

NEUROPATOLOGÍA: DIAGNÓSTICO CON BIOLOGÍA MOLECULAR

NEUROPATHOLOGY: DIAGNOSIS WITH MOLECULAR BIOLOGY

DR. FACUNDO LAS HERAS MD PHD (1), DR. GONZALO DIOCARES (2)

(1) Anatomopatólogo. Jefe de Departamento de Anatomía Patológica, Clínica las Condes. Santiago, Chile

(2) Residente de Neurocirugía. Facultad de Medicina Universidad de Chile. Santiago, Chile.

Email: flasheras@clc.cl

RESUMEN

Los tumores del sistema nervioso central (SNC) se clasificaron de acuerdo a su histología hasta el año 2007, según la norma de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Recientemente se publicó la nueva clasificación de tumores del SNC (2016), con la incorporación de patrones genéticos y moleculares en el diagnóstico de las entidades antes descritas en la versión previa. Dicha modificación con la incorporación de sellos genéticos ha significado una revolución en el diagnóstico de tumores. La nueva clasificación de la OMS incluye modificaciones en gliomas difusos, meduloblastomas y otros tumores embrionarios. Nuevas entidades fueron descritas y algunos conceptos obsoletos sin relevancia clínica fueron removidos. La biología molecular aporta valor en cuanto al pronóstico y el tratamiento de ciertos tumores con comportamientos variados en distintos pacientes (gliomas difusos y glioblastomas). Otro cambio importante fue la incorporación de la invasión cerebral como criterio mayor para el diagnóstico de meningioma atípico grado II. En Chile ya se están implementando estos avances diagnósticos en centros de alta complejidad del país, entre ellos Clínica Las Condes.

Palabras clave: Neoplasias del SNC, OMS, biología molecular, glioma.

SUMMARY

Tumors of the central nervous system (CNS) have been classified according to their histologic features as the standard of the World Health Organization (WHO) until 2007. Recently a new classification of tumors of the CNS (2016) was published, adding genetic and molecular features to entities described in the previous version. The incorporation of diagnostic molecular signatures has meant a revolution in the diagnosis of CNS tumors. The new WHO classification includes modifications to diffuse gliomas, medulloblastomas and other embryonal tumors. New entities were described and others were removed, specially those without clinical relevance. Molecular biology provides value in prognosis and treatment of certain tumors with uncertain behavior in different patients, such as diffuse gliomas and glioblastomas. Another important change was the addition of brain invasion as a major criteria for the diagnosis of atypical meningioma grade II. In Chile there are already a few health centers working in the development of these diagnostic advances, including Clinica Las Condes.

Key words: Central nervous system neoplasm, WHO, molecular biology, glioma.

INTRODUCCIÓN

Las neoplasias del sistema nervioso central (SNC) constituyen menos del 2% de la totalidad de los tumores en el ser humano. Sin embargo, suelen afectar a niños y personas en edad productiva, a veces con consecuencias devastadoras (1).

Desde su origen en 1979, la organización mundial de la salud (OMS) ha editado 4 textos conocidos como el “**libro azul**” para clasificar los tumores del SNC (2). Hasta el año 2014, estos tumores se diagnosticaban sólo con técnicas histopatológicas de rutina (tinción de hematoxilina/eosina) e inmunohistoquímica, conservando así cierto criterio de subjetividad del observador. En el año 2016 la OMS publica la nueva clasificación de los tumores del SNC, incorporando estudios de biología molecular en el diagnóstico anatómo-patológico de los tumores primarios del SNC, algo impensado tan solo años atrás (3).

Historia de los tumores gliales

Los gliomas son los tumores primarios más frecuentes del SNC y forman un grupo heterogéneo de neoplasias con múltiples tipos histológicos y grados de malignidad (4). Se originan a partir de células progenitoras de la glía, cuyo desarrollo asemeja en la mayoría de los casos una estirpe astrocitaria u oligodendroglial (5). Dichos tumores pueden infiltrar difusamente el parénquima cerebral o situarse solo focalmente, habiendo una correlación genética con su comportamiento biológico en cada escenario (3).

Desde 1884, año en que se diagnosticó y trató quirúrgicamente el primer glioma, estas neoplasias han demostrado un pronóstico pobre, con un crecimiento agresivo y una sobrevida que en el mejor de los casos alcanza los 2 años para lesiones de grado mayor (6).

