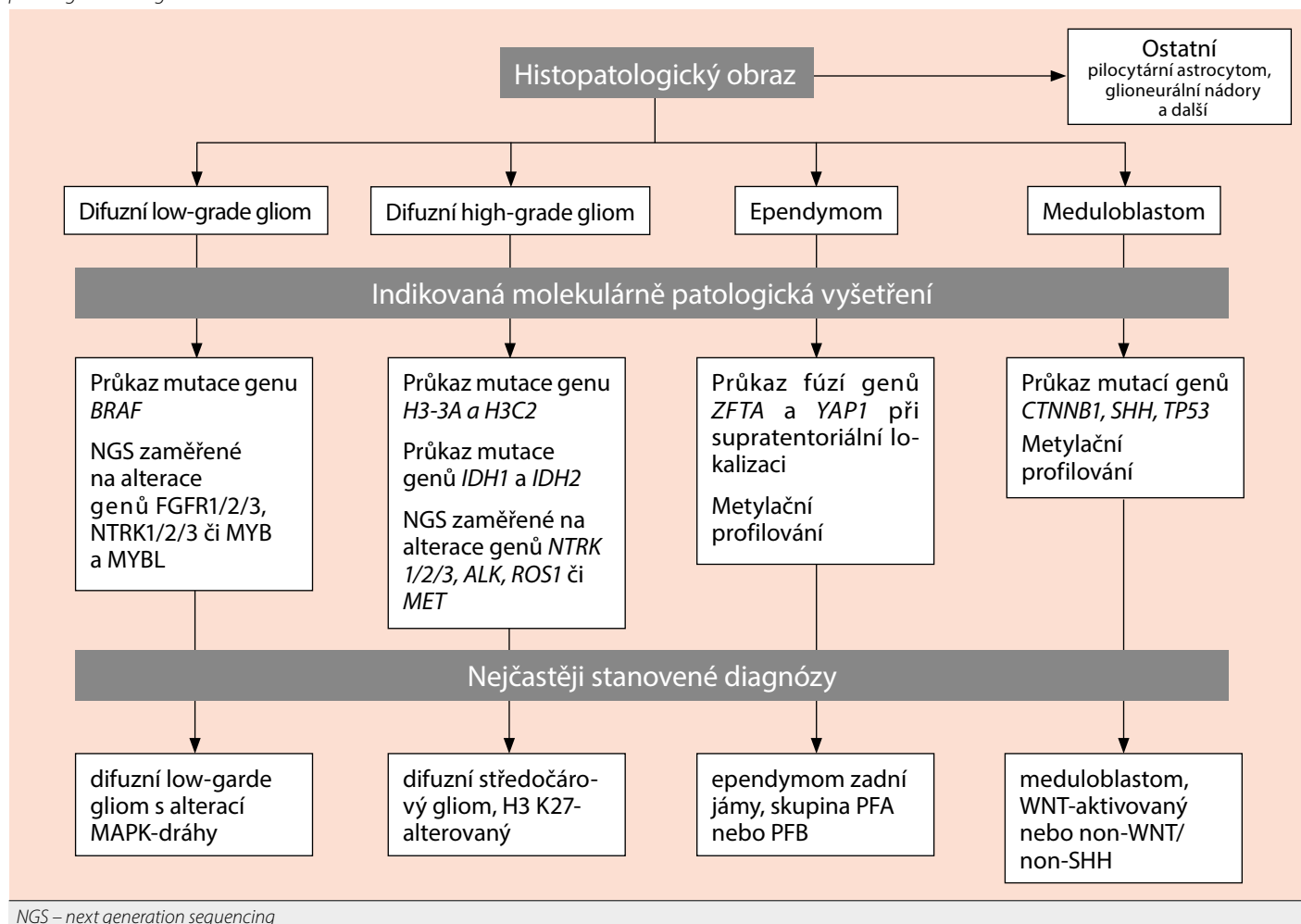
lokusů napříč genomem. Takto získaný metylační profil, který lze připodobnit k čárovému kódu, je poté možné porovnat s profily dříve vyšetřených vzorků nádorů a kontrolních tkání. K tomuto porovnání se využívá takzvaný metylační klasifikátor, což je počítačový algoritmus na bázi strojového učení, který byl natrénován na souboru dostupných vzorků. Klasifikátor následně určí, s kterou skupinou nádorů má vyšetřovaný metylační profil největší shodu a jaká je míra této podobnosti (Capper et al., 2018).

Stejně jako kterákoliv jiná diagnostická metoda však ani metylační profilování není všemocné a má svoje limity. Problematické je vyšetřování vzácných či nově definovaných nádorů, které nebyly při vývoji klasifikátoru dostatečně zastoupeny. Dále může problémy v diagnostice a nízké skóre způsobit vyšetření tkáně s malým zastoupením nádorových buněk (Vicha et al., 2021). Metylační profilování proto není metodou, která by rutinní mikroskopickou diagnostiku nahradila, ale jeho výsledky jsou užitečným dílkem mozaiky klinických údajů, zobrazovacích metod, histopatologie a ostatních molekulárně genetických vyšetření.