Las limitaciones de la neurocirugía de inicios del siglo XX hacían que el tratamiento quirúrgico de estos tumores en ciertos casos fuese peor que la evolución natural de la enfermedad. Sin embargo, era éste el único tratamiento posible, incluyendo extensas lobectomías e incluso hemisferectomías, las que además de generar graves secuelas motoras no aportaban mayor sobrevida (6).

Con el advenimiento de nuevas tecnologías, los escenarios quirúrgicos han cambiado, logrando procedimientos cada vez más efectivos y con mejores resultados funcionales postoperatorios. Entre estos cambios se incluyen la monitorización córtico-subcortical, el uso de anestésicos más seguros, la cirugía vigil (tumores ubicados cerca del área del lenguaje) y cuidados post-operatorios en modernas unidades de cuidados intensivos. Además los avances en el entendimiento biológico de estas neoplasias han generado nuevas

herramientas terapéuticas, con la creación del término politerapia, que incluye cirugía, radioterapia y quimioterapia (6).

Biología Molecular en Gliomas

Quizás uno de los descubrimientos más importantes en la biología molecular de los gliomas se produce en el año 2010 con la identificación de mutaciones en el gen de la isocitrato deshidrogenasa IDH 1 y 2, ubicados en el codón 132 y 172 respectivamente. La mutación de este gen es positiva en la gran mayoría de los gliomas infiltrativos difusos (astrocitomas y oligodendrogliomas) así como en un 10% de los glioblastomas (7,8). Múltiples estudios relacionan la presencia de dicha mutación con un comportamiento menos agresivo de estos tumores, diferenciándolos además de otras lesiones con similar histopatología (9-11). Un ejemplo de este hecho es la diferenciación entre gliosis, que es la reacción de las células de la glía ante cualquier noxa al tejido nervioso, versus un astrocitoma difuso grado II (12). En la figura 1 se muestra la expresión de la mutación IDH en un astrocitoma y la ausencia de expresión en gliosis inespecífica (11,12).

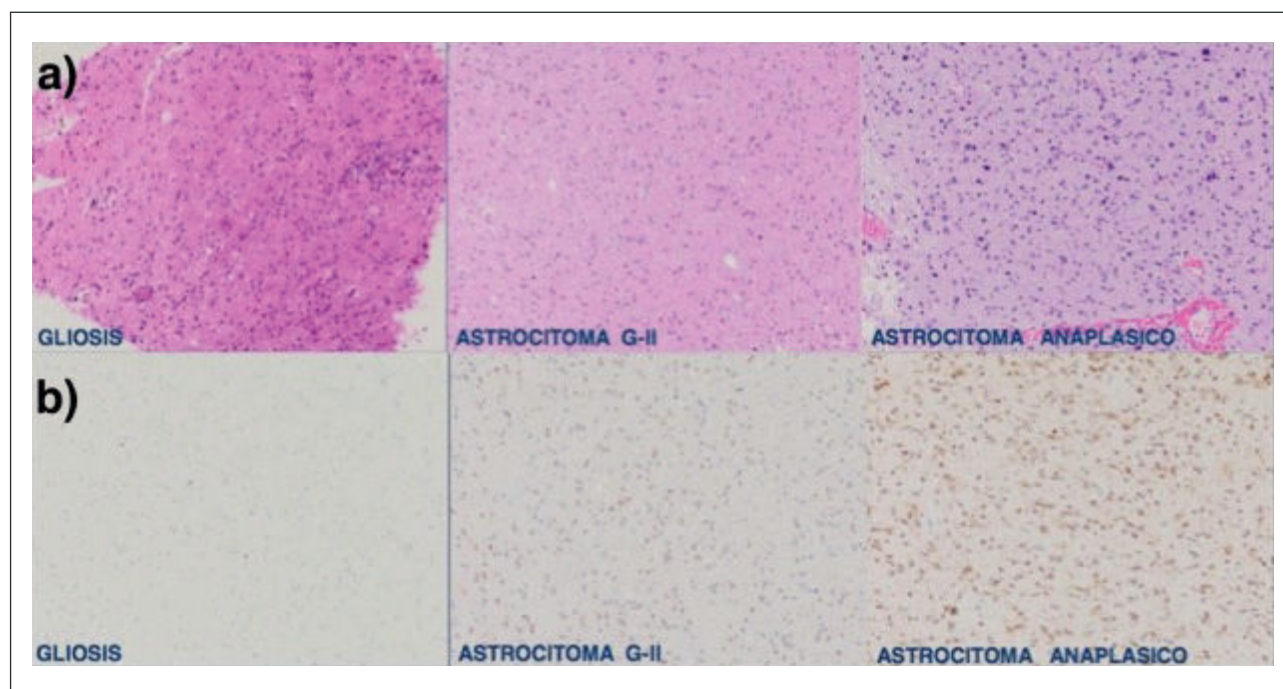
Otro problema frecuente para el neuropatólogo avezado es definir si un glioma infiltrativo se asemeja a la estirpe astrocitaria u oligodendroglial. Gracias al aporte de la biología molecular, se ha identificado co-delección de los brazos de los cromosomas 1p y 19q en neoplasias oligodendrogliales, con implicancias terapéuticas y pronósticas. Por otra parte, la ausencia de la co-delección favorece el diagnóstico de astrocitoma (14). Además, la presencia de la co-delección 1p 19q tiene implicancias clínicas. Trabajos prospectivos randomizados demostraron mejor respuesta en el tratamiento con poliquimioterapia conocida como PCV (procarbazona/lomustina/vincristina) versus el uso de radioterapia únicamente, con una media de seguimiento de 10 años (13,14).