Nové jednotky a skupiny ve WHO klasifikaci

Nejvýraznější úpravou v členění 5. edice WHO klasifikace nádorů CNS byla změna rozdělení gliových nádorů a vytvoření oddělených skupin adultních a pediatrických difuzních gliomů. Došlo tím k zakotvení a zdůraznění poznatků, že gliové nádory u dospělých a u dětských pacientů mají zcela jiné molekulárně biologické pozadí, ačkoliv mohou být morfologicky prakticky totožné. Skupina adultních gliomů se i díky výše popsaným změnám reportování zprehlednila a zúžila na pouhé tři typy nádorů: astrocytom, oligodendrogliom a glioblastom. Oproti tomu mezi pediatrickými difuzními gliomy, které se ještě rozdělují na skupinu high-grade nádorů a skupinu low-grade nádorů, přibyla většina nově definovaných jednotek. Kromě výše popisovaných difuzních gliomů pediatrického a adultního typu byla vytvořena skupina ohraničených gliových nádorů, která obsahuje převáž-

Obr. 1. Schéma znázorňuje nejčastější pediatrické nádory CNS a postup při jejich molekulárně patologickém vyšetřování navazujícím na úvodní histopatologickou diagnostiku



NGS – next generation sequencing

ně dlouho známé jednotky jako například pilocytární astrocytom, subependymální obrovskobuněčný astrocytom či pleomorfni xanthoastrocytom.

Základní přehled nejčastěji diagnostikovaných nádorů CNS dětského věku a přístup k indikaci molekulárně patologických metod při jejich vyšetřování je shrnut ve schématu na obrázku 1.

Pediatrické difuzní high-grade gliomy

Skupina difuzních high-grade gliomů pediatrického typu zahrnuje čtyři nádory. Jediný z nich, který je až na drobnou úpravu názvu znám již z předchozí klasifikace, je *difuzní středočárový gliom, H3 K27-alterovaný*. Jedná se o nádor s nepříznivou prognózou, který je klasifikovaný jako CNS WHO grade 4, a to i tehdy, když morfologicky nevykazuje jednoznačné high-grade rysy, ale molekulárně patologické vyšetření potvrdí charakteristické změny.

Prvním z nově definovaných typů nádorů je *difuzní hemisférický gliom, H3 G34-mutovaný*. Typicky postihuje adolescenty a mladé dospělé. Vzhledem k tomu, že může mít histopatologické rysy stejné jako glioblastom či astrocytom, měly by se nádory s touto morfologií u mladých dospělých podrobně molekulárně biologicky vyšetřit, aby se jasně rozlišilo, zda se jedná o adultní, nebo o pediatrický typ gliomu.

Dalším ze skupiny pediatrických difuzních high-grade gliomů je *difuzní gliom infantního typu*, který se obvykle prezentuje jako obrovská hemisferální masa u novorozenců nebo kojenců. Charakteristické pro tento nádor jsou potenciálně terapeuticky cílitelné fúze genů *NTRK1/2/3*, *ALK*, *ROS1* nebo *MET*.

Posledním z této nové skupiny nádorů je *difuzní high-grade gliom pediatrického typu, H3-wildtype a IDH-wildtype*. I přes možnou morfologickou podobnost WHO doporučuje neoznačovat žádný nádor ze skupiny pedia-

trických difuzních high-grade gliomů termínem „glioblastom“ ani „pediatrický glioblastom“ (Jirásek et al., 2022).

Pediatrické difuzní low-grade gliomy

Rovněž tato skupina nádorů obsahuje čtyři jednotky. Tři byly nově definovány, a to *difuzní astrocytom, MYB- či MYBL-alterovaný*, *polymorfni low-grade neuroepiteliální tumor mladých (PLNTY)* a *difuzní low-grade gliom s alterací MAPK-dráhy*. Nádozem známým již z předchozí klasifikace je *angiocentrický gliom*. Morfologické rysy pediatrických difuzních low-grade gliomů se zčásti překrývají, a proto je molekulárně patologické vyšetření v jejich diagnostice nezbytné. *Difuzní low-grade gliom s alterací MAPK-dráhy* často mívá mutaci *BRAF V600E*, ale také fúze a další změny genů ze skupiny *FGFR1/2/3* či *NTRK1/2/3*. Znalost konkrétní alterace je klíčová pro volbu cílené biologické léčby (Lassaletta et al., 2017).