En pacientes con glioblastomas, avances tecnológicos en terapias “*target*” han mejorado la sobrevida en algunos casos. La presencia de metilación del gen MGMT se ha asociado a mayores beneficios en la terapia específica con el uso de Temozolamida, versus aquellos tumores con ausencia de la metilación, demostrado en estudios prospectivos randomizados en concomitancia al uso de radioterapia post-operatoria (15,16).

Importancia del problema

Los tumores del SNC representan aproximadamente un 1.4% de todas las neoplasias, causando un 2.4% de muertes por cáncer al año en los EE.UU. (1). Los casos nuevos en EE.UU. en el año 2016 son 23770, con un número estimado de muertes de 16050 muertes/año (1).

FIGURA 1.
EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE PROTEÍNA MUTADA IDH-1



a) Morfología con técnica convencional de hematoxilina eosina. b) Técnica de IDH-1 mostrando ausencia de tinción en gliosis reactiva y presencia en lesiones de tipo Astrocitoma difuso y Astrocitoma anaplasico.

En Chile datos aportados por el proyecto GLOBOCAN de la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (*International Agency for Research on Cancer, IARC*) refirió los siguientes datos para el año 2012:

Incidencia: 4.6/100000 habitantes. Promedio 2.2% de todos los tumores. Total: 886 casos nuevos/año.

Mortalidad: 2.4/100000 muertes. Promedio: 2.0% de las muertes por cáncer. Total: 496 muertes/año.

Prevalencia a 5 años: 9.2/100.000 hab-5 años. Promedio: 1.4%. Total: 1263 casos/5 años (9). La tasa mundial de incidencia según el proyecto GLOBOCAN es de 256213 casos nuevos/año y la mortalidad global 189382 muertes/año (17).

Los tumores primarios del encéfalo más frecuentes son gliomas difusos (astrocitomas y oligodendrogliomas), glioblastomas, gliomas de bajo grado, linfomas del SNC, meningiomas y adenomas hipofisarios. En la médula espinal los más frecuentes son los schwannomas, ependimomas y meningiomas (constituyendo el 80% de los tumores de la médula espinal). Gliomas, cordomas y tumores vasculares son más inusuales (18).

Las metástasis abarcan aproximadamente un 50% de los tumores del encéfalo, siendo mucho menor los casos en médula espinal (19).

En Chile las garantías explícitas en salud (GES) incorporan el diagnóstico y tratamiento de tan solo cuatro tumores primarios: meningiomas, adenomas hipofisarios, craneofaringiomas y hemangioblastomas (20). Esto significa un problema para todos aquellos pacientes con tumores fuera del grupo GES. En otras palabras, más de un 50% del total de los tumores del SNC (21) no cuentan con apoyo GES en el diagnóstico molecular, imposibilitando el uso de terapias target que han mostrado mejorar la sobrevida de estos pacientes (12, 14-16).

PRINCIPALES MODIFICACIONES EN LA CLASIFICACIÓN DE TUMORES DEL SNC

Como se mencionó anteriormente, el diagnóstico de neoplasias del SNC con la antigua clasificación de la OMS del año 2007 se basaba principalmente en microscopía óptica, tinción de rutina con hematoxilina/eosina, técnicas inmunohistoquímicas y las características ultraestructurales apreciadas en la microscopía electrónica en casos aislados (3).