Ependymomy

Pohled na skupinu ependymomů se v nové WHO klasifikaci také výrazně změnil. Jednotky charakterizované specifickou morfologií jako papilární, světlobuněčný či tanycytický ependymom byly zrušeny a zůstávají jenom jako morfologické varianty. Myxopapilární ependymom zůstal zachován, ale na základě nových poznatků byl zvýšen jeho grade na CNS WHO grade 2 (Louis et al., 2021). V souladu s výše popsányi obecnými změnami gradingu byla formálně zrušena jednotka anaplastický ependymom. Naopak nově bylo vzhledem k zjištěným molekulárně biologickým a klinickým odlišnostem zavedeno primárně členění na základě anatomické lokalizace na *ependymomy supratentoriální*, *ependymomy zadní jámy lební* a *míšní ependymomy*. Jednotlivé jednotky v rámci lokalizace se ještě vyčleňují pomocí molekulární patologie na základě charakteristického fúzního genu (supratentoriální ependymomy), genové amplifikace (spinální ependymomy) nebo typického metylačního profilu (ependymomy zadní jámy lební). Díky

těmto změnám klasifikace je při neuropatologické diagnostice ependymomů vždy nutné provést molekulárně patologické vyšetření, a to včetně metylačního profilování v případě ependymomů zadní jámy lební (Krsková et al., 2022).

Meduloblastomy

Různé molekulárně biologicky definované typy meduloblastomu byly popsány už v předcházející verzi WHO klasifikace nádorů CNS a i v 5. edici z roku 2021 bylo ponecháno rozčlenění na *meduloblastom WNT-aktivovaný*, *SHH-aktivovaný* a *TP53-wildtype*, *SHH-aktivovaný* a *TP53-mutovaný* a *meduloblastom non-WNT/non-SHH*, který v sobě zahrnuje molekulárně patologickou skupinu 3 a 4. Paralelně s tímto členěním však stále existuje i morfologické dělení na meduloblastom klasický, velkobuněčný, anaplastický, desmoplastický či s extenzivní nodularitou, které bylo shrnuto do jednotky meduloblastom, histologicky definovaný. Obě informace lze ideálně sloučit v závěru biopsického vyšetření v rámci tzv. vrstevnaté diagnózy, kdy se po-

stupně uvede morfologický typ, molekulárně patologický typ a případně i metylační skupina a podskupina nádoru (Jirásek et al., 2022). Právě výsledek metylační klasifikace je u meduloblastomu velmi cennou informací, neboť jednotlivé metylační skupiny a podskupiny mají rozdílné biologické chování a jejich znalost může být prognostickým markerem (Vicha et al., 2021).

Závěr

Prohlubování poznatků o biologickém chování a molekulárně biologickém pozadí nádorů vedlo k výrazným změnám WHO klasifikace nádorů CNS. Byly odděleny adultní a pediatrické typy nádorů, které mají sice podobnou morfologii, ale naprosto odlišné molekulárně biologické pozadí. Mnoho nových nádorových jednotek je přímo definováno charakteristickou genetickou změnou a často využívaným znakem je i metylační profil nádoru. Díky tomu jsou molekulárně patologické metody již nedílnou součástí neuropatologické diagnostiky nádorů CNS u dětí a zčásti i u dospělých.

LITERATURA

1. 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.
2. Funakoshi Y, Hata N, Kuga D, et al. Pediatric Glioma: An Update of Diagnosis, Biology, and Treatment. *Cancers (Basel)*. 2021 Feb 12;13(4):758. doi: 10.3390/cancers13040758.
3. Jirásek T, Krsková L, Dolinová I, et al. Novinky ve WHO klasifikaci nádorů centrálního nervového systému 2021. *Cesk Patol*. 2022;58(3):126-134.
4. Krejci D, Zapletalova M, Svobodova I, et al. Childhood cancer epidemiology in the Czech Republic (1994-2016). *Cancer Epidemiol*. 2020;69:101848. doi:10.1016/j.canep.2020.101848.
5. Krsková L, Šípalová B, Němečková T, et al. Efektivní schéma využívané v diagnostice nádorů CNS. *Cesk Patol*. 2022;58(3):135-137.
6. Lassaletta A, Zapotocky M, Mistry M, et al. Therapeutic and Prognostic Implications of BRAF V600E in Pediatric Low-Grade Gliomas. *J Clin Oncol*. 2017;35(25):2934-2941. doi:10.1200/JCO.2016.71.8726.
7. Louis DN, Perry A, Burger P, et al. International Society of Neuropathology – Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading. *Brain Pathol*. 2014;24(5):429-35.
8. Louis DN, Perry A, Wesseling P, 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.
9. 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.
10. Vicha A, Štolová L, Jenčová P, et al. Využití metylačního profilu v diagnostice a prognostice nádorových onemocnění CNS. *Cesk Patol*. 2021;57(3):154-160.
11. WHO Classification of Tumours Editorial Board. World Health Organization Classification of Tumours of the Central Nervous System. 5th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2021.