En el año 2014, el consejo de Harlem (Holanda) reunió a más de 20 países y 117 colaboradores a cargo por la Sociedad Internacional de Neuropatología (*International Society of Neuropathology*). Dicho grupo de expertos comenzó a trabajar en la nueva clasificación de la OMS, con el fin de incorporar avances en la biología molecular de los tumores del SNC. Muchos de estos cambios fueron producto de extensas investigaciones genéticas acerca del origen de dichas neoplasias, su comportamiento según el patrón molecular que esta exprese y la viabilidad terapéutica al atacar ciertas mutaciones con nuevas quimioterapias como el uso de Temozolamida en los gliomas difusos y glioblastomas (3, 16).

A continuación mencionaremos algunas de las más importantes modificaciones consensuadas por el consejo de Harlem en el diagnóstico de tumores del SNC.

Gliomas Difusos

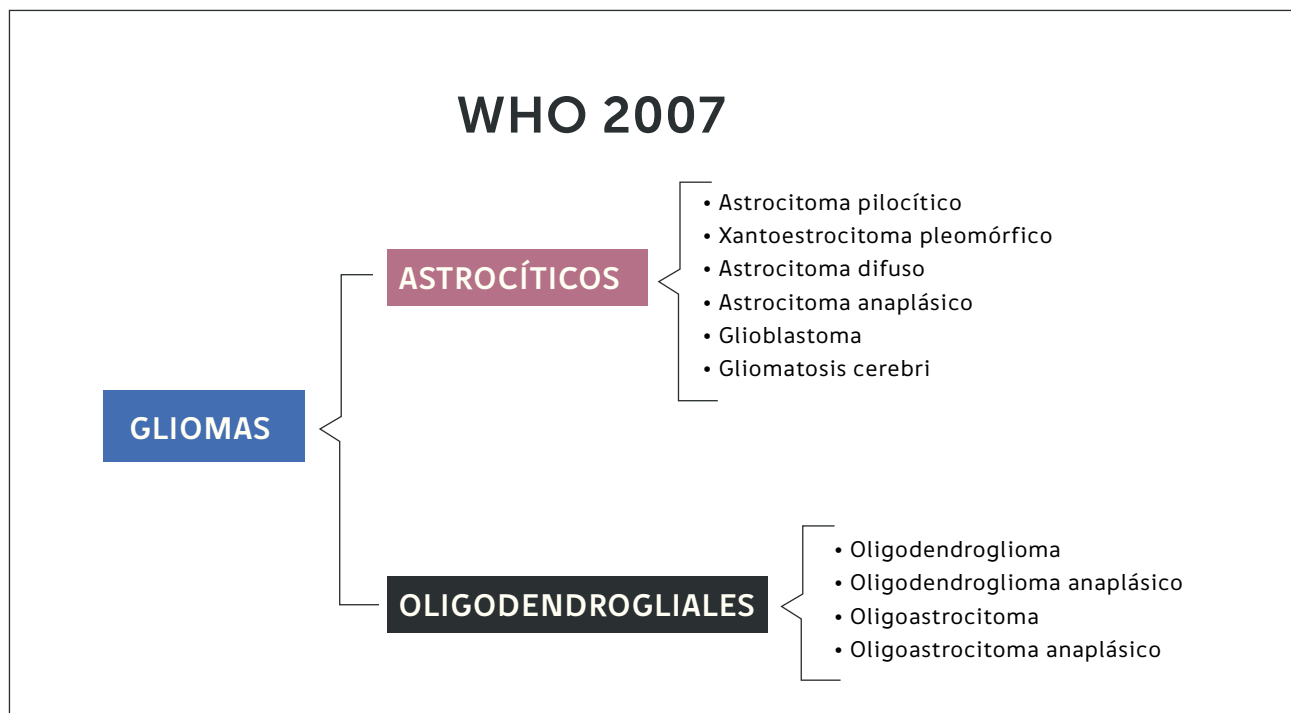
Las células gliales que dan origen a estos tumores pueden originarse a partir de astrocitos u oligodendrocitos. Antiguamente la clasificación del 2007 dividía estos tumores según morfología de la estirpe celular (Figura 2). Con la inclusión de la biología molecular, se logran diferenciar estas entidades según su expresión genética. En resumen, de acuerdo a la nueva clasificación los gliomas se diferencian en gliomas

focales de bajo grado (astrocitomas pilocíticos, xantoastrocitomas pleomórficos) cuando expresan mutaciones en el gen BRAF-1, estando el gen IDH en genotipo nativo (no mutado). Por otra parte, se constituye el grupo de gliomas de infiltración difusa (astrocitomas, oligodendrogliomas, oligoastrocitomas) subdividiéndolos según estirpe celular y la expresión de la mutación de IDH y co-delección 1p 19q (Figura 3). En otras palabras, la nueva clasificación de tumores del SNC de la OMS (2016) separa estos tumores según la expresión de estos genes, ya que se correlacionan con pronósticos diferentes.

La importancia de la mutación del gen IDH cobra gran relevancia pronóstica según varios estudios. Por ejemplo, la diferencia pronóstica entre el astrocitoma difuso grado II versus anaplásico grado III no es tan significativa si ambos tienen status IDH-mutado (22,23). En ambos casos la presencia de dicha mutación otorga un pronóstico más favorable.

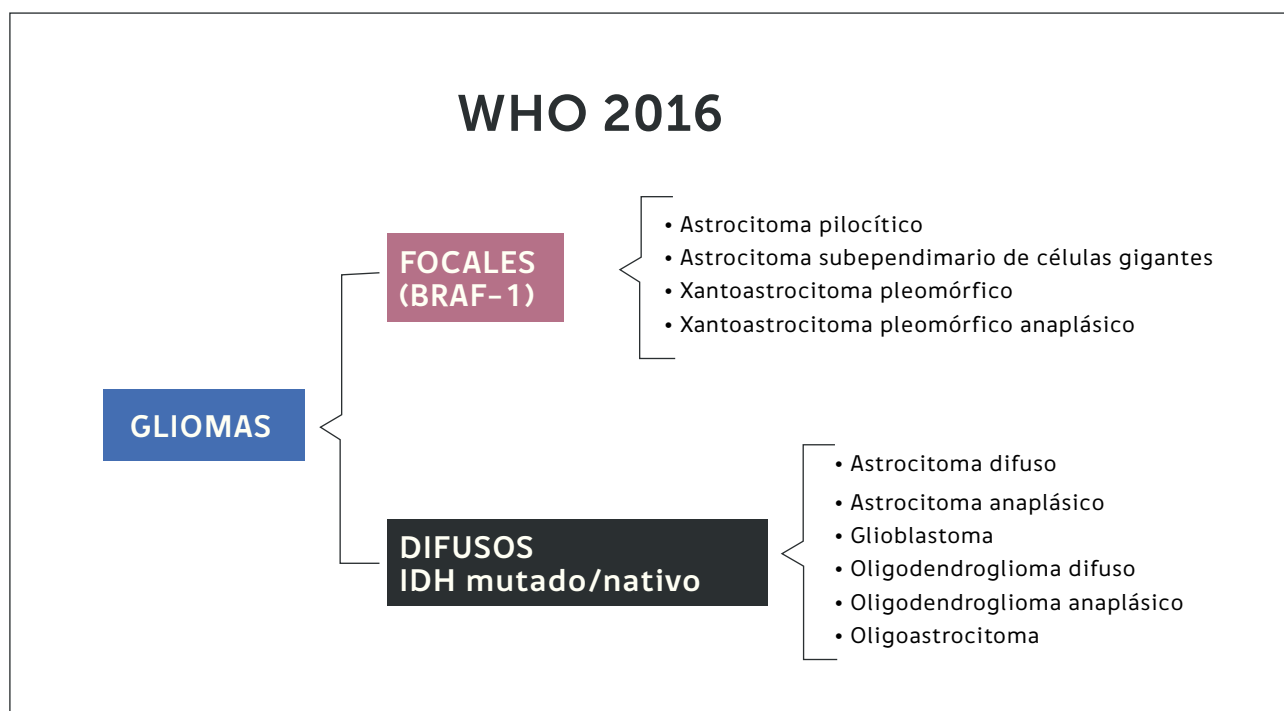
Otro cambio de la nueva clasificación es la eliminación del término *Gliomatosis cerebri* como entidad diagnóstica aparte. Actualmente se reserva dicho término para un patrón estructural de los gliomas difusos cuando afectan tres o más lóbulos cerebrales, frecuentemente bilateral con crecimiento y regular extensión a núcleos basales y estructuras infratentoriales (3).

FIGURA 2. LA PREVIA CLASIFICACIÓN DE LA OMS (2007)



Consideraba a los gliomas según estirpe celular en astrocitomas u oligodendrogliomas.

FIGURA 3. LA NUEVA CLASIFICACIÓN DEL 2016 DIVIDE LOS GLIOMAS SEGÚN SU EXPRESIÓN GENÉTICA



Los focales (todos de bajo grado) expresan BRAF-1. En cambio los difusos (grados II a IV) revelan mutaciones en IDH-1 y/o codeleción 1p19q en el caso de los oligodendrogliomas.

Glioblastoma

Como se mencionó anteriormente, es sabido desde el siglo XIX el mal pronóstico de esta neoplasia. Estudios en biología molecular han logrado dividir este tumor en dos grandes grupos: IDH nativo (no mutado) versus IDH-mutado. La mayoría de los casos constituyen formas no mutadas o nativas (90% aproximadamente), correspondiendo al tumor de *novo* o glioblastoma primario, más frecuente en población sobre los 55 años, cuya supervivencia no supera los 15 meses promedio con tratamiento completo (Cirugía + Radioterapia + Quimioterapia) (16,24).

La forma mutada, también conocida como Glioblastoma secundario, es responsable de un 10% de los casos, presentándose en pacientes más jóvenes. Se postula que el origen de este tumor corresponde a la evolución natural (¿Desdiferenciación?) un tumor de menor grado, de ahí el término *secundario*. En estos casos la presencia de mutación del gen IDH se asocia a una supervivencia mayor (más de 2 años y medio con tratamiento completo) (24-27). En la tabla 1 se encuentra un resumen de las características de ambos tipos.

Meningioma

Los meningiomas son tumores de las células meningoeliales de la capa aracnoidal que agrupan aproximadamente un tercio de los tumores primarios del SNC (3). Están incluidos en el programa nacional AUGÉ (20), tanto su diagnóstico como tratamiento (cirugía y radioterapia complementarias en

algunos casos) (28-30).

En cuanto a la nueva clasificación de la OMS, la única variación es la incorporación de la presencia de invasión cerebral como criterio mayor para el diagnóstico de meningioma atípico (3). En la tabla 2 se mencionan los criterios mayores y menores de meningiomas grado II de la OMS (2016).

Ependimoma

Los ependimomas son tumores originados a partir del epitelio ependimario. En general son de lento crecimiento, de ubicación infratentorial en relación al 4º ventrículo (niños) o en relación al canal ependimario de la médula espinal (adultos jóvenes) (31).

Desde el punto de vista histológico en ocasiones es complejo diferenciar entre los ependimomas grado II o grado III (anaplásico), estando en discusión el valor clínico de dicha separación. Estudios genéticos se están llevando a cabo para entender la compleja naturaleza biológica de estos tumores (32).

En un estudio de Parker et al se logró identificar un subtipo de ependimomas con fusión del gen RELA. Esta variante correspondería al tumor supratentorial más frecuente en niños, abarcando dos tercios de los ependimomas supratentoriales. La expresión de este oncogen podría eventualmente ser un objetivo en terapia target de este tipo de tumores. Estudios moleculares se están llevando a cabo para dicho tratamiento (33).

TABLA 1. GLIOBLASTOMAS IDH-NATIVO VERSUS GLIOBLASTOMAS IDH-MUTADO

	Glioblastoma <i>IDH-nativo</i>	Glioblastoma <i>IDH-mutante</i>
Sinónimo	Glioblastoma primario	Glioblastoma secundario
Precursos	De novo	Astrocitoma difuso Astrocitoma anaplásico
Proporción de GB	~90%	~10%
Promedio de edad	62 años	44 años
Proporción hombre/mujer	1.42:1	1.05:1
Tiempo de síntomas previo a diagnóstico	4 meses	15 meses
Sobrevida (cirugía + RDT)	9.9 meses	24 meses
Sobrevida (cirugía + RDT + QMT)	15 meses	31 meses
Necrosis	Extensa	Limitada
Localización	Supratentorial	Preferentemente frontal

TABLA 2. CRITERIOS MENINGIOMA ATÍPICO (OMS 2016)

Criterios mayores	Criterios menores
<ul style="list-style-type: none"> • 4 o más mitosis (en 10 campos de aumento mayor) • Invasión cerebral 	<ul style="list-style-type: none"> • Necrosis • Nucléolo prominente • Alta celularidad • Células pequeñas con núcleo prominente (Aumento de la relación núcleo/citoplasma) • Pérdida del patrón estructural

Para ser considerados atípicos basta con tener 1 criterio mayor o 3 criterios menores.

Meduloblastoma

Es el tumor embrionario del SNC maligno más frecuente del encéfalo pediátrico. Puede tener metástasis “en gota”, es decir, a través del líquido cefalorraquídeo en el resto del neuroeje. Una complicación frecuente es la hidrocefalia obstructiva por ocupación del IV ventrículo (31). Histológicamente se definen 3 grupos con utilidad clínica: clásico, desmoplásico/nodular y de células grandes/anaplásico. El estudio molecular de estos tumores ha permitido clasificarlos en 4 grupos: WNT-activado; SHH-activado, Grupo 3, Grupo 4 (34).

La combinación entre los grupos moleculares con los patrones histológicos ha permitido una aproximación en cuanto a pronóstico y tratamiento específico de estos tumores, siendo los de peor pronóstico aquellos del grupo molecular 3 con patrón de células grandes/anaplásico y el grupo SHH-activado con patrón de células grandes/anaplásico. En la tabla 3 se resumen las combinaciones y pronósticos aproximados.

TABLA 3. MÉDULOBLASTOMAS

PERFIL GENÉTICO	PATRÓN HISTOLÓGICO	PRONÓSTICO
WNT-Activado	Clásico	Bajo riesgo Patrón clásico de WNT-activado
	Células grandes/Anaplásico	Indeterminado
SHH-Activado	Células grandes/Anaplásico	Alto riesgo Prevalente entre 7-17 años
	Desmoplásico/Nodular	Bajo riesgo Prevalente en infantes y adultos
GRUPO 3	Clásico	Riesgo estándar
	Células grandes/Anaplásico	Alto riesgo
GRUPO 4	Clásico	Riesgo estándar Patrón clásico de grupo 4
	Células grandes/Anaplásico	Indeterminado

CONCLUSIÓN

Los avances contemporáneos en genética y biología molecular se han traducido en un renacimiento en el estudio de los tumores del SNC. Estos nuevos enfoques sugieren el uso de una taxonomía molecular que promete influenciar el diagnóstico, la clasificación de la enfermedad y el manejo clínico.

Más aún, el conocimiento y la identificación de sellos moleculares de cada grupo de neoplasias del SNC puede conducir a la expansión del arsenal terapéutico disponible para tratar estas lesiones, brindando así nueva luz de esperanza en el entendimiento y pronóstico de este complejo grupo de lesiones.

Los autores declaran no tener conflictos de interés, en relación a este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Siegel R, Miller K, Ahmedin J. American Cancer Society: Cancer Facts and Figures 2016. Atlanta, Ga: American Cancer Society, 2016. July 11, 2016.
2. Zülch KJ. Histological typing of tumours of the central nervous system. World Health Organization, Geneva. 1979.
3. Louis DN, Perry A, Caveness WK, et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016;131D6J:803-20.
4. Ostrom QT, Gittleman H, Liao P et al. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2007-2011. *Neuro Oncol* 2014; 16: iv1-iv63.
5. Zong H, Verhaak RG, Canoll P The cellular origin for malignant glioma and prospects for clinical advancements. *Expert Rev Mol Diagn.* 2012; 12: 383-394.
6. Reyes F, Lema M. Cap. 1 "Breve historia del diagnóstico y tratamiento de los gliomas". Gliomas del encéfalo. 1ª Edición. Santiago de Compostela, 2007.
7. Horbinski C. What do we know about IDH1/2 mutations so far, and how do we use it? *Acta Neuropathol.* 2013;125(5):621-636.
8. Chen L, Voronovich Z, Clark K, Hands I, et al. Pre- dicting the likelihood of an isocitrate dehydrogenase 1 or 2 mutation in diagnoses of infiltrative glioma. *Neurooncology* 2014; 16:1478-1483. doi:10.1093/neuonc/nou097.
9. Horbinski C, Kofler J, Yeane G, et al. Isocitrate dehydrogenase 1 analysis differentiates gangliogliomas from infiltrative gliomas. *Brain Pathol.* 2011 Sep;21(5):564-74.
10. Camelo-Piragua S, Jansen M, Ganguly A, et al. A sensitive and specific diagnostic panel to distinguish diffuse astrocytoma from astrocytosis: chromosome 7 gain with mutant isocitrate dehydrogenase 1 and p53. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2011;70(2): 110 - 115.
11. Camelo-Piragua S, Jansen M, Ganguly A, et al. Mutant IDH1-specific immunohistochemistry distinguishes diffuse astrocytoma from astrocytosis. *Acta Neuropathol.* 2010;119(4):509 - 511.
12. Rivera-Zengotita, M., Yachnis, A. T. Gliosis Versus Glioma?: Don't Grade Until You Know. *Advances in Anatomic Pathology*, 2012; 19(4), 239-249. doi: Doi 10.1097/Pap.0b013e31825c6a04.
13. Van den Bent MJ, Brandes AA, Taphoorn MJ, et al. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy in newly diagnosed anaplastic oligodendroglioma: long- term follow-up of EORTC brain tumor group study 26951. *J Clin Oncol.* 2013;31D3J:344-50.
14. Cairncross G, Wang M, Shaw E et al. Phase III trial of chemoradiotherapy for anaplastic oligodendroglioma: long-term results of RTOG 9402. *J Clin Oncol.* 2013;31D3J:337-43.
15. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005;352(10):997-1003.
16. Stupp R, Hegi ME, Mason WP et al. Effects of radio- therapy with concomitant and adjuvant temozolomide ver- sus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 2009;10: 459-466.
17. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al.: GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2013. IARC CancerBase No. 11.
18. Mehta M, Vogelbaum MA, Chang S, et al.: Neoplasms of the central nervous system. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA: Cancer: Principles and Practice of Oncology. 9th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins, 2011, pp 1700-49.
19. Betsy A. Kohler, Elizabeth Ward, Bridget J. McCarthy et al. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2007, Featuring Tumors of the Brain and Other Nervous System. *J Natl Cancer Inst.* 2011 May 4; 103(9): 714-736. Published online 2011 Mar 31.
20. Gobierno de Chile. Tumores Primarios del Sistema Nervioso Central en personas de 15 años y más, 2012 - Ministerio de Salud, Santiago de Chile.
21. Perry A, Wesseling P. Histologic classification of gliomas. *Handb Clin Neurol.* 2016;134:71-95. doi: 10.1016/B978-0-12-802997-8.00005-0.
22. Olar A, Wani KM, Alfaro-Munoz KD et al. IDH mutation status and role of WHO grade and mitotic index in overall survival in

- grade II-III diffuse gliomas. *Acta Neuropathol* 2015; 129:585-596.
23. Reuss DE, Mamatjan Y, Schrimpf D et al. IDH mutant diffuse and anaplastic astrocytomas have similar age at presentation and little difference in survival: a grading problem for WHO. *Acta Neuropathol* 2015; 129:867-873.
 24. Ohgaki H, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clin Cancer Res* 2013; 19:764-772.
 25. Parsons DW, Jones S, Zhang X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*. 2008;321(5897):1807-12.
 26. Capper D, Zentgraf H, Balss J, Hartmann C, von Deimling A. Monoclonal antibody specific for IDH1 R132H mutation. *Acta Neuropathol*. 2009;118(5):599-601.
 27. Felsberg J, Wolter M, Seul H, et al. Rapid and sensitive assessment of the IDH1 and IDH2 mutation status in cerebral gliomas based on DNA pyrosequencing. *Acta Neuropathol*. 2010;119(4):501-7.
 28. Pearson BE, Markert JM, Fisher WS, Guthrie BL, Fiveash JB, Palmer CA, et al. Hitting a moving target: evolution of a treatment paradigm for atypical meningiomas amid changing diagnostic criteria. *Neurosurgical focus*. 2008;24(5):E3.
 29. Campbell BA, Jhamb A, Maguire JA, et al. Meningiomas in 2009: controversies and future challenges. *Am J Clin Oncol* 2009;32:73-85.
 30. Marcus HJ, Price SJ, Wilby M, et al. Radiotherapy as an adjuvant in the management of intracranial meningiomas: are we practising evidence-based medicine? *Br J Neurosurg* 2008;22:520-8.
 31. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK. World Health Organization histological classification of tumours of the central nervous system. International Agency for Research on cancer, Lyon 2007.
 32. Ellison DW, Kocak M, Figarella-Branger D et al. Histopathological grading of pediatric ependymoma: reproducibility and clinical relevance in European trial cohorts. *J Negat Results Biomed* 2011; 10:7. doi:10.1186/1477-5751-10-7.
 33. Parker M, Mohankumar KM, Punchihewa C, Weinlich R, Dalton JD, Li Y, et al. C11orf95-RELA fusions drive oncogenic NF-kappaB signalling in ependymoma. *Nature* 2014; 506:451-455. doi:10.1038/nature13109.
 34. Taylor MD, Northcott PA, Korshunov A, Remke M, Cho YJ, Clifford SC, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta Neuropathol* 2012; 123:465-472. doi:10.1007/s00401-011-0922-z